

SYNTHESE UND PHARMAKOLOGISCHE CHARAKTERISIERUNG NEUER TRIZYKLISCHER LIGANDEN AM HISTAMIN- H₁-/H₄-REZEPTOR

DISSERTATION



ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES DER NATURWISSENSCHAFTEN
(DR. RER. NAT.) DER FAKULTÄT CHEMIE UND PHARMAZIE
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

vorgelegt von

Franziska Gertraud Naporra

aus Eichstätt

2020

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von März 2015 bis Februar 2020 unter der Leitung von Frau PD Dr. Andrea Straßer am Lehrstuhl von Herrn Prof. Dr. Sigurd Elz an der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg.

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht im Juni 2020.

Tag der mündlichen Prüfung: 28.07.2020

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. S. Dove	(Vorsitzender)
PD Dr. A. Straßer	(Erstgutachterin)
Prof. Dr. S. Elz	(Zweitgutachter)
Prof. Dr. F.-M. Matysik	(Drittprüfer)

Just try new things. Don't be afraid. Step out of your comfort zones and soar, all right?

Michelle Obama

Für meine Familie

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bedanken bei:

Frau PD Dr. Andrea Straßer für die Vergabe des interessanten und herausfordernden Promotionsthemas, für die freundliche Betreuung sowie für die Erstellung des Erstgutachtens.

Herrn Prof. Dr. Sigurd Elz für die Aufnahme an seinem Lehrstuhl und für die Erstellung des Zweitgutachtens.

Herrn Prof. Dr. Frank-Michael Matysik für seine Bereitschaft, das Amt des Drittprüfers zu übernehmen.

Herrn Prof. Dr. Siavosh Mahboobi für die Teilnahme als Vorsitzender in der mündlichen Prüfung.

Herrn Prof. Dr. Armin Buschauer[†] für die Möglichkeit, die Gerätschaften für die analytischen und pharmakologischen Arbeiten zu benutzen.

Herrn Prof. Dr. Jörg Heilmann für die Möglichkeit, an seinem Lehrstuhl die Zelllabore zu nutzen.

Frau Sieglinde Dechant für die Unterstützung bei der Synthese der Liganden.

Frau Christine Braun und Frau Kerstin Röhl für die Durchführung der organopharmakologischen Testungen.

Frau Maria Beer-Krön für die Bereitstellung von Sf9-Zellen und die Schulung in Zellkulturtechniken und der Membranpräparation.

Frau Susanne Bollwein für die Durchführung der CE-Elektrophorese.

Herrn Dr. Herwig Pongratz für die Unterstützung bei chemischen Problemstellungen sowie viele wunderbare Koch- und Grillabende.

Frau Ulla Seibel für die Durchführung der DMR-Assays sowie die schöne gemeinsame Zeit im Labor.

Frau Julia Spindler für ihre engagierte Mitarbeit im Labor im Rahmen ihrer Bachelorarbeit und ihres Forschungspraktikums.

Frau Uta Hasselmann für ihre heitere Art und die Unterstützung bei jeglicher Art von organisatorischen Aufgaben.

Julia Blüml, Merlin Bresinsky, Martin Nagl, Sebastian Pitzl, Dr. Steffen Pockes, Simon Scheuerer, Niklas Rosier, Lukas Wirth und allen Mitgliedern der Lehrstühle Pharmazeutische Chemie I und Pharmazeutische Chemie II für die gute Zusammenarbeit, ihre Unterstützung und die vielen schönen Erlebnisse.

Frau Frauke Antoni, Frau Dr. Monika Enzinger, Frau Maria Landa, Frau Sina Malenke und Frau Andrea Schreiner für die lange, unersetzbare Zeit der Mensa-Girls.

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

Herrn Tomte Naporra, dafür dass du immer an mich geglaubt hast.

Frau Veronika Eder für deine langjährige Freundschaft und die Hilfe beim Layout.

Meinen Eltern und meinen Schwestern, die mich stets bestärkt haben und auf die ich mich während Studium und Promotion immer verlassen konnte.

Und vor allem meinem Lebenspartner Tobias Feldner und meinem Sohn Mattis. Tobias, vielen Dank für deinen Rückhalt und deine bedingungslose Unterstützung.

Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström
Abb.	Abbildung
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit- Hyperaktivitätsstörung
aq.	wässrig
BSA	bovine serum albumin (Rinderalbumin)
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyl-dicarbonat
BOP	(Benzotriazol-1-yloxy)-tris-(dimethylamino)- phosphoniumhexafluorophosphat
bs	breites Singulett
BRET	Biolumineszenzresonanzenergietransfer
ca.	circa
cAMP	Zyklisches 3', 5'-Adenosinmonophosphat
Cbz-Schutzgruppe	Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe
COSY	Correlated Spectroscopy
CREB	cAMP response element binding protein
D	Dopamin
d	Dublett
δ	chemische Verschiebung
DAG	1,2-Diacylglycerol
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-d ₆	Per-deutiertes Dimethylsulfoxid
EC ₅₀	Konzentration, bei der 50% des maximalen Effekts gemessen wird
Ee	enantiomeric excess
EI	Elektronenionisation
eq	Äquivalent/e
ESI	Elektrosprayionisation
Et ₂ O	Diethylether
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
FRET	Fluoreszenzresonanzenergietransfer
GDP	Guanidindiphosphat
geb	gebunden
gp	guinea pig
GPCR	G-Protein gekoppelter Rezeptor
GTP	Guanosintriphosphat

h	Stunde/ human
HCl	Salzsäure
HEK	human embryonic kidney
His	Histamin
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
H _x R	Histamin _x -Rezeptor (x=1,2,3,4)
5-HT	5-Hydroxytryptamin
Hz	Hertz
IC ₅₀	Kompetitions-Bindungs-Assay: Ligand-Konzentration, bei der 50% der Radioligand-Bindung inhibiert wird
IP ₃	Inositol-1,4,5-trisphosphat
J	NMR-Kopplungskonstante
k	Retentionsfaktor
K _B	Dissoziationskonstante eines Antagonisten
K _D	Dissoziationskonstante eines Radioliganden
K _i	Dissoziationskonstante
konz.	konzentriert
λ	Wellenlänge
LiAlH ₄	Lithiumaluminiumhydrid
M	mol/L / Muscarin
m	Multipllett
M ⁺	Molekülion
MAPK	Mitogen aktivierte Proteinkinase
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MEP	Mepyramin
min	Minute/n
ml	Milliliter
MS	Massenspektrometrie
MW	Mikrowelle
m/z	Verhältnis von Masse (u) zu Ladung (e)
n.d.	nicht definiert
NEt ₃	Triethylamin
NMR	Kernspinresonanz
NOESY	nuclear overhauser enhancement spectroscopy
pA ₂	negativer Logarithmus der Dissoziationskonstante K _B
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung
PE	Petrolether
PEI	Polyethylenimin
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle

Ph	Phenyl
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKC	Proteinkinase C
p <i>K</i> _i	negativ dekadischer Logarithmus der Dissoziationskonstante
p <i>K</i> _s	negativ dekadischer Logarithmus der Säurekonstante
PLC	Phospholipase C
ppm	parts per million
q	Quartett
R	Rezeptor
R _f	retardierender Faktor
RP-HPLC	Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
Sf9	Insektenzelllinie von <i>Spodoptera frugiperda</i>
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
TM	Transmembran
t ₀	Totzeit
t _R	Retentionszeit
tert	tertiär/e
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TM	Transmembran
Trt	Trityl
UV	Ultraviolett
ZNS	zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	2
1.1 Histamin	2
1.2 GPCRs	3
1.3 Ligandbindung an GPCRs.....	3
1.4 G-Proteine.....	5
1.5 Dimere Liganden	8
1.6 Allosterische Bindungsstellen.....	8
1.7 Einteilung der GPCRs	9
1.8 Histamin-Rezeptoren.....	9
1.8.1 Der H ₁ -Rezeptor.....	10
1.8.2 Der H ₂ -Rezeptor.....	10
1.8.3 Der H ₃ -Rezeptor.....	11
1.8.4 Der H ₄ -Rezeptor.....	11
1.9 Synergistische Effekte	12
1.10 Histamin-Liganden für den H ₁ - und den H ₄ -Rezeptor.....	13
1.11 Duale H ₁ / H ₄ - Rezeptorliganden	15
2. Aufgabenstellung.....	20
3. Chemischer Teil.....	24
3.1 Ligand-Design Chlor-substituierter Doxepin-Derivate	24
3.2 Racematspaltung von 38e.....	27
3.3 Variation der basischen Amine am Doxepin-Grundgerüst.....	30
3.4 Homodimere Doxepin-verwandte Liganden	33
3.5 Imidazol-Dibenzosuberone-Liganden.....	37
3.6 Carbazol-Liganden	42
3.7 Alcaftadin-Derivate	45
4. Pharmakologischer Teil	52
4.1 Molekularpharmakologische Methoden.....	52
4.1.1 Sf9-Zelllinie	52

4.1.2 Radioligand-Bindungs-Assay	53
4.1.3 GTP γ S-Assay	54
4.1.4 DMR-Assay	56
4.2 Organpharmakologische Methoden	57
4.2.1 H ₁ -Rezeptoraktivität am Meerschweinchen-Ileum.....	57
4.2.2 Schild-Gleichung.....	57
4.3 Pharmakologische Materialien und Methoden	58
4.3.1 Sf9-Insektenzelllinie	58
4.3.2 Membranpräparation.....	59
4.3.3 Radioligand-Kompetitions-Bindungs-Assays	59
4.3.4 GTP γ S-Bindungs-Assay.....	60
4.3.5 Auswertung der Kompetitions-Bindungs-Assays und der GTP γ S-Assays.	61
4.3.6 Organbad-Experimente am isolierten Meerschweinchen-Ileum.....	61
4.4 Pharmakologische Ergebnisse	63
4.4.1 Chlor-substituierte Doxepin-Liganden	63
4.4.2 Variationen an der basischen Struktureinheit.....	68
4.4.3 Homobivalente Liganden	70
4.4.4 Imidazol-Verbindungen	71
4.4.5 Carbazol-Liganden.....	74
4.4.6 Alcaftadinliganden.....	76
4.7 Diskussion.....	81
5. Zusammenfassung und Ausblick.....	90
6. Experimenteller Teil.....	96
6.1 Allgemeine Angaben	96
6.2 Synthese der Chlor-substituierten Doxepin-Derivate.....	99
6.3 Chirale Trennung der racemischen Verbindung 38e	113
6.4 Synthese der Doxepin-Derivate mit verschiedenen Amin-Substitutionsmustern	114
6.5 Synthese der dimeren Ligand-Verbindungen	122
6.6 Synthese der Imidazol-Doxepin-Liganden.....	128
6.7 Synthese der Imidazol-verbrückten Verbindungen ohne Amid.....	138

6.8 Synthese der Carbazol-Liganden	147
6.9 Synthese eines Carbazol-Liganden mit einer Seitenkette am Aromaten.....	152
6.10 Synthese der Alcaftadin-Derivate: Offenkettige Derivate	154
6.11 Synthese der Alcaftadin-Derivate mit geschlossenem Ringsystem.....	161
6.12 Synthese eines Alcaftadin-Derivats mit Sauerstoff-Linker.....	171
6.13 Synthese des Dibenzosuberonderivats mit Sauerstoff-Linker	173
6.14 HPLC Reinheitsdaten.....	174
6.15 Analytik des Racemats 38e und der Enantiomere (<i>R</i>)-38e and (<i>S</i>)-38e.....	175
6.16 Kristallstrukturen der Enantiomere (<i>R</i>)-38e und (<i>S</i>)-38e	178
6.17 Kapillarelektrophorese der Enantiomere (<i>R</i>)-38e und (<i>S</i>)-38e	179
6.18 NMR-Spektren ausgewählter Verbindungen	180
Literaturverzeichnis	185
Curriculum Vitae	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Eidesstattliche Erklärung	207

Kapitel 1

Einleitung

1. Einleitung

1.1 Histamin

Die Geschichte der Histamin-Rezeptor-Forschung begann mit der ersten Synthese des Histamins im Jahr 1907 durch die Chemiker Windaus und Vogt [1]. Drei Jahre später gelang es Henry Dale und George Barger, Histamin aus Mutterkorn zu isolieren [2]. Zudem konnte Dale zusammen mit Patrick Laidlaw Histamin als körpereigene Substanz nachweisen und die ersten grundlegenden Funktionen im Körper wurden aufgeklärt [3].

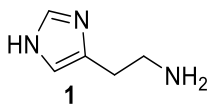


Abbildung 1: Histamin

Das biogene Amin Histamin **(1) (Abb. 1)** fungiert im menschlichen sowie im tierischen Organismus als Gewebshormon und Neurotransmitter. An seine zwei basischen Zentren können Protonen angelagert werden, wobei unter physiologischen Bedingungen das Monokation vorliegt und die aliphatische *N*-Aminogruppe selektiv protoniert wird, da deren pK_s -Wert bei 9.4 liegt, wohingegen der pK_s -Wert des Imidazol-Rings mit 5.8 deutlich niedriger ist [4].

Die Pyridoxalphosphat-abhängige Biosynthese findet in Mastzellen, der Epidermis, der Magenschleimhaut und in Nervenzellen aus der Aminosäure *L*-Histidin statt, wobei größtenteils das Enzym Histidindecaboxylase an der Decarboxylierung beteiligt ist. Eine geringe Rolle spielt auch die *L*-Aminosäure-Decarboxylase [5].

Freigesetztes Histamin wird über zwei unterschiedliche Wege wieder abgebaut. Der Hauptweg erfolgt über Methylierung des Imidazol-Rings. Dieser Schritt wird durch die Histamin-*N*-Methyltransferase katalysiert. Anschließend kann die primäre Aminosäure über die Enzyme Monoaminoxidase, Diaminoxidase und Aldehydoxidase zur *N*-Methylimidazolylessigsäure oxidiert werden. Die weniger bedeutende Variante ist der Abbau über die Diaminoxidase und die Aldehydoxidase zur Imidazoylessigsäure. Der weitere Metabolismus erfolgt über die Ribosylierung des Imidazol-Rings [5, 6].

Wie viele andere Signalmoleküle wirkt auch Histamin auf die Zellen in seiner unmittelbaren Umgebung, nachdem es in die extrazelluläre Flüssigkeit abgesondert

wurde. Die hauptsächliche Speicherung erfolgt in sekretorischen Vesikeln von Zellen, hauptsächlich von Mastzellen und basophilen Granulozyten, die sich überall im Bindegewebe befinden, (aber auch von dendritischen Zellen, T-Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen). Wenn diese Zellen durch eine Verletzung, eine lokale Infektion oder bestimmte immunologische Reaktionen stimuliert werden, wird Histamin durch Exozytose sehr schnell freigesetzt und bindet an verschiedene G-Protein-gekoppelte Histamin-Rezeptoren [7].

1.2 GPCRs

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) im Allgemeinen sind in den Membranen von Zellen lokalisiert und bestehen aus einem Polypeptid, das die Plasmamembran in sieben Transmembranhelices durchspannt. Daher werden diese Rezeptoren häufig als Sieben-Trans-Membran-Rezeptoren bezeichnet (7-TM-Rezeptoren) [8]. Der N-Terminus des Proteins befindet sich extrazellulär, der C-Terminus intrazellulär [9].

Mit mehr als 1000 verschiedenen bekannten GPCRs stellen sie die größte Gruppe an Membran-integrierten Rezeptoren dar. In etwa 30% aller sich derzeit auf dem Markt befindlichen Medikamente adressieren rund 40 verschiedene GPCRs, wodurch hier noch viel Entwicklungsspielraum gegeben ist [10, 11].

1.3 Ligandbindung an GPCRs

Die Ligandbindung erfolgt bei GPCRs an der extrazellulären Transmembranregion oder innerhalb der Lipidschicht an Bindungstaschen, welche durch Transmembranhelices gebildet werden. Die Signaltransduktion findet intrazellulär statt. Die Namensgebung der GPCRs liegt in der Gemeinsamkeit aller GPCRs begründet, dass die Signalweiterleitung über ein heterotrimeres G-Protein erfolgt [12]. Vereinfacht gesehen können GPCRs als molekulare Schalter betrachtet werden, dies bezeichnet man als ternäres Komplexmodell [13]. Durch Konformationsänderung des Rezeptors können extrazelluläre Signale in intrazelluläre Reaktionen übersetzt werden. Dieses Modell erklärt jedoch nicht die konstitutive Aktivität eines Rezeptors oder inversen Agonismus. Daher wurde ein erweitertes ternäres Komplexmodell entwickelt [14, 15]. Bei diesem wurde zusätzlich ein Gleichgewichtszustand für den Rezeptor beschrieben, wobei dieser sich entweder im aktiven oder inaktiven Zustand befinden kann (**Abb. 2**). Agonisten stabilisieren den aktivierten Modus (R_a), inverse Agonisten den inaktiven (R_i). Während bei einer vollständigen Rezeptoraktivierung von

einem Voll-Agonisten gesprochen wird, bezeichnet man Agonisten, die den aktiven Zustand weniger stark stabilisieren, als partielle Agonisten, analog dazu spricht man auch von partiellen inversen Agonisten. Liganden, die das Grundgleichgewicht nicht verändern, werden als neutrale Antagonisten bezeichnet.

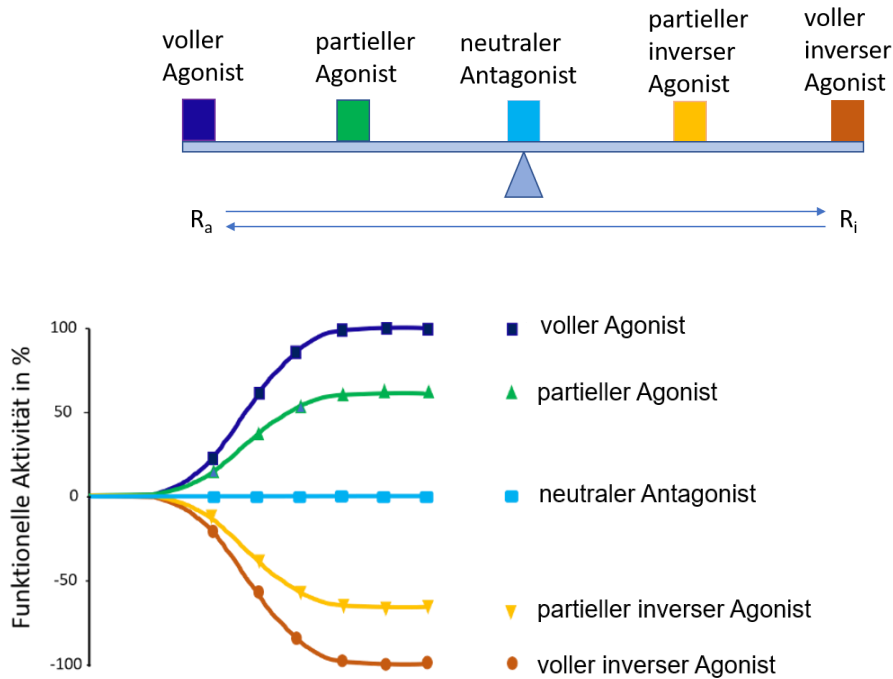


Abbildung 2: Ligand-Klassifizierung auf Grund ihrer Funktionalität am Rezeptor (adaptiert von Seifert und Wenzel-Seifert [16]).

Eine zusätzliche Dimension wird im kubisch ternären Komplexmodell berücksichtigt [17-19]. Der Rezeptor kann sich auch unabhängig von der Ligandbindung im aktiven Zustand befinden und eine Wechselwirkung mit dem G-Protein eingehen. Des Weiteren kann sich auch der Rezeptor, der einen Ligand gebunden hat, im inaktiven Zustand befinden (**Abb. 3**).

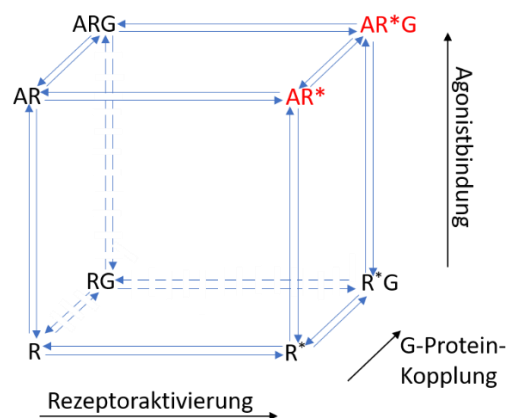


Abbildung 3: Ternäres Rezeptormodell (adaptiert von Weiss et al.) [17], der jeweilige aktive Zustand ist mit * gekennzeichnet.

Zunehmend werden jedoch Hinweise dafür gefunden, dass auch dieses Modell die Rezeptoraktivierung nur unzureichend beschreibt. Es gibt Studien, die vermuten lassen, dass es für GPCRs nicht nur einen aktiven Zustand gibt, sondern diese in der Lage sind, mehrere aktive Konformationen zu bilden [20, 21]. Die Entwicklung von Liganden, die auf denselben Rezeptor wirken, aber die Signalübertragungswege unterschiedlich modulieren, bieten Potential für die Feinjustierung bei der Medikamentengabe, jedoch ist hierzu die Studienlage noch zu dünn, um den tatsächlichen Nutzen einschätzen zu können.

1.4 G-Proteine

Die zuvor für die Signalweiterleitung beschriebenen G-Proteine bestehen aus einer α - sowie einer $\beta\gamma$ -Untereinheit. Wenn GDP an die α -Untereinheit bindet, ist das Trimer über einen Lipidanker mit der Zellmembran verbunden. Durch die Konformationsänderung nach der Ligandbindung an den Rezeptor tauscht die α -Untereinheit GDP gegen GTP aus und die Untereinheiten dissoziieren voneinander. Anschließend kann die α -Untereinheit des G-Proteins mit anderen Molekülen interagieren und eine Signalkaskade wird ausgelöst [12].

Die G-Proteine der GPCRs können auf Grund unterschiedlicher Struktur und Funktion ihrer $G\alpha$ -Untereinheit in die vier Hauptfamilien G_s , G_i , G_q und $G_{12/13}$ unterteilt werden [22]. Im Folgenden sind die verschiedenen Signalwege von $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q$ dargestellt (**Abb. 4-6**). Zudem gibt es noch nur aus einer monomeren Untereinheit bestehende G-Proteine, diese werden hier allerdings nicht weiter beschrieben [23].

Die $G\alpha_s$ -Untereinheit eines aktivierten G_s -Proteins stimuliert die Adenylylzyklase, aus ATP cAMP zu synthetisieren. Durch die erhöhte cAMP-Konzentration wird die Proteinkinase (PKA) aktiviert, was zur Phosphorylierung verschiedenster Zielproteine führen kann (**Abb. 4**).

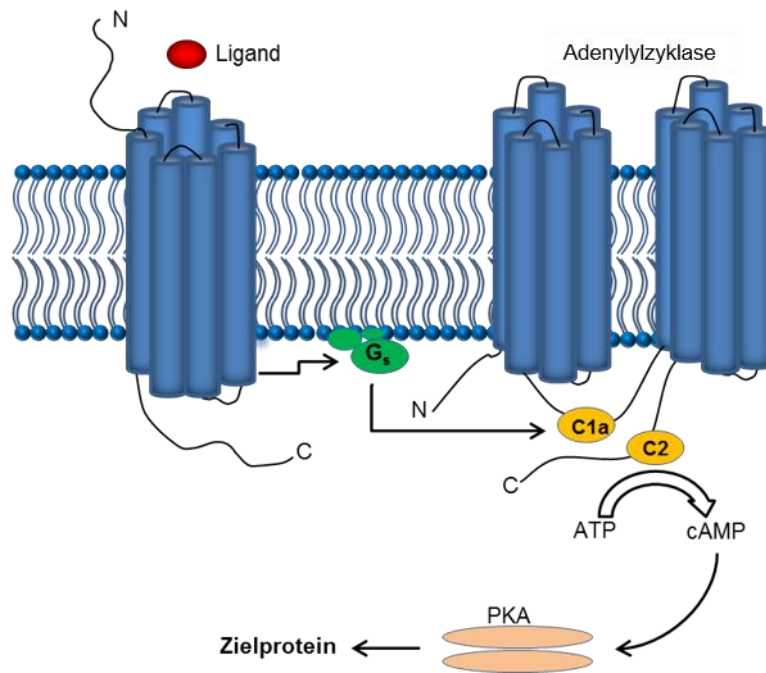


Abbildung 4: Signalweg nach der Aktivierung des G_s-Proteins durch Bindung eines Liganden. Durch das G-Protein wird die Aktivität der Adenylylzyklase erhöht, was zu einer Erhöhung der cAMP-Konzentration führt. Dies aktiviert wiederum die Proteinkinase (PKA) (adaptiert [24]).

Durch Interaktion der Adenylylzyklase mit einem G_i-Protein kann die Enzymaktivität auch inhibiert werden (**Abb. 5**) [25, 26].

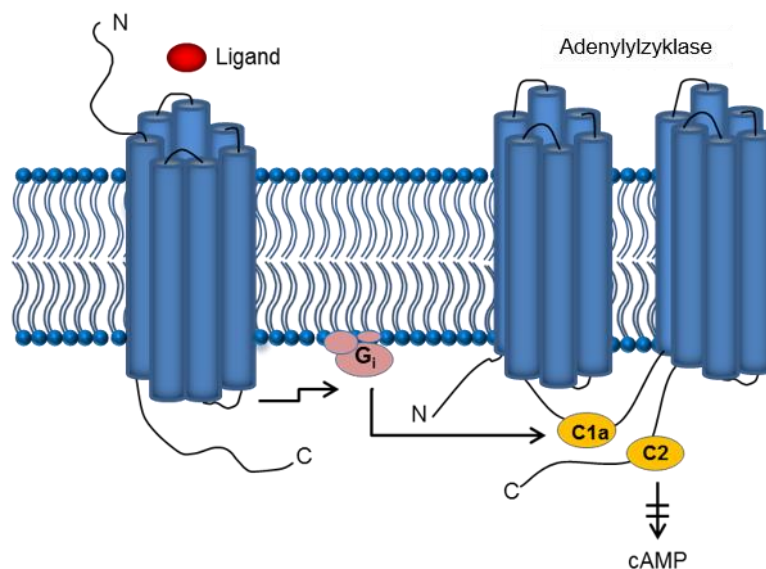


Abbildung 5: Interaktion der Adenylylzyklase mit der G_{αi}-Untereinheit nach Aktivierung des Rezeptors durch einen Liganden. Dieses inhibitorische G-Protein hemmt die Enzymaktivität (adaptiert [24]).

Durch Interaktion der G_{α_q} -Untereinheit mit dem Enzym Phospholipase (PLP) wird dieses Enzym stimuliert. Dadurch wird Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat in Inositol 1,4,5-trisphosphat (IP_3) und Diacylglycerol (DAG) gespalten. Das IP_3 kann an IP_3 -Rezeptoren im endoplasmatischen Retikulum binden, was die Öffnung ionotroper Calciumkanäle zur Folge hat. Dadurch wird die Calciumkonzentration im Zellplasma erhöht. Der erhöhte Calciumspiegel führt zusammen mit dem DAG zur Aktivierung der Proteinkinase C (PKC), die durch Phosphorylierung von Aminosäuren in Proteinen deren funktionelle Eigenschaften modulieren kann (**Abb. 6**) [27, 28].

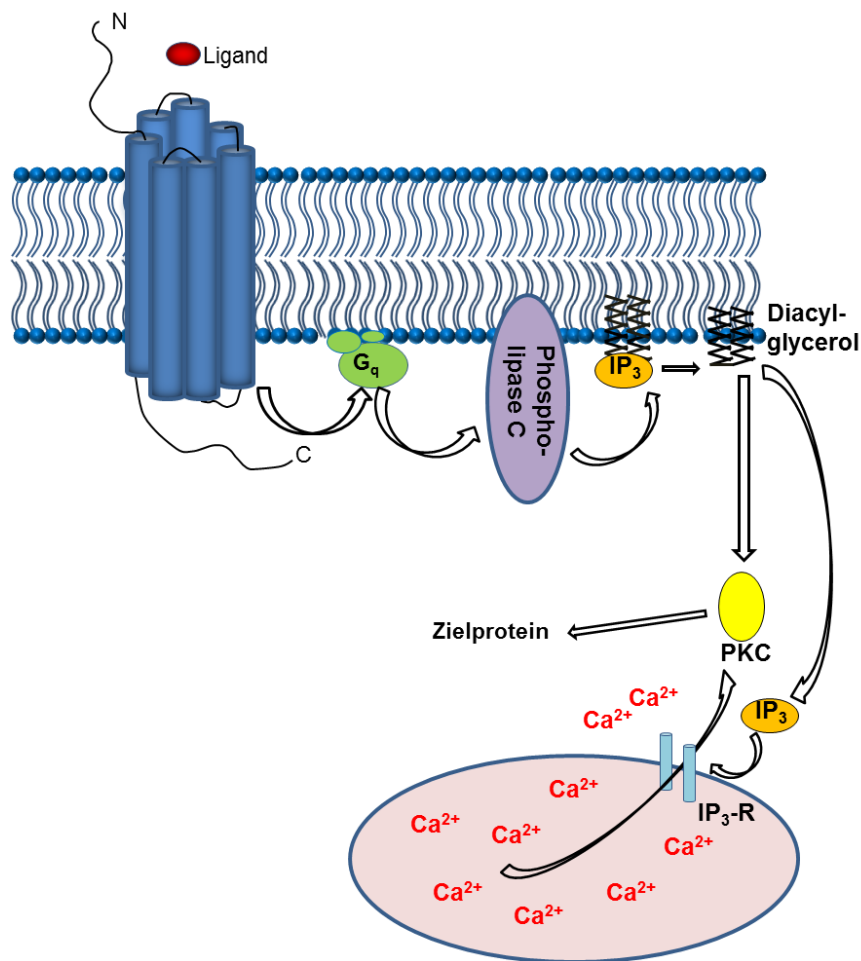


Abbildung 6: Das aktivierte G_q -Protein reguliert die Enzymaktivität der Phospholipase C. Diese spaltet Phosphatidylinositol in IP_3 und DAG. IP_3 aktiviert die Ionenkanäle, wodurch Calcium in Zellplasma freigesetzt wird. Zusammen mit DAG wird die Proteinkinase C (PKC) aktiviert, die Zielproteine phosphorylieren kann (adaptiert [24]).

1.5 Dimere Liganden

Lange Zeit wurde angenommen, dass GPCRs nur als monomere Einheiten existieren. Erst 1975 wurde bei β -Adrenorezeptoren ein als negative Kooperativität bezeichnetes Verhalten beobachtet, das Hinweise auf die Existenz von Oligomeren lieferte [29]. Unter Oligomeren versteht man dabei einen makromolekularen Komplex, der durch nicht-kovalente Bindungen gebildet wird. Dabei wird ein Homooligomer aus wenigen identischen Molekülen gebildet, ein Heterooligomer hingegen aus verschiedenen Makromolekülen [30]. Experimente mit unterschiedlichsten Techniken wie FRET (Fluoreszenzresonanzenergietransfer) und BRET (Biolumineszenzresonanzenergietransfer), Immunoblotting oder Co-Immunopräzipitation lieferten letztendlich überzeugende Beweise für diese Hypothese [31-33]. Liganden können mit Oligomeren andere Eigenschaften zeigen als mit monomer vorliegenden Rezeptoren. So führt beispielsweise für den 5-HT_{2A}-Rezeptor das Ansprechen unterschiedlicher Rezeptoraggregate zu verschiedenen Signalwegen [34, 35]. Auch die Affinität des Rezeptors zum G-Protein oder die übrige Signaltransduktion kann abweichen [36, 37]. Darüber hinaus gibt es Studien, die zeigen, dass Liganden auch den Aggregationsstatus von Rezeptoren beeinflussen können, indem sie die Affinität zwischen den Rezeptoren verändern und so die Assoziation bzw. Dissoziation der Protomere bewirken [38].

1.6 Allosterische Bindungsstellen

Es liegt die Annahme vor, dass alle GPCRs auch allosterische Bindungsstellen haben, das heißt ein Ligand kann an eine andere Bindungsstelle am Rezeptor binden als an die orthosterische Bindungstasche [39]. Für eine Reihe von GPCRs sind Kristallstrukturen bekannt, bei denen diese mit allosterischen Liganden kristallisiert wurden [40-43]. Solch ein allosterischer Modulator kann zusätzlichen Einfluss auf die Rezeptorkonformation nehmen, wodurch wiederum die Affinität des Rezeptors zum orthosterischen Liganden sowie dessen Aktivität beeinflusst wird [44]. Der Modulator selbst zeigt in Abwesenheit des orthosterisch bindenden Liganden keine Wirkung. Man unterscheidet dabei je nach Verstärkung oder Abschwächung der durch den Modulator verursachten Effekte zwischen positiven und negativen allosterischen Modulatoren. Funktionell neutrale allosterische Liganden werden als stille allosterische Modulatoren bezeichnet [45].

1.7 Einteilung der GPCRs

Die GPCRs können in zwei große Klassen unterschieden werden. Die rund 400 „endoGPCRs“ werden von endogenen Liganden wie Peptiden, Lipiden, Prostanoiden, Neurotransmittern, Nucleosiden oder Nucleotiden adressiert [46]. „CsGPCRs“ (chemosensory GPCRs) hingegen, von denen für 260 Rezeptoren Liganden bekannt sind, reagieren auf externe Signale wie Gerüche, Geschmack, Photonen oder Pheromone [22]. Für 140 GPCRs sind die Liganden bislang nicht bekannt, diese werden unter dem Begriff „orphan receptors“ zusammengefasst [47].

Eine weitere Unterteilung erfolgte über das GRAFs System, wodurch diese an Hand struktureller Merkmale fünf verschiedenen Klassen zugeordnet werden: die Glutamat-, Rhodopsin-, Secretin, Adhäsions- und die Frizzles/Taste2-Gruppe [48, 49].

Die von der International Union of Basic and Clinical Pharmacology (IUPHAR) geführte Unterscheidung bildet sechs Klassen und richtet sich nach den funktionellen Merkmalen: Klasse A (Rhodopsin-ähnliche), Klasse B (Secretin-ähnliche), Klasse C (Glutamat-ähnliche), Klasse D (Pheromonrezeptoren in Hefen), Klasse E (cAMP-Rezeptoren in Nematoden) und Klasse F (Frizzled/Smoothened). Klasse D bis F kommen bei Wirbeltieren nicht vor, in Gruppe F werden Geruchsrezeptoren von Insekten, GPCRs von Pflanzen, Chemorezeptoren von Nematoden und Frizzled/Smoothened-Rezeptoren höherer Tiere zusammengefasst [50, 51].

Die Klasse A, die Rhodopsin-ähnlichen GPCRs, bilden die größte Gruppe der GPCRs. Die ca. 680 Rezeptoren werden nochmals in zahlreiche Unterfamilien eingeteilt und umfassen Rezeptoren für eine Vielzahl kleiner Moleküle, Neurotransmitter, Peptide, Hormone sowie Geruchsrezeptoren, visuelle Pigmente, Geschmackstyp-2-Rezeptoren und fünf Pheromon-Rezeptoren. Eine dieser Unterfamilien bilden die Histamin-Rezeptoren (H₁R, H₂R, H₃R, H₄R) [50].

1.8 Histamin-Rezeptoren

Die ersten synthetisch hergestellten Histamin-Antagonisten wurden im Jahr 1937 von Staub und Bovet entdeckt [52]. Diese allerdings zu toxisch wirkenden Verbindungen konnten nicht therapeutisch eingesetzt werden, jedoch folgten bald darauf die ersten marktreifen Antihistaminika, wie z.B. Mepyramin [53]. Zu diesem Zeitpunkt waren die verschiedenen Histamin-Rezeptorsubtypen noch unbekannt. Diese wurden erst sukzessive entdeckt. Erste Hinweise lieferte die Tatsache, dass Histamin-induzierte

Effekte wie die Magensäuresekretion oder positiv inotrope Effekte durch Mepyramin nicht gehemmt werden konnten [54]. Der H₄-Rezeptor wurde erst zu Beginn dieses Jahrtausends mehr oder weniger simultan von mehreren Gruppen beschrieben [55-60].

1.8.1 Der H₁-Rezeptor

Der humane H₁-Rezeptor besteht aus 487 Aminosäuren [61]. Ein besonders hohes Expressionslevel dieses Rezeptortyps ist im Gastrointestinaltrakt, den Endothelzellen, Lymphozyten, Leukozyten, dendritischen Zellen, im Cardiovascularsystem sowie im Gehirn zu finden [62]. Bei allen beobachteten allergieartigen Wirkungen des Histamins spielt der H₁-Rezeptor eine große Rolle, unter anderem bei bronchialem Asthma, allergischer Rhinitis, Juckreiz, Erweiterung kleinerer Blutgefäße verbunden mit Nesselsucht und Hautrötungen oder der Hormonausschüttung, wie z.B. Adrenalin [63]. Auf molekularer Ebene führt eine Stimulierung des Rezeptors zur Aktivierung des G-Proteins G $\alpha_{q/11}$, wodurch wiederum die Phospholipase C (PLC) aktiviert wird [64]. Dies hat die Freisetzung von Calcium aus intrazellulären Speichern zur Folge. Über unterschiedliche Signaltransduktionswege werden verschiedenste Effekte hervorgerufen, z.B. die Vasokonstriktion der glatten Muskulatur in den Atemwegen, die Freisetzung von Entzündungsmediatoren (z.B. Interleukine), Aktivierung der Proteinkinase C, die wiederum die Genregulierung durch Phosphorylierung kontrollieren kann, oder die Freisetzung von Stickstoffmonoxid aus Endothelzellen, die eine Vasodilatation zur Folge hat [65, 66].

1.8.2 Der H₂-Rezeptor

1991 gelang es erstmals den H₂-Rezeptor zu klonieren [67]. Dieser besteht beim Menschen aus 359 Aminosäuren [68]. In hohen Konzentrationen findet man diesen Rezeptor in Zellen des Herzens. Inotrope und chronotrope Effekte führen dort zu einer Erhöhung der Herzfrequenz und zur Erweiterung kleiner Blutgefäße. Des Weiteren ist er in der Lunge, dem Uterus, hämatopoetischen Zellen und dem Bindegewebe lokalisiert. Außerdem wurde nachgewiesen, dass im Gastrointestinaltrakt über diesen Rezeptor die Magensäuresekretion reguliert wird [69].

Über das G-Protein G α_s aktiviert der Rezeptor über die Adenylzyklase die Bildung des sekundären Botenstoffs cAMP, welches wiederum die Proteinkinase aktiviert und letztendlich über eine Signalkaskade auf die Gentranskription Einfluss nimmt [68].

Darüber hinaus wird durch das G-Protein $G_{\alpha_q/11}$ in bestimmten Zellen ein Signalweg über die Phospholipase C aktiviert, der die intrazelluläre Calciumkonzentration reguliert [70].

1.8.3 Der H₃-Rezeptor

Die Entdeckung des H₃-Rezeptors geht auf das Jahr 1983 zurück, 1999 konnte dieser erstmals kloniert werden [71, 72]. Das Rezeptorprotein des humanen H₃R besteht aus 445 Aminosäuren, jedoch sind über 20 verschiedene Splicevarianten unterschiedlicher Länge bekannt, die sich insbesondere in der Länge der dritten intrazellulären Schleife unterscheiden [73]. Vornehmlich befindet sich dieser Rezeptor im ZNS (im Hippocampus, dem Cortex und den basalen Ganglien) sowie in Zellen des Gastrointestinaltrakts, des kardiovaskulären Systems und der Atemwege [71, 74]. Dort fungiert er sowohl als präsynaptischer Autorezeptor und reguliert die Ausschüttung von Histamin als auch als Heterorezeptor, indem er die Freisetzung von anderen Neurotransmittern wie Dopamin, Serotonin, Noradrenalin und Acetylcholin steuert. Dadurch spielt er eine große Rolle in der Pathophysiologie neurologischer Schmerzen, der Regulation des Tag-Nacht-Rhythmus sowie bei Hunger- und Durstgefühlen. Des Weiteren wird er mit Bluthochdruck, Schizophrenie, der Parkinson-Krankheit und ADHS in Verbindung gebracht [75].

Der H₃R koppelt an das G-Protein $G_{\alpha_{i/o}}$, welches wiederum die Adenylzyklase hemmen kann. Abgesehen davon konnte gezeigt werden, dass dieses mit der Phospholipase A₂, der Mitogen-aktivierten Proteinkinase und der Phosphatidylinositol-3-kinase interferiert, den Na⁺/H⁺-Antiporter hemmt und den intrazellulären Calciumspiegel herabsetzt [76, 77].

1.8.4 Der H₄-Rezeptor

Der erstmals im Jahr 2000 klonierte humane H₄-Rezeptor ist ein Homolog des H₃-Rezeptors und besteht aus 390 Aminosäuren [78]. Zudem sind zwei inaktive Isoformen des H₄-Rezeptors bekannt, die durch alternatives Splicing entstehen [79]. Hauptsächlich wird dieser Rezeptor bei Zellen des blutbildenden Systems (z.B. Neutrophilen, Eosinophilen, Basophilen) und des Immunsystems (z.B. Mastzellen, Monozyten, T-Zellen) exprimiert [78]. Daher ist es wenig verwunderlich, dass dieser Rezeptor an allen allergischen Reaktionen mitbeteiligt ist [80-82]. Wie auch der H₃R zeichnet sich der H₄R durch eine hohe konstitutive Aktivität aus [83, 84]. Die

Signaltransduktion verläuft über das G-Protein $G_{\alpha_{i/o}}$. Dieses hemmt die Adenylzyklase, was zu einer verminderten Bildung von cAMP und dadurch zur Abnahme der CREB (cAMP response element binding protein) vermittelten Gentranskription führt [78]. Zudem wird die intrazelluläre Calciumfreisetzung in Mastzellen und Eosinophilen und der MAPK (Mitogen aktivierte Proteinkinase)-Signalweg aktiviert [57, 85]. Der β -Arrestin-Signalweg beschreibt darüber hinaus einen G-Protein unabhängigen Signalweg [86, 87].

1.9 Synergistische Effekte

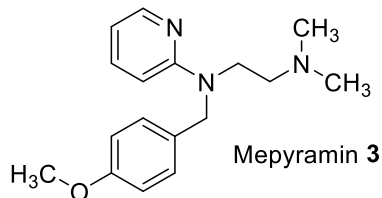
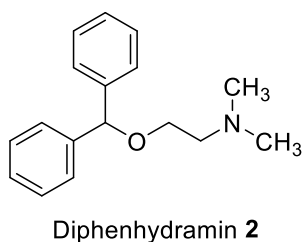
Eine übermäßige Freisetzung von Histamin als Immunantwort auf pathophysiologisch eigentlich unbedenkliche Allergene aus der Umwelt oder auf Bestandteile des eigenen Körpers führt zu chronisch entzündlichen Erkrankungen wie Asthma bronchiale, allergischen Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes oder atopischer Dermatitis (Neurodermitis) [88]. Die Ursache liegt in einer Fehlfunktion bei der Regelung der IgE-Antikörper. Insbesondere der H_1R als auch der H_4R spielen eine tragende Rolle bei allergischen Entzündungen vom Typ I. Verschiedene Studien weisen darauf hin, dass die kombinierte Gabe von Antagonisten für beide Rezeptoren einen synergistischen Effekt zur Folge hat [81, 89].

Ein solcher konnte beispielsweise in Bezug auf die Hemmung von Juckreiz und Hautentzündungen bei chronischer Dermatitis [90], akutem Hapten-induziertem Kratzen [91] und Erdnuss-induzierter Darm-Allergie [92] beobachtet werden. Im Asthma-Modell der Maus konnten Deml et al. eine synergistische Hemmwirkung auf die Eosinophilen-Akkumulation in der bronchoalveolären Flüssigkeit verzeichnen, wobei Mepyramin (**3**) als H_1 -Agonist und JNJ7777120 (**13**) als H_4R -Antagonist eingesetzt wurde [89]. Aus diesem Grund konzentriert sich vorliegende Arbeit auf den Histamin- H_1 - und den Histamin- H_4 -Rezeptor.

1.10 Histamin-Liganden für den H₁- und den H₄-Rezeptor

Sowohl für den hH₁R und den hH₄R sind eine Reihe verschiedener Liganden bekannt. Für den H₁R können drei Generationen von Antihistaminika unterschieden werden (**Abb. 7**).

1. Generation



2. Generation

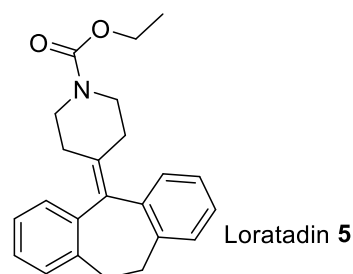
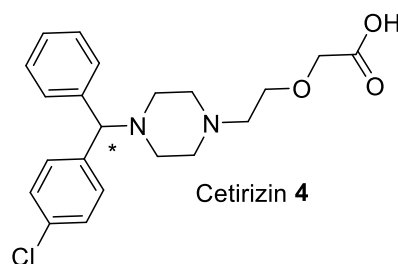


Abbildung 7: Strukturformeln einiger H₁-Antihistaminika der 1. und 2. Generation.

Zur ersten Generation gehören beispielsweise Diphenhydramin (**2**) und Mepyramin (**3**). Diese werden auf Grund ihrer sedierenden Wirkung heute hauptsächlich noch zur Behandlung von Schlafstörungen und gegen Übelkeit verwendet. Antihistaminika der zweiten Generation zeigen eine schwächere sedierende Wirkung, da diese weniger stark lipophil sind und dadurch die Blut-Hirn-Schranke schlechter überwinden können. Zu diesen gehören beispielsweise Cetirizin (**4**) und Loratadin (**5**) [68]. Die Weiterentwicklung dieser Liganden führte zur dritten Generation, zu der beispielsweise Levocetirizin, Desloratadin und Fexofenadin gehören [93].

Beispiele für H₁-Rezeptor-Agonisten sind in **Abb. 8** gezeigt:

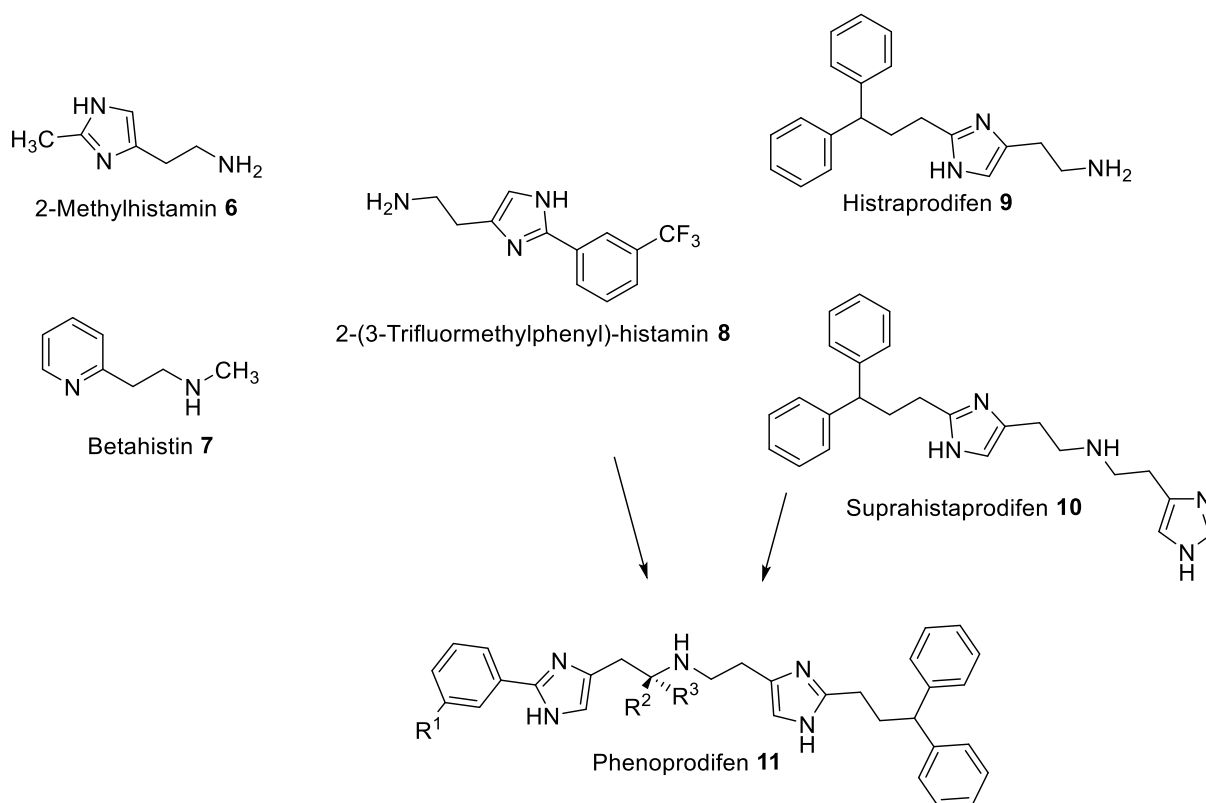


Abbildung 8: Strukturformeln einiger Agonisten für den H₁-Rezeptor.

Bei den H₁-Agonisten unterscheidet man vier Verbindungsklassen: Histamin-artige Moleküle (**6, 7**) [94], 2-Phenylhistamine (**8**) [95, 96], Histaprodifene (**9, 10**) [97] und Phenoprodifenene (**11**) [97, 98], die aus der Kopplung von Histaprodifenen mit Phenylhistaminen entstanden. Diese finden jedoch keine therapeutische Anwendung.

Für den H₄-Rezeptor sind bislang verhältnismäßig wenige Antagonisten bekannt.

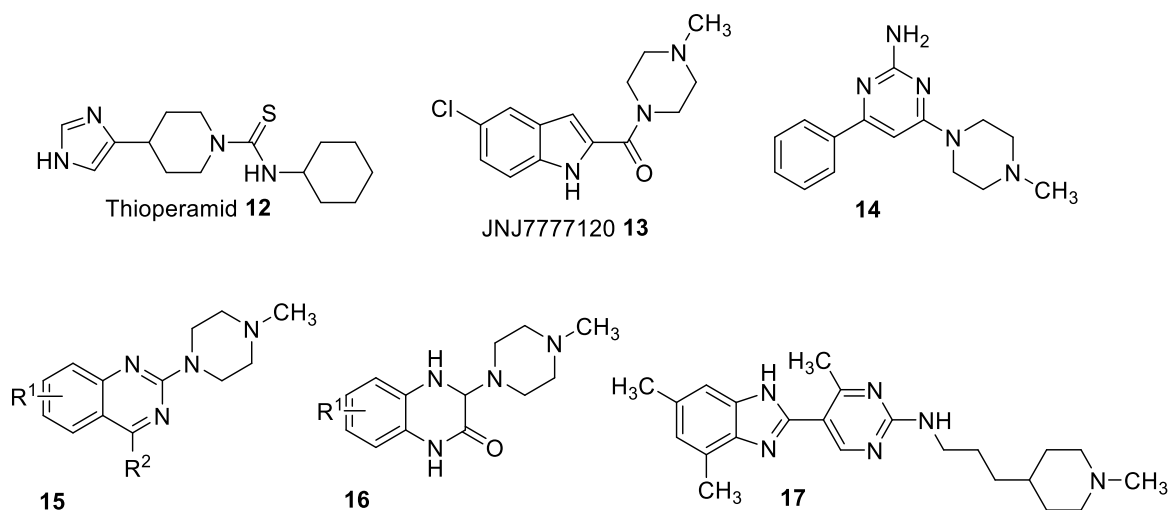


Abbildung 9: Strukturformeln einiger Histamin-Rezeptorantagonisten am hH₄R.

Thioperamid (**12**) ist ein bekannter hH₃R-Antagonist, der sich nach der Entdeckung des H₄-Rezeptors am hH₄R als inverser Agonist erwies [99]. JNJ7777120 (1-[(5-Chloro-1*H*-indol-2-yl)carbonyl]-4-methyl-piperazin (**13**) war der erste identifizierte selektive Antagonist [80]. Allerdings ist die pharmakologisch bestimmte Affinität speziesabhängig und im β-Arrestin-Signalweg wurde für diesen Liganden agonistisches Verhalten beschrieben [100]. In vitro wird dieser Ligand beispielsweise in Radioligand-Studien als gelabelter Antagonist eingesetzt. Nachteile, wie eine kurze in-vivo-Halbwertszeit und Toxizität bei Ratten und Hunden, führten jedoch zum Abbruch der klinischen Studien zur therapeutischen Anwendung [99, 101]. Weitere bekannte selektive H₄-Antagonisten sind beispielsweise in der Gruppe der 2-Aminopyrimidine (**14**), der Quinazoline (**15**) und der Quinoxaline (**16**) zu finden. Derzeit befindet sich der hH₄R-Antagonist Toreforant (**17**) noch in Phase 2 der klinischen Studien und wird auf sein therapeutisches Potential hin untersucht [101]. (**Abb. 9**)

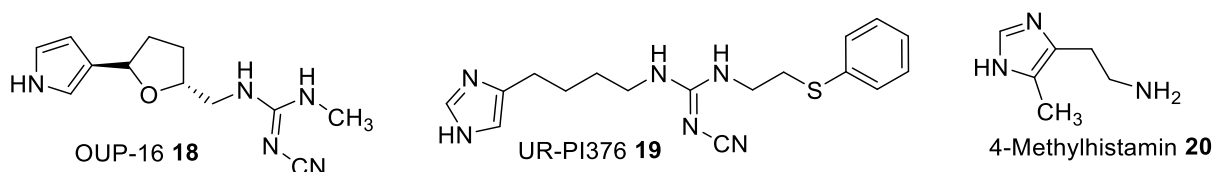


Abbildung 10: Strukturformeln einiger selektiver Agonisten am hH₄-Rezeptor.

Als selektive Agonisten konnten beispielsweise das OUP-16 (**18**) (ein chirales Tetrahydrofuran-Analogon) oder das mit dem Cyanoguanidin strukturverwandte UR-PI376 (**19**) [102] identifiziert werden. 4-Methylhistamin (**20**), das ursprünglich als H₂-Ligand entwickelt wurde, zeigte ebenfalls Rezeptorselektivität am H₄R gegenüber anderen Histamin-Subtypen [99] (**Abb. 10**).

1.11 Duale H₁/ H₄- Rezeptorliganden

In allen bisher veröffentlichten Studien zum synergistischen Effekt wurden verschiedene Liganden gleichzeitig verabreicht, um mehrere molekulare Ziele zu adressieren. Ein Ligand, der mehrere Rezeptoren gleichzeitig anspricht, brächte jedoch eine Reihe von Vorteilen mit, wie zum Beispiel die Erhöhung der Sicherheit für den Patienten, da Arzneimittelwechselwirkung in geringerem Ausmaß auftreten als bei der Verabreichung von Arzneimittelcocktails [103].

Neben dem potenziell klinischen Wert bieten solche dualen Liganden zudem die Möglichkeit, den synergistischen Effekt auf molekularer Ebene zu untersuchen. Dazu wurden bislang kaum Studien durchgeführt, weil dafür dringend geeignete Werkzeuge benötigt werden.

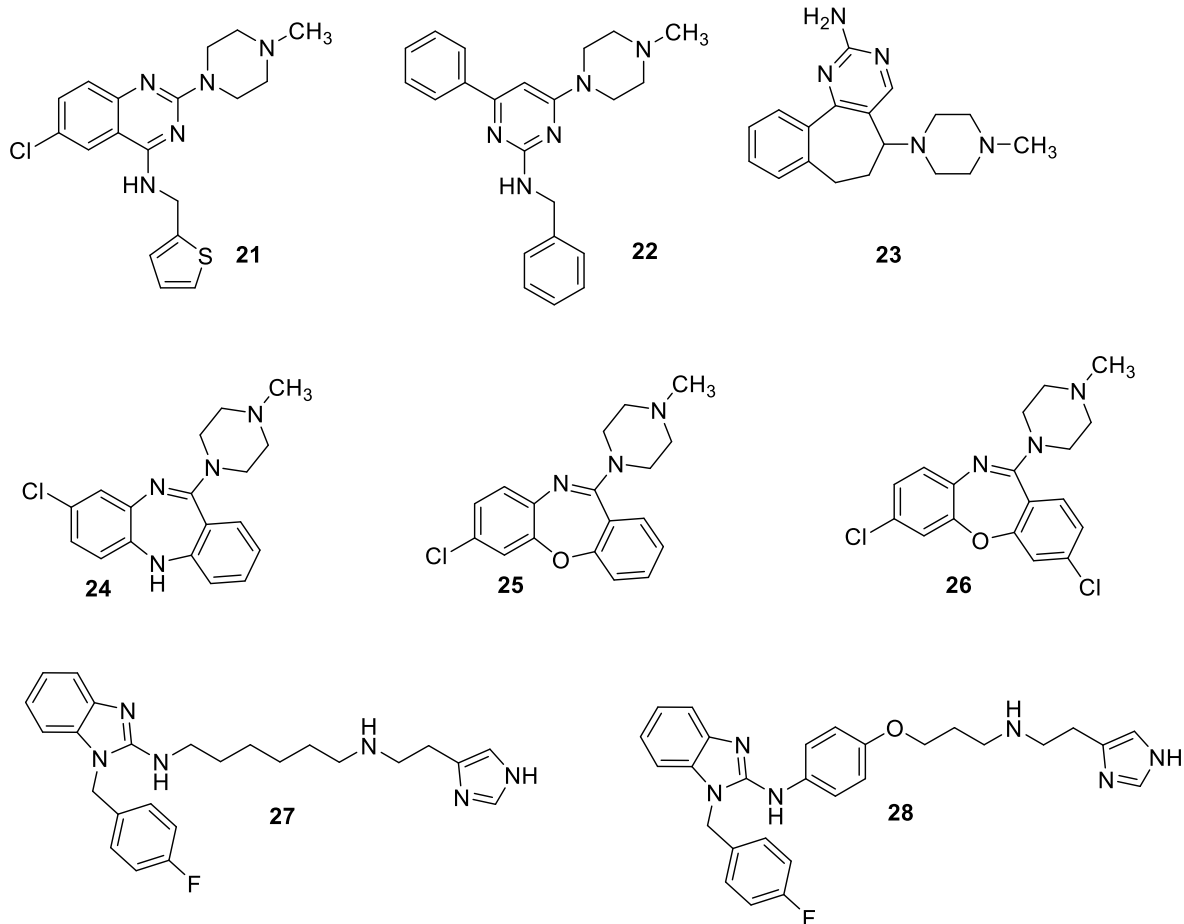


Abbildung 11: Strukturformeln verschiedener dualer H₁/H₄-Rezeptorliganden.

Auf Grund der geringen Homologie zwischen den Sequenzen der orthosterischen Bindungsstellen des hH₁R und des hH₄R ist es eine große Herausforderung, duale H₁/H₄-Rezeptorliganden zu entwickeln. Für eine Reihe von Substanzklassen ist eine Affinität zu beiden Rezeptoren beschrieben worden (**Abb. 11**).

Tabelle 1: pK_i-Werte am hH₁R und hH₄R der in **Abb.11** gezeigten Liganden.

Verbindung	pK _i (hH ₁ R)		pK _i (hH ₄ R)	
21	7.70 ± 0.10 ^a	ant. ^a	8.12 ± 0.02 ^a	inv.ag. ^a
	6.26 ± 0.11 ^b		7.37 ± 0.06 ^b	
22	5.95 ± 0.04 ^c	ant. ^c	6.02 ± 0.06 ^c	inv.ag. ^c
23	5.04 ± 0.15 ^c	ant. ^c	6.73 ± 0.09 ^c	inv.ag. ^c
24	8.58 ± 0.16 ^d	ant. ^d	5.93 ± 0.12 ^d	ag. ^d
25	8.11 ± 0.10 ^a	ant. ^a	7.55 ± 0.10 ^a	ag. ^a
	7.76 ± 0.11 ^e		6.99 ± 0.01 ^e	
26	9.23 ± 0.28 ^e	ant. ^e	6.90 ± 0.10 ^e	ag. ^e
27	7.26 ± 0.02 ^f	ant. ^f	7.31 ± 0.07 ^f	ant. ^f
28	8.04 ± 0.06 ^f	ant. ^f	7.74 ± 0.05 ^f	ant. ^f

a) Smits et al. [104], b) Wagner et al. [105], c) Hammer et al. [106], d) Appl et al. [107], e) Naporra et al. [108], f) Wan [109].

Wagner et al. verfolgten den Ansatz, das Molekül **JNJ7777120 (13)** mit einem Linker entweder mit Mepyramin oder Astemizol zu verbrücken [105]. Die am hH₄R bestimmten Affinitäten waren jedoch eher gering. Eine Scaffold-Hopping-Studie identifizierte Quinazolin-Derivate als duale Liganden (**21**) [104]. Auch Diaminopyrimidine zeigten moderate Affinität zu beiden Rezeptoren (**22, 23**) [106] (**Tabelle 1**). Appl et al. konnten bei ihren Untersuchungen an bereits bekannten Neuroleptika Affinität einiger Verbindungen zu den beiden Histamin-Rezeptoren nachweisen [107]. Diese Moleküle waren häufig Multi-Target-Medikamente und zeigten zu einer Vielzahl von GPCRs gute Bindungseigenschaften. Ein solches Molekül wurde beispielsweise in Clozapin (**24**) gefunden. Im Gegensatz zu seiner Wirkung an vielen anderen GPCRs fungiert es am hH₁R als Antagonist und am hH₄R als partieller Agonist. Dieses Molekül nahm die Gruppe von Smits et al. als Ausgangspunkt, um durch Modifikationen des Substitutionsmusters die Verbindung zu optimieren (**25**) [110]. Auch Gobleder nutzte diese Erkenntnisse als Ausgangspunkt für weitere Strukturmodifikationen (**26**) [111]. Einige der dadurch entwickelten mit Clozapin strukturverwandten Liganden zeigten zwar hohe Affinität an beiden Rezeptoren, wiesen jedoch nur am hH₁R antagonistisches Verhalten auf, wohingegen am hH₄R agonistisches bzw. partial agonistisches Verhalten nachgewiesen wurde. Für viele der Verbindungen war zudem keine Rezeptorselektivität gegeben, d.h., sie zeigten auch an zahlreichen anderen GPCRs hohe Affinitäten.

Wan charakterisierte zahlreiche Quinazolin- und Benzimidazol-Derivate [109]. Besonders einige Benzimidazol-Derivate (**27**, **28**) wiesen eine ausgeglichene Affinität zu beiden Rezeptoren auf, allerdings waren sie zudem zum hH₃R affin.

Daher bleibt die Entwicklung dualer hH₁R/hH₄R-Liganden mit antagonistischem bzw. invers agonistischem Verhalten an beiden Rezeptoren, die zudem hohe Rezeptorselektivität aufweisen sollen, ein bedeutsames Forschungsthema.

Kapitel 2

Aufgabenstellung

2. Aufgabenstellung

In Zusammenhang mit Studien zum synergistischen Effekt am H₁R und am H₄R könnten duale H₁/H₄-Rezeptorliganden nicht nur als Werkzeuge für die Untersuchung dieses Effekts auf molekularer Ebene dienen, sondern auch großes Potenzial für die Behandlung von Allergien bergen. Daher war das Ziel dieser Arbeit, hH₁R/hH₄R-Liganden mit antagonistischem bzw. invers agonistischem Verhalten an beiden Rezeptoren, die zudem hohe Rezeptorselektivität gegenüber anderen GPCRs aufweisen sollten, zu entwickeln.

Als Ausgangspunkt für die Studien dieser Arbeit wurde Doxepin gewählt (**Abb. 12**). Dieses Molekül wurde wie Clozapin von Appl et al. an verschiedenen GPCRs untersucht. Am hH₁R zeigt dieser Ligand eine hohe Affinität, am hH₄R liegt diese im moderat affinen Bereich ($pK_i(\text{hH}_1\text{R}) = 8.91$, $pK_i(\text{hH}_4\text{R}) = 4.82$) [107]. Aber im Gegensatz zu den von Gobleder [111] und Smits et al. [110] untersuchten Clozapin-Derivaten weist Doxepin invers agonistisches Verhalten am hH₄R auf. Zunächst sollte der Substituenten-Einfluss an diesem Molekül untersucht werden. Gobleder konnte bei Variationen des Chlorsubstitutionsmusters an Clozapin-Derivaten signifikant unterschiedliche Bindungseigenschaften feststellen [108, 111].

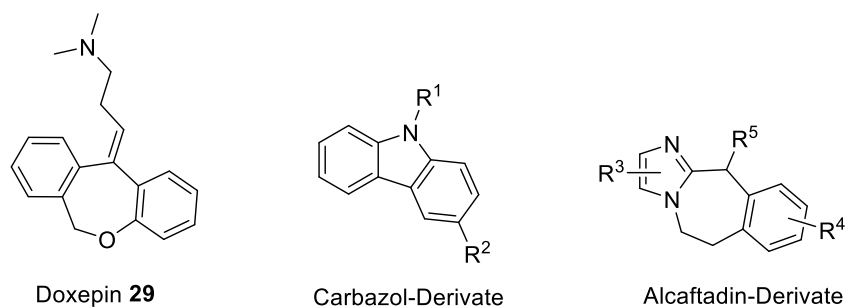


Abbildung 12: Strukturen der drei verschiedenen Verbindungsklassen, die als potenzielle duale hH₁R-/hH₄R-Liganden untersucht werden sollten.

Die Struktureinheit des 1-Methylpiperazins erwies sich als vorteilhaft für die Affinität am hH₄R [105, 112], daher wurde beim Doxepin-Grundgerüst das basische Strukturelement durch diese Ring-Struktur ersetzt. Um eine möglichst hohe Affinität für beide Rezeptoren zu erreichen, wurde auch hier der Ansatz verfolgt, das Substitutionsmuster zu verändern. Für eines der Derivate sollte exemplarisch eine Enantiomerentrennung durchgeführt werden. Da Berechnungen in Modellierungsexperimenten Anlass zur Vermutung der unterschiedlichen Orientierung der

Enantiomere in der Bindungstasche gaben [108], sollte in Kompetitions-Bindungsstudien untersucht werden, ob eines der Enantiomere als Eutomer agierte. Um darüber hinaus den Einfluss des basischen Strukturelements zu untersuchen, sollte durch dessen Variation eine Substanzbibliothek angelegt werden, wobei die Ringgröße, die Methylierung des basischen Stickstoffs sowie die Basizität im Fokus stehen sollten. Des Weiteren sollte ein größerer Abstand zwischen Piperazin-Ring und Grundgerüst eingeführt werden sowie Piperazin-Strukturen, die unterschiedlich substituiert waren.

Bei vielen anderen GPCRs konnten dimere Liganden allosterische Bindungsstellen adressieren oder an zwei orthosterische Bindungsstellen gleichzeitig binden. Daher sollte eine kleine Bibliothek dimerer Verbindungen mit verschiedenen langen Linkern zwischen den monomeren Bausteinen aufgebaut werden, um zu untersuchen, ob dadurch auch am hH₁R und hH₄R eine erhöhte Affinität erreicht werden konnte.

Da bei Wan affine Liganden zum hH₁R und hH₄R dadurch synthetisiert wurden, dass Monomere am Piperazin-Ring mit einem Linker verknüpft wurden (**27, 28**) [109], sollte dies auch bei Oxepin-Derivaten durchgeführt werden. Dabei sollte die Linkerlänge bei der Verknüpfung variiert werden.

In einer Scaffold-Hopping-Studie wurden zwei Carbazol-Verbindungen als hH₄R-Liganden beschrieben [113]. Daher sollte neben dem Oxepin-Heterozyklus auch ein Carbazol-Grundgerüst untersucht werden, welches unterschiedlich substituiert werden sollte (**Abb. 12**).

Bei Wan stellt die Affinität zum hH₃R einen Nachteil der ansonsten ausbalanciert-affinen hH₁R-/hH₄R-Liganden **27** und **28 (Abb. 11)** dar [109]. Alcaftadin wird als affiner Antagonist am hH₁R und hH₂R sowie moderat affiner Antagonist am hH₄R ohne Affinität zum hH₃R beschrieben [114]. Daher sollte der Trizyklus, wie er beim Alcaftadin vorgefunden wird, als Grundgerüst für verschieden substituierte Liganden gewählt werden (**Abb. 12**). Des Weiteren werden in einem Patent von Berrebi-Bertrand et al. Alcaftadin-Derivate als affine hH₄R-Antagonisten beschrieben [115]. Durch die Erstellung einer Substanzbibliothek mit dem Trizyklus des Alcaftadins sollte der Substituenten-Einfluss auf die hH₁R/hH₄R-Affinität untersucht werden. Außerdem sollte untersucht werden, inwiefern durch die Variation der Substituenten die Affinität am hH₂R gesenkt werden könnte.

Kapitel 3

Chemischer Teil

3. Chemischer Teil

3.1 Ligand-Design Chlor-substituierter Doxepin-Derivate

In der vorliegenden Arbeit wurde der Fokus auf trizyklische Verbindungen gelegt. Für das Affinitätsprofil einiger Dibenzo[*b,f*][1,4]oxazepin-Derivate am hH₄R konnte gezeigt werden, dass eine Abhängigkeit vom Chlor-Substitutionsmuster besteht [108, 110]. Der Nachteil der Oxazepin-Derivate ist jedoch, dass diese in der Literatur zwar als Antagonisten am hH₁R, aber als Agonisten am hH₄R beschrieben werden.

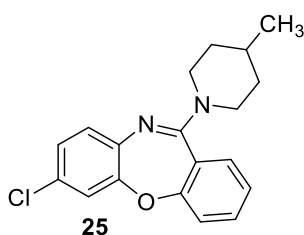


Abbildung 13: Struktur von **VUF6884** [110].

Doxepin (**29**) (**Abb. 14**) hingegen ist ein affiner Antagonist am hH₁R und wurde als inverser Agonist mit geringer Potenz am hH₄R identifiziert [107]. Anlehnend an das Substitutionsmuster des dualen H₁/H₄-Rezeptorliganden VUF6884 (**25**, **Abb. 13**) [116], welches wiederum auf dem H₁-Antagonisten Clozapin (**24**) basiert, und das am hH₁- und hH₄-Rezeptor untersuchte Neuroleptikum Loxapin [107] wurde die basische Seitenkette von Doxepin durch *N*-Methylpiperazin ersetzt, da mehrere Studien Anlass zu der Vermutung geben, dass dies zur hH₄R-Affinität beiträgt [105, 112].

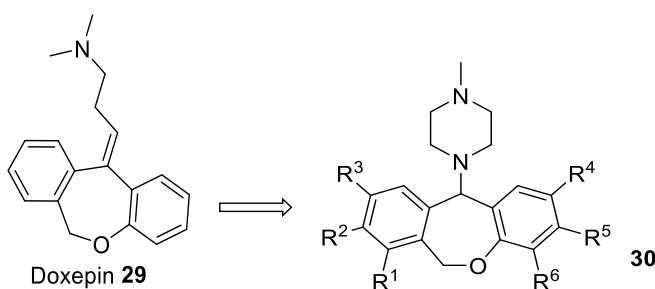
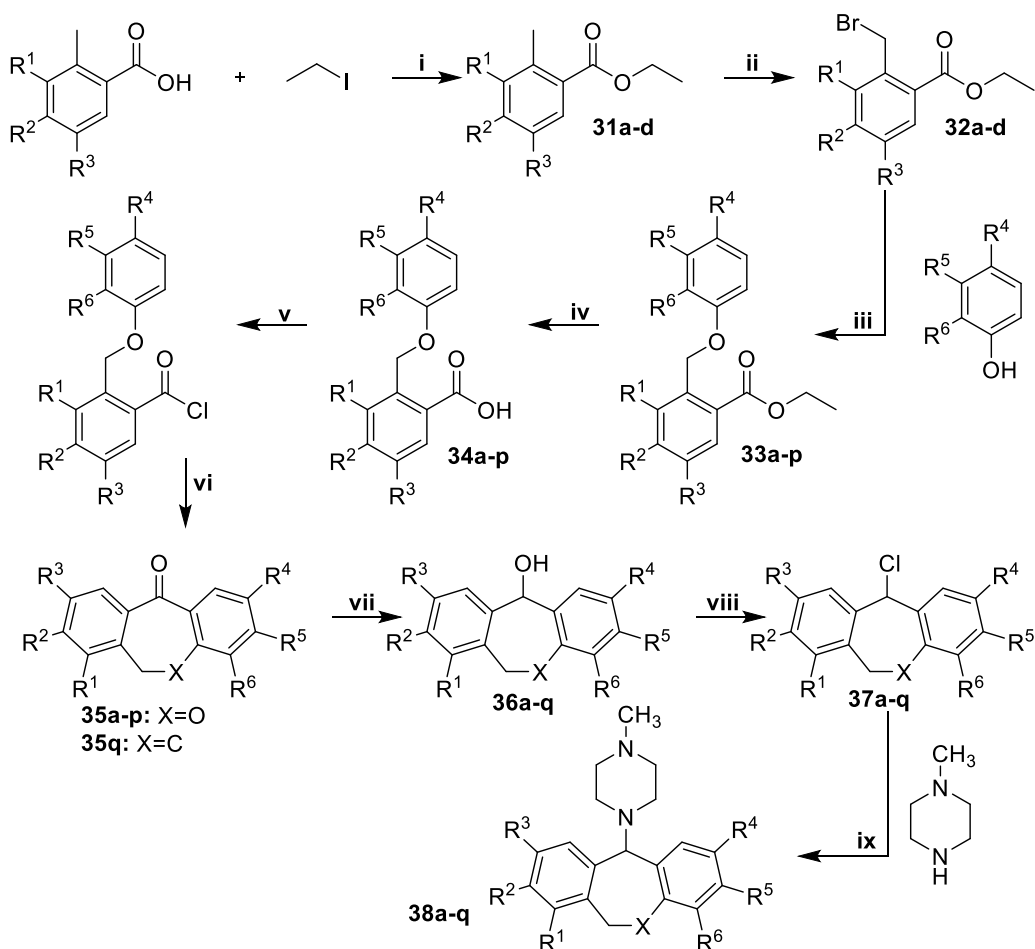


Abbildung 14: Doxepin [116] und darauf basierende Dibenzo[*b, f*][1,4]oxepin-Derivate.

Im Zuge dieser Arbeit wurde mit Doxepin als Leitstruktur eine Substanzbibliothek hergestellt, in der das Chlor-Substitutionsmuster systematisch verändert wurde, um diese Substituentenabhängigkeit auch hier zu untersuchen (**Abb. 14**). Alle Oxepin-Derivate (**30**) wurden wie in **Abb. 15** [108], anlehnend an ein Patent von Kurokawa et al. [117], beschrieben synthetisiert.



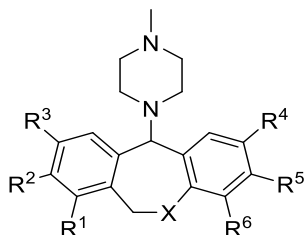
i: DMF, K₂CO₃, 24 h, RT; ii: CCl₄, AIBN, NBS, 3.5 h, Reflux; iii: NaOEt, 6.5 h, Reflux;
 iv: EtOH, Toluol, NaOH, 1 h, Reflux; v: SOCl₂, 1 h, Reflux; vi: Toluol, DCM, AlCl₃,
 15 min, 0 °C; vii: MeOH, NaBH₄, 1 h, RT; viii: DCM, SOCl₂, 1 h, RT; ix: CH₂Cl₂, 2 h, RT

Abbildung 15: Syntheschema der Chlor-substituierten Oxepin-Derivate [108, 117].

Im ersten Schritt wurde eine Veresterung der entsprechenden 2-Methylbenzoesäure mit Iodethan und Kaliumcarbonat als Base in DMF durchgeführt (**31a-d**). Nach Zugabe von NBS und AIBN als Radikalstarter wurden die bromierten Verbindungen erhalten (**32a-d**). Diese wurden zu einer ethanolischen NaOEt-Lösung gegeben (23% w/w), die zudem das entsprechende Phenol-Derivat in Ethanol enthielt. Es wurden die Verbindungen **33a-p** erhalten. Der im ersten Schritt als Schutzgruppe eingeführte Ester wurde unter basischen Bedingungen abgespalten, wodurch die Verbindungen **34a-p** erhalten wurden. Diese wurden durch Zugabe von Thionylchlorid in das entsprechende reaktive Säurechlorid umgewandelt. Der Ringschluss wurde mit Aluminiumchlorid in einer Friedel-Crafts-Alkylierung durchgeführt. Die erhaltenen Carbonyl-Verbindungen (**35a-p**) und das kommerziell erhältliche **35q** wurden mit Natriumborhydrid racemisch zum entsprechenden Alkohol reduziert (**36a-q**). Durch Zugabe von Thionylchlorid wurde der Alkohol in situ in das entsprechende Chlor-

Intermediat (**37a-q**) umgewandelt, welches mit *N*-Methylpiperazin zu den entsprechenden Verbindungen **38a-q** umgesetzt wurde (**Tabelle 2**) [108]. Die Synthese von **38a-g**, **h**, **i**, **k**, **l**, **n**, **o** und **q** wurde im Rahmen der Masterarbeit durchgeführt [118]. Die Verbindung **38e** [119] und die Zwischenstufen **35j** und **35p** wurden von J. Spindler synthetisiert.

Tabelle 2: Substitutionsmuster der Doxepin-Derivate.



R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X	Verbindung
H	H	H	H	H	H	O	38a
Cl	H	H	H	H	H	O	38b
H	Cl	H	H	H	H	O	38c
H	H	Cl	H	H	H	O	38d
H	H	H	Cl	H	H	O	38e
H	H	H	H	Cl	H	O	38f
H	H	H	H	H	Cl	O	38g
Cl	H	H	Cl	H	H	O	38h
Cl	H	H	H	Cl	H	O	38i
Cl	H	H	H	H	Cl	O	38j
H	Cl	H	Cl	H	H	O	38k
H	Cl	H	H	Cl	H	O	38l
H	Cl	H	H	H	Cl	O	38m
H	H	Cl	H	H	H	O	38n
H	H	Cl	H	Cl	H	O	38o
H	H	Cl	H	H	Cl	O	38p
H	H	H	H	H	H	CH ₂	38q

3.2 Racematspaltung von 38e

Alle Chlor-substituierten Doxepin-Derivate lagen auf Grund der gewählten Synthesemethode vermutlich racemisch vor. Für das Racemat **38e** wurde exemplarisch der Drehwinkel gemessen, hierbei konnte keine optische Drehung festgestellt werden. Auf Grund durchgeführter Docking-Studien [108] wurde prognostiziert, dass ein Unterschied in den Bindungsaffinitäten zwischen dem *R*- und dem *S*-Enantiomer bestehen könnte. Eine Möglichkeit größere Mengen enantiomerenreiner Verbindungen herzustellen, ist die fraktionierte Kristallisation diastereomerer Salze. Dabei macht man sich den Effekt zu Nutze, dass ein Enantiomer leichter auskristallisiert als das andere. Für Amine werden in der Literatur hierfür Mandelsäure- oder Weinsäure-Derivate eingesetzt [120, 121].

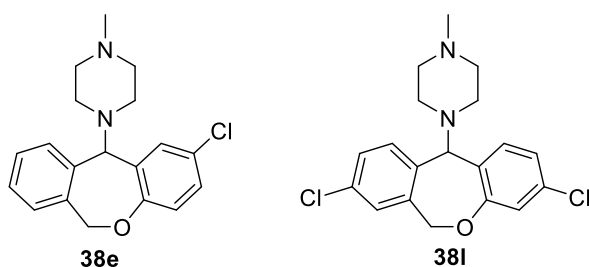
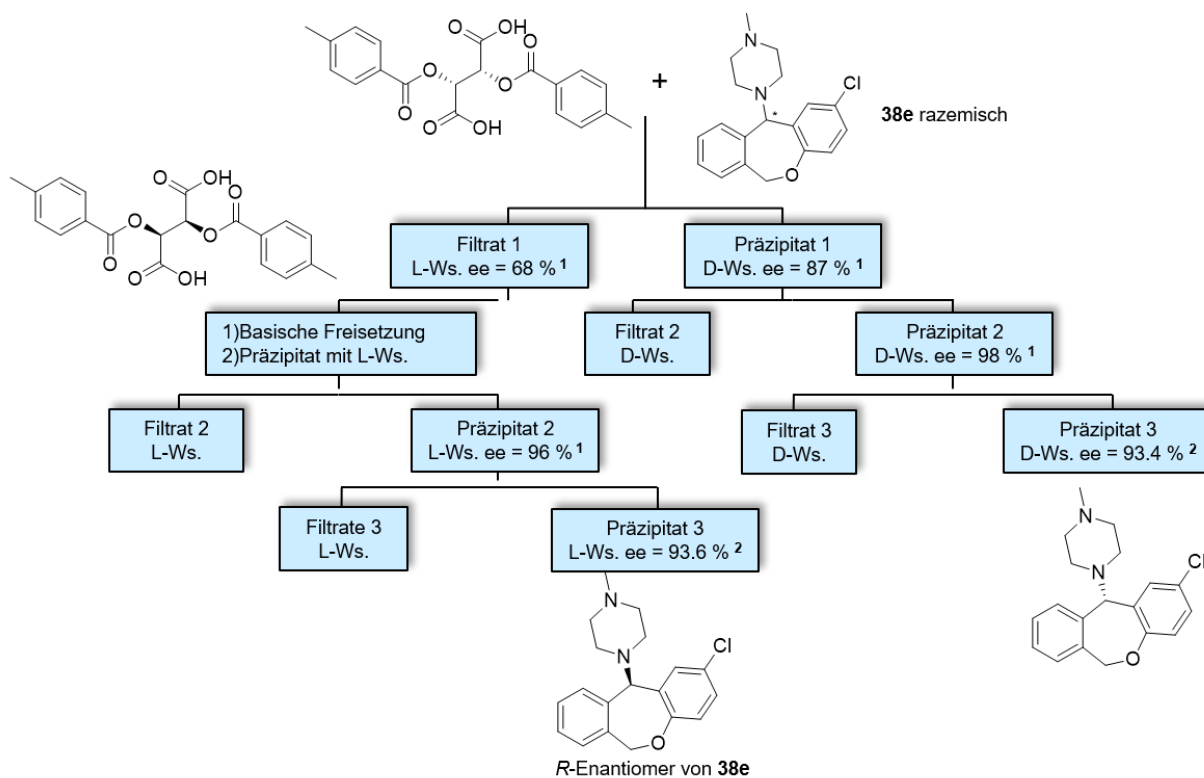


Abbildung 16: Racemische Verbindungen **38e** und **38l**.

Im Rahmen der Synthese für die Chlor-substituierte Substanzbibliothek stellte sich heraus, dass für **38e** (**Abb. 16**) eine gute Gesamtausbeute erzielt werden konnte. Daher wurde dieses für die fraktionierte Kristallisation ausgewählt. **38l** dagegen war das am hH₄R affinste Derivat aus dieser Reihe (**Kapitel 4**).

Das Racemat **38e** wurde durch Kristallisation mit (-)-*O*,*O'*-di-*p*-toluoyl-*L* bzw. (+)-*O*,*O'*-di-*p*-toluoyl-*D*-Weinsäure in die Enantiomere (***R***-**38e** und (***S***-**38e** getrennt (**Abb. 17**) [108]. Methanol erwies sich dabei als geeignetes Lösungsmittel. Nach der ersten Kristallisation konnte bereits ein Enantiomerenüberschuss von 87% im Präzipitat mit dem *D*-Weinsäure-Derivat erreicht werden. Dieser Wert wurde mittels ¹H-NMR-Spektroskopie bestimmt. Als Shift-Reagenz diente hierbei das chirale Weinsäure-Derivat selbst. Die freie Base wurde durch Zugabe von wässriger Ammoniaklösung und anschließender Extraktion erhalten. Das bestimmte Enantiomerenverhältnis konnte zudem überprüft werden, indem ein Spektrum mit dem basisch freigesetzten Enantiomer und dem Shift-Reagenz (*S*)-(+)-2,2,2-Trifluoro-1-(9-anthryl)ethanol aufgenommen wurde [122]. Nach zwei weiteren Kristallisationsschritten wurde das *S*-

Enantiomer mit 93.4% ee erhalten. Dieser Wert wurde durch CE mit γ -Cyclodextrin als Selektor bestimmt. Das *R*-Enantiomer wurde aus dem Filtrat der Präzipitation mit *D*-Weinsäure in 68% ee gewonnen. Aus diesem erfolgte die Aufreinigung in zwei weiteren Kristallisationsschritten mit dem entsprechenden *L*-Weinsäure-Derivat, was letztendlich zu dem *R*-Enantiomer mit 93.6% ee führte. Für das (*R*)-Enantiomer wurde ein spezifischer Drehwinkel von $[\alpha]_{D^{20}} = 200.2 \pm 0.38 \text{ } ^\circ \text{ ml}/(\text{g dm})$ und für das (*S*)-Enantiomer $[\alpha]_{D^{20}} = -181.1 \pm 0.29 \text{ } ^\circ \text{ ml}/(\text{g dm})$ gemessen, die Unterschiede basieren vermutlich auf Messungenauigkeiten. Die fraktionierte Kristallisation für das Chlor-Oxepin-Derivat **38I (Abb. 16)** [108] wurde ebenfalls versucht, da dieses am hH₄R das affinste Derivat aus dieser Reihe war (**Kapitel 4**). Diese schlug allerdings fehl.



¹Der Enantiomerenüberschuss wurde mittels ¹H-NMR- Spektroskopie bestimmt

²Der Enantiomerenüberschuss wurde mittels CE bestimmt

Abbildung 17: Enantiomerentrennung der racemischen Verbindung **38e**.

Durch die Bestimmung der Kristallstrukturen konnte den beiden Enantiomeren die absolute Konfiguration zugeordnet werden (Zentrale Analytik der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV. Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg). Dafür wird idealerweise ein Einkristall mit monochromatischer Röntgenstrahlung bestrahlt und anhand anomaler Dispersion kann die Struktur berechnet werden. Geeignete Kristalle für die Röntgendiffraktometrie konnten aus den

Salzen der Weinsäure-Derivate gewonnen werden, daher wurde die Analyse an diesen durchgeführt (**Abb. 18**). An Hand der Röntgenstrukturen konnte gezeigt werden, dass das *R*-Enantiomer ein Präzipitat bevorzugt mit der (-)-*O,O'*-di-*p*-toluoyl-*L*-weinsäure bildete, das *S*-Enantiomer mit der (+)-*O,O'*-di-*p*-toluoyl-*D*-Weinsäure.

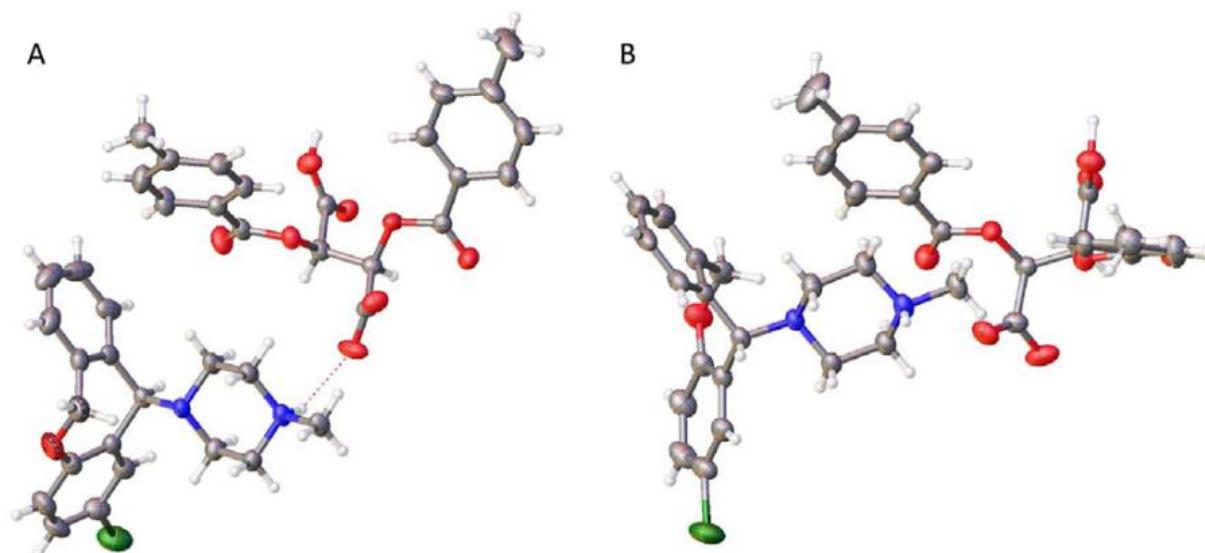


Abbildung 18: Kristallstrukturen von (A) (***R***)-**38e**, auskristallisiert mit (-)-*O,O'*-Di-*p*-toluoyl-*L*-Weinsäure und (B) (***S***)-**38e**, auskristallisiert mit (+)-*O,O'*-Di-*p*-toluoyl-*D*-weinsäure [108] (Kohlenstoffatome: grau, Wasserstoffatome: weiß, Stickstoffatome: blau, Sauerstoffatome: rot, Chloratome: grün).

3.3 Variation der basischen Amine am Doxepin-Grundgerüst

Eine weitere Substanzbibliothek wurde synthetisiert, in der der Trizyklus konstant gehalten wurde und die basischen Substituenten am zentralen Ring modifiziert wurden (**Abb. 19**).

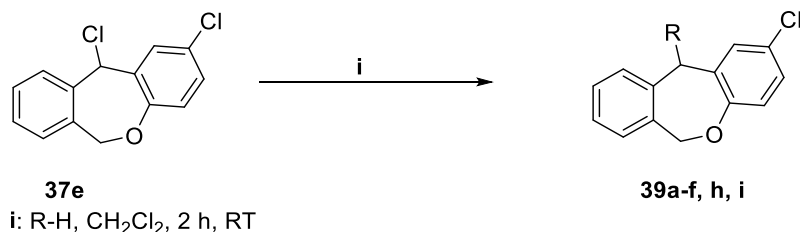
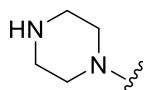
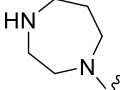
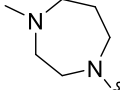
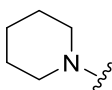


Abbildung 19: Syntheschema für die Verbindungen **39a-f, h** und **i**.

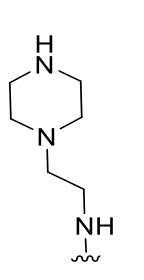
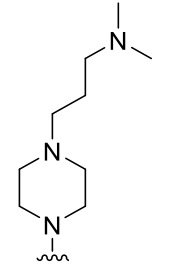
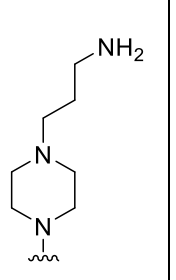
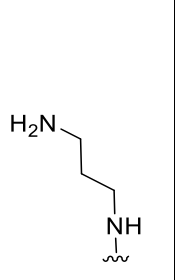
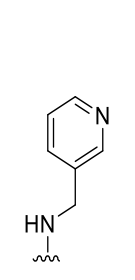
Da, wie bereits oben erwähnt, die Synthese für **38e** (**Abb. 16**) im Vergleich zu den anderen Derivaten die höchsten Ausbeuten liefert, wurde dieses Chlor-Substitutionsmuster für die folgende Studie ausgewählt. Die Synthese erfolgte nach demselben Schema wie für die Chlor-Oxepin-Derivate (**Abb. 15**) [108, 117].

Tabelle 3: Variation der Piperazin-Einheit bezüglich Ringgröße, Methylierung und Austausch des Piperazin-Rings gegen einen Piperidin-Ring.

R				
Verbindung	39a	39b	39c	39d [123]

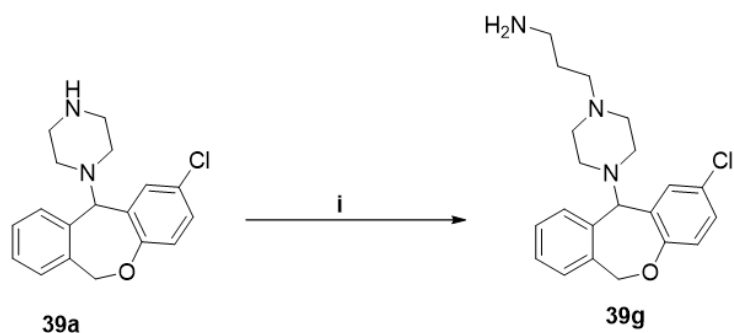
Zunächst wurde ein Piperazin-Ring (**39a**) dem bereits untersuchten Methylpiperazin in **38e** gegenübergestellt, des Weiteren wurde dieser durch einen Homopiperazin-Ring (**39b**) bzw. einen *N*-Methylhomopiperazin-Ring (**39c**) ersetzt. Um die zentrale Bedeutung des basischen Stickstoff in 4-Position für die Rezeptoraffinität zu untermauern, wurde außerdem ein Derivat hergestellt, dem mit dem Piperidin-Ring genau dieses fehlte (**39d**) (**Tabelle 3**).

Tabelle 4: Weitere Variationen des basischen Strukturelements.

R					
Verbindung	39e	39f	39g	39h	39i

Während bei allen bisher synthetisierten Verbindungen der Piperazin- bzw. Homopiperazin-Ring direkt mit der aromatischen Doxepin-Struktur verbunden war, sollte mit **39e (Tabelle 4)** ein Molekül hergestellt werden, das einen Linker zwischen den beiden Strukturelementen besaß, da Studien gezeigt haben, dass ein größerer Abstand zu einer erhöhten Affinität am hH₄R führen kann [109]. Hierfür wurde das Zwischenprodukt **37e** mit 1-(2-Aminoethyl)piperazin umgesetzt. Die Analytik der entstandenen Verbindung zeigte jedoch, dass das Zwischenprodukt **37e** sowohl mit dem aliphatischen Amin als auch mit dem sekundären Amin reagiert hatte. Über Säulenchromatographie waren die beiden Verbindungen nicht zu trennen, da sie trotz Variation des Laufmittels den gleichen R_f-Wert aufwiesen. Daher wurde das Produktgemisch mit Phtalsäureanhydrid versetzt, welches nur mit dem primären Amin reagieren konnte. Der R_f-Wert dieser Verbindung lag in einem Laufmittelgemisch DCM/7 M NH₃ in MeOH (10/1 v/v) nahe bei 1, der R_f-Wert der ungeschützten Verbindung lag bei 0.25. Dadurch stellte die chromatographische Trennung keine Schwierigkeit mehr dar und die Verbindung **39e** konnte erhalten werden. Das Ergebnis wurde durch 2-D-NMR-Spektroskopie validiert (**Kapitel 6**). Für zukünftige Synthesen dieser Art wäre es demnach zielführend, bereits das Edukt selektiv zu schützen.

Mit den Verbindungen **39f** und **39g** wurden zwei Derivate hergestellt, die zusätzlich zum Piperazin-Ring ein tertiäres bzw. primäres Amin, das über einen Linker mit dem Piperazin-Ring verbunden war, aufwiesen. **39f** wurde hierbei mit 1-(3-Dimethylamino)propylpiperazin hergestellt. Die Verbindung **39g** wurde erhalten, indem **39a** mit 3-Bromopropylaminhydrobromid umgesetzt wurde (**Abb. 20**).



i: 3-Bromopropylaminhydrobromid, DIPEA, NaI, CHCl_3 , 2h, Reflux

Abbildung 20: Darstellung von **39g**.

Inwiefern der starre Piperazin-Ring einen Beitrag zur Rezeptoraffinität liefert, sollte die Verbindung **39h** aufklären. Dieser Verbindung fehlte der Piperazin-Baustein, stattdessen wurde Diaminopropan direkt mit **37a** umgesetzt. Die letzte Verbindung dieser Substanzbibliothek **39i** unterschied sich wesentlich von allen anderen, hier wurde der Piperazin-Ring bei der Umsetzung von **37a** mit 3-Picolylamin durch einen Aromaten ersetzt.

3.4 Homodimere Doxepin-verwandte Liganden

Sowohl für den hH₁- als auch für den hH₄-Rezeptor wurde bei einem physiologischen Expressionslevel die Oligomerisierung von Rezeptoren nachgewiesen [33, 124]. Die Existenz von Oligomeren ist für alle GPCRs der Klasse A bekannt [125, 126]. Darüber hinaus wurde die Entdeckung von hH₁R/hH₄R-Heterooligomeren im Jahr 2006 von Rijn et al. publiziert, allerdings bei einem hohen Expressionslevel des hH₁R, weshalb dabei nicht von physiologischer Relevanz ausgegangen werden darf [33]. Zudem gibt es Vermutungen, dass alle GPCRs zusätzliche allosterische Bindungsstellen besitzen [44]. Für verschiedene GPCRs wurden bereits sowohl homo- als auch heterodimere Liganden veröffentlicht (z.B. Histamin H₂ [127-129], Serotonin 5-HT_{1B} und 5-HT_{1D} [130], Dopamin D₂ und -D₃ [131, 132], Adenosin A_{2A} [133]).

Im Vergleich zu monomeren Liganden konnten McRobb et al. beispielsweise für homobivalente Liganden am D₂R eine höhere Affinität im Vergleich zu Monomeren nachweisen [134]. Dafür gibt es drei mögliche Erklärungen: Da durch die Bindung von einem der Pharmakophor-Bestandteile sich der zweite, ungebundene Teil bereits in unmittelbarer Nähe zur nächsten Bindungsstelle befindet, ist die lokale Konzentration des zweiten Pharmakophors erhöht. Die zweite Möglichkeit ist, dass das eine Pharmakophor an die orthosterische Bindungsstelle bindet, während das andere Pharmakophor eine allosterische Bindungsstelle am selben Rezeptor adressiert [135]. Als dritte Möglichkeit wurde beispielsweise für den Dopaminrezeptor nachgewiesen, dass durch die Interaktion des Pharmakophors mit dem Rezeptor eine Konformationsänderung innerhalb der beiden Protomere eintritt, wodurch thermodynamisch eine weitere Ligandbindung induziert wird [131].

Bevorzugt werden Pharmakophore über Amino- und Carboxylgruppen miteinander verknüpft [136, 137]. Die Spacer-Länge der bivalenten GPCR-Liganden ist dabei essenziell. Ein kurzer Linker würde auf zwei Bindungsstellen am selben Rezeptor abzielen, wohingegen längere Linker Bindungsstellen zweier verschiedener Oligomere adressieren würden. Die optimale Länge hängt auch von der Dimer-Grenzfläche, der Struktur der Pharmakophore sowie der Position und Richtung der Verlinkungspunkte ab [138]. In zahlreichen Studien wurde bei Oligomeren für homobivalente Liganden die Korrelation zwischen Spacer-Länge und optimalem Abstand zwischen zwei Pharmakophoren bestimmt. Für Liganden des μ -OR beispielsweise, basierend auf der Struktur von Oxymorphan, beträgt diese 18 Atome, was einer Länge von 20 Å

entspricht [139]. Weitere Untersuchungen des Opioidrezeptors bestätigten eine optimale Länge von 18-25 Atomen [40, 140-143]. Zur Untersuchung der Dopaminrezeptor-Dimerisierung haben McRobb et al. kürzlich unter Verwendung von Clozapin als monomere Einheiten, die an der Piperazin-Stickstoff-Position verknüpft wurden, bei Dimeren mit Spacerlängen von 16 und 18 Atomen signifikant erhöhte Affinitäten im Vergleich zum Monomer beobachten können [134]. Von Gobleler wurden bereits verschiedene dimere Liganden synthetisiert, die aus Dibenzo[*b,f*][1,4]oxazepin-Monomeren bestanden und entweder über die Piperazin-Einheit oder über eine NH₂-Gruppe in 3-Position am Oxazepin-Ring verknüpft wurden [111]. Aus den erhobenen Daten dieser Verbindungen ließ sich jedoch kein konkreter Hinweis für eine zusätzliche Bindungsstelle an der extrazellulären Oberfläche von hH₁R oder hH₄R finden.

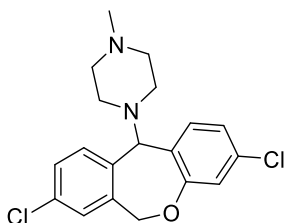


Abbildung 21: Monomere Verbindung **38I**.

Parallel zu der Arbeit von Wan mit Diphenhydramin-, Pyrilamin- bzw. Quinazolin-Monomeren [109] wurden drei dimere Verbindungen, abgeleitet von der am hH₄R affinsten Verbindung **38I (Abb. 21)**, synthetisiert. Als Linkerlängen wurden 14, 16 und 18 Atome gewählt. Analog der dimeren Clozapin-Verbindungen von McRobb et al. wurden auch hier Säurechloride zur Verknüpfung verwendet [134]. Die resultierenden Verbindungen sollten Werkzeuge sein, um Wechselwirkungen mit dem H₁R und dem H₄R auf molekularer Ebene zu untersuchen und mögliche zusätzliche Bindungsstellen des H₁R bzw. H₄R zu identifizieren.

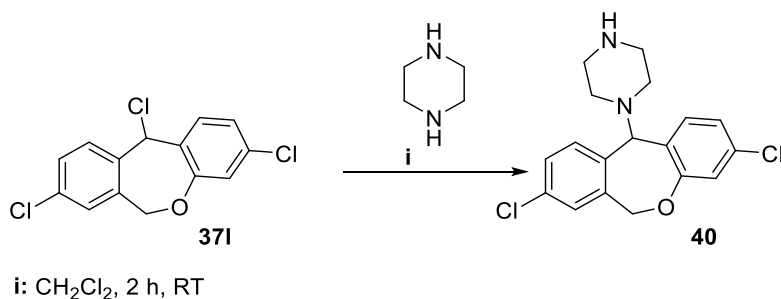
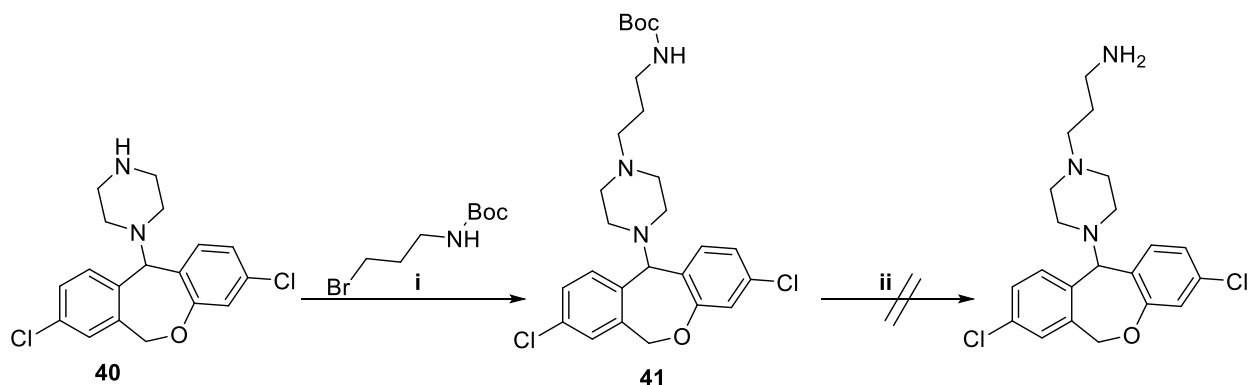


Abbildung 22: Darstellung der monomeren Ausgangsverbindung **40**.

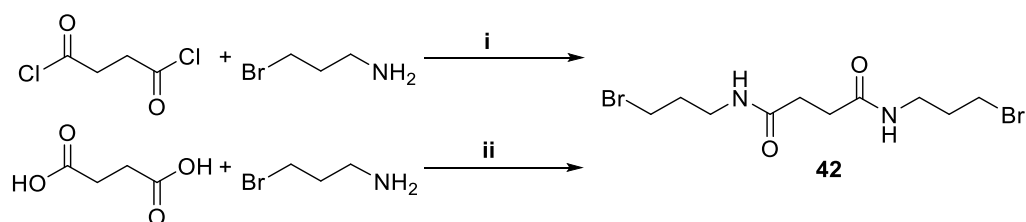
An Stelle des Methylpiperazins wie in **38I** (**Abb. 21**) wurde mit **40** ein Derivat mit Piperazin aus **37I** hergestellt, wodurch am Piperazin-Stickstoff die Möglichkeit geschaffen wurde, zwei Monomere zu verknüpfen (**Abb. 22**).



i: NaI, DIPEA, CH₂Cl₂, 2 h, Reflux, ii: saure Bedingungen

Abbildung 23: Umsetzung von **40** mit Boc-geschütztem Bromopropylamin zur Verbindung **41**. Die Boc-Schutzgruppen-Abspaltung unter sauren Bedingungen ist nicht durchführbar.

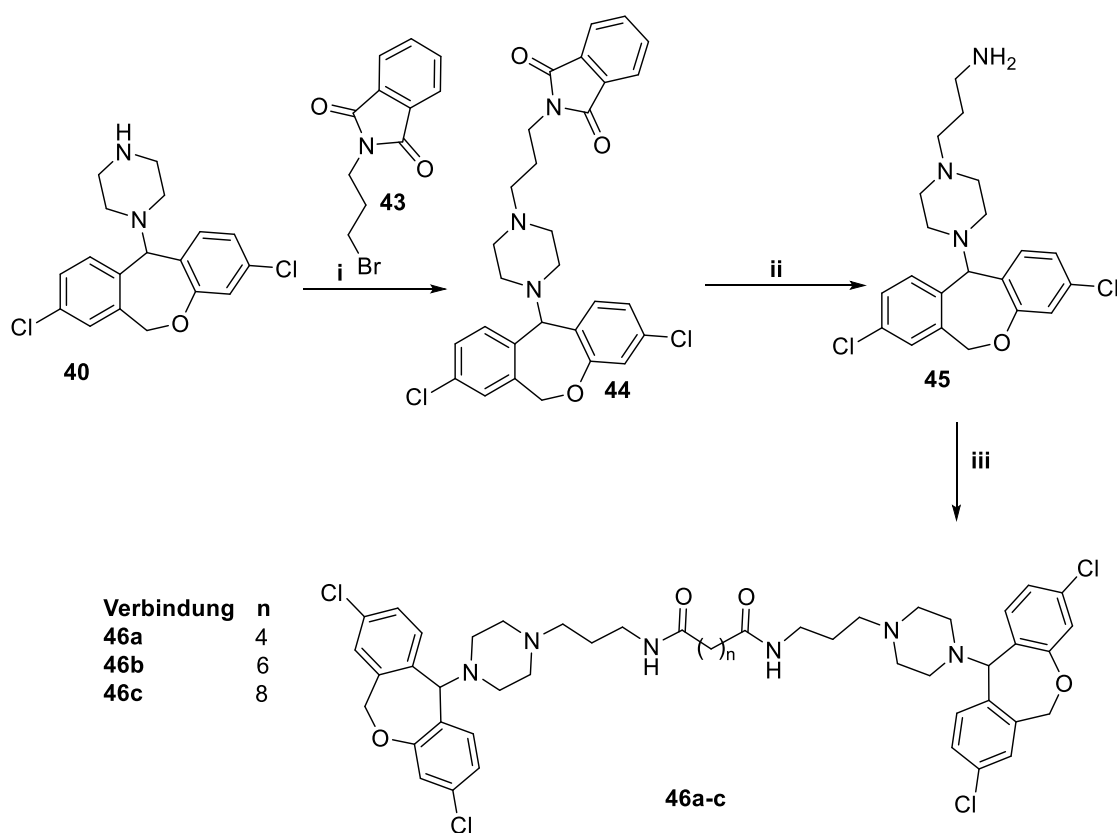
Analog zu der Syntheseroute von McRobb et al. wurde dieses im nächsten Schritt mit dem an der Aminfunktion Boc-geschützten Bromopropylamin zu **41** umgesetzt (**Abb. 23**) [134]. Die Amin-Schutzgruppe ist notwendig, um zu verhindern, dass ein Produktgemisch entsteht, indem zusätzlich zur erwünschten Reaktion ein bereits umgesetztes Produkt nochmals mit Bromopropylamin reagiert, oder Bromopropylamin mit einem weiteren Bromopropylamin als Reaktionspartner eine Reaktion eingeht. Die Entschützung stellte jedoch ein Problem dar, da diese bei Boc-Gruppen unter sauren Bedingungen abläuft. Das zentrale Ringsystem mit dem Sauerstoff stellte sich jedoch als säurelabil heraus (**Abb. 23**). Daher wurde das Amin stattdessen mit einer Cbz-Schutzgruppe geschützt und mit **40** umgesetzt [144]. Die Entschützung hierbei ist in der Literatur mit Pd/C beschrieben, doch auch bei Reaktionszeiterhöhung von 5 h auf 24 h und unter Erhöhung des H₂-Drucks im Autoklaven von 5 auf 40 bar erwies sich die Verbindung als äußerst stabil und die Schutzgruppe ließ sich nicht wieder entfernen.



i: TEA, DCM, 4 h, 4°C; ii: HBTU, DIPEA, DCM, über Nacht, RT

Abbildung 24: Geplante Synthese der Linker.

Auf Grund dieser Probleme wurde die Syntheseroute dahingehend verändert, dass der Linker zuerst synthetisiert werden sollte (**Abb. 24**). 3-Bromopropylaminhydrobromid sollte mit Succinylchlorid in einer Testreaktion, die als Vorbild für nachfolgende Linkersynthesen dienen sollte, zu **42** umgesetzt werden. Mehrere Versuchsvorschriften wurden hierbei herangezogen, wobei sowohl TEA [145], als auch Natriumcarbonat [146] als Base in DCM, als auch TEA in THF untersucht wurden. In allen Fällen entstand jedoch ein Produktgemisch, das sich säulenchromatographisch nicht aufreinigen ließ. Ebenso ergaben sich Produktgemische beim Umsatz verschiedener Dicarbonsäuren (Bernsteinsäure, Adipinsäure, Sebacinsäure) mit dem Amin HBTU als Kopplungsreagenz und DIPEA als Base in DCM.



i: DIPEA, NaI, MeCN, 2 h, Reflux; ii: $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Ethanol, 30 min, RT, iii: Disäurechlorid, TEA, THF, 2 h, RT

Abbildung 25: Synthese der homodimeren Liganden **46a-c**.

Daher wurde stattdessen zu der ursprünglichen Syntheseroute (**Abb. 25**) zurückgekehrt, die Schutzgruppe allerdings nochmals variiert. Mit Phtalsäureanhydrid wurde das gut aufzureinigende Amid **43** erhalten [147]. Dieses wurde mit **40** zu **44** [148] umgesetzt, von dem mit Hydrazin in der Reaktion zu **45** [149] die Schutzgruppe wieder abspaltbar war. Das so mit einer aliphatischen Propylaminkette verlängerte

Monomer konnte im nächsten Schritt mit drei verschiedenen langen Disäurechloriden zu drei verschiedenen homodimeren Liganden umgesetzt werden (**46a-c, Abb. 25**) [134].

3.5 Imidazol-Dibenzosuberone-Liganden

Die Einführung von Imidazol in die Ligandstruktur (z.B. in der Form von Histamin oder Homohistamin) steigerte die Affinität der von Wan synthetisierten Quinazolin- und Benzimidazol-Liganden am hH₄R. Dadurch wurde eine Substanzbibliothek erhalten, bei der einige Verbindungen eine ausgeglichene Affinität zwischen hH₁R und hH₄R aufwiesen [109]. Dieser Ansatz wurde für die 6,11-Dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-Derivate aufgegriffen. Da der Sauerstoff im zentralen Oxepin-Ring Syntheseprobleme mit sich brachte, das Carbo-Analogon vergleichbare p*K*_r-Werte lieferte [108] und Dibenzosuberone im Gegensatz zu dem Chlor-Dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-Derivat kommerziell zu erhalten ist, wurde Dibenzosuberone als Ausgangsstoff für nachfolgende Synthesen gewählt.

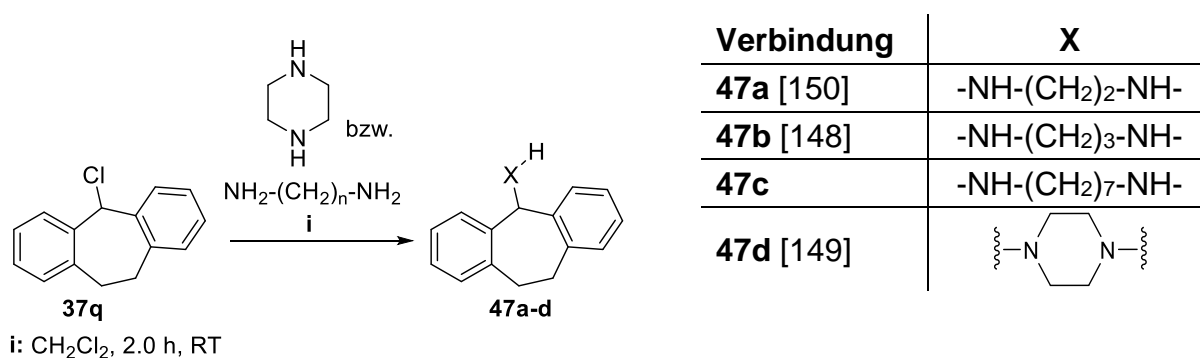
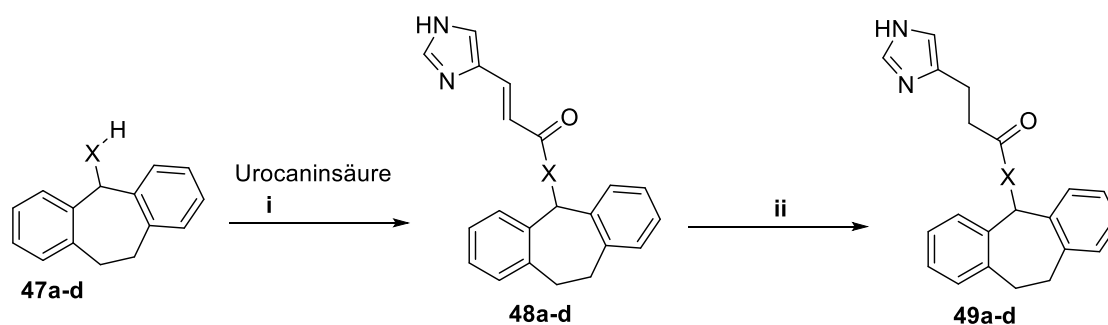
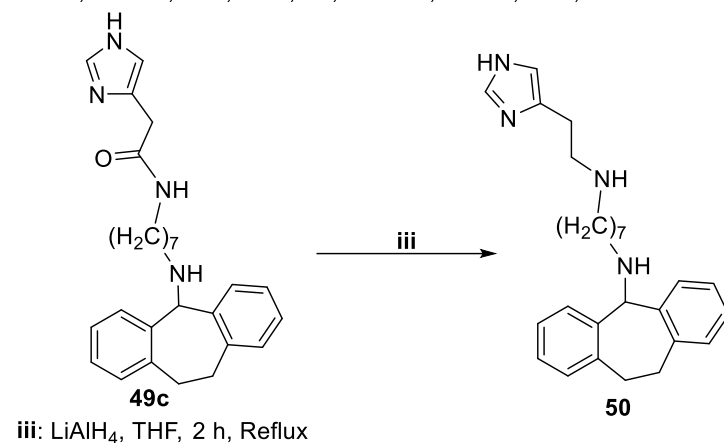


Abbildung 26: Synthese der Diamine **47a-d** ausgehend von der Zwischenstufe **37q**.

Dieses wurde zunächst wie bereits in der Synthese zum Piperazin-Derivat beschrieben, in die reaktive Zwischenstufe **37q** umgewandelt und vier unterschiedliche Amine wurden hergestellt (**Abb. 26**).



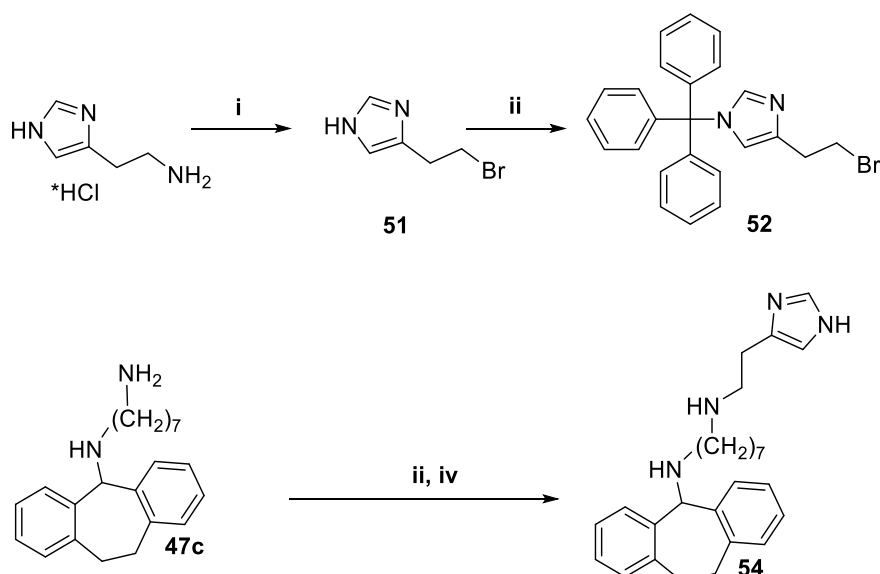
i: BOP, DIPEA, THF, 24 h, RT; ii: Pd/C, MeOH, 19 h, RT



iii: LiAlH₄, THF, 2 h, Reflux

Abbildung 27: Synthese der Verbindungen **48a-d**, **49a-d** und **50**.

Analog einer Syntheseroute von Wan [109] wurden diese Diamine **47a-d** mit Urocaninsäure umgesetzt und ergaben die entsprechenden Amid-Verbindungen. Als Kopplungsreagenz wurde BOP verwendet. Die erhaltenen Verbindungen **48a-d** wurden pharmakologisch getestet. Zudem wurde aus diesen Verbindungen durch Reduktion an Pd/C mit H₂ (aus Ammoniumformiat in situ gewonnen) die Verbindungen **49a-d** hergestellt, die ebenso pharmakologisch untersucht wurden (**Abb. 27**). Der letzte geplante Syntheseschritt, in dem die Reduktion des Amids durchgeführt werden sollte, verlief mit äußerst schlechten Ausbeuten. Lediglich für **50** konnte eine Aufreinigung durchgeführt werden, die allerdings zu so wenig Substanz führte, dass keine komplette Analytik möglich war. In den Massenspektren der anderen Reaktionsansätze war minimal das gebildete Produkt nachweisbar. Auch eine direkte Reduktion der Verbindungen **48a-d** funktionierte nicht.



i: KBr, H_2SO_4 , NaNO_2 , 30 min, -15°C

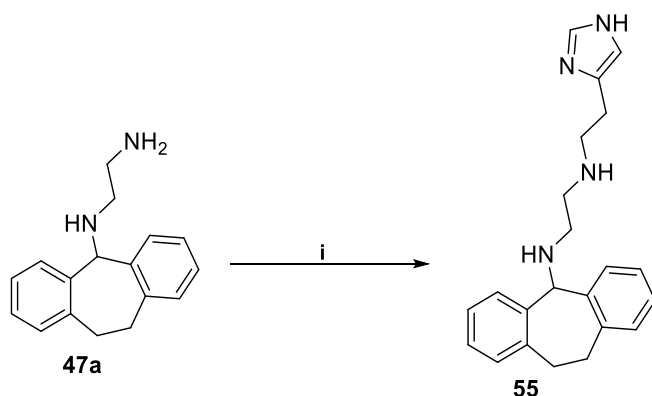
ii: TEA, Ph_3CCl , DMF, über Nacht, RT

iii: 4-(2-Bromoethyl)-1-trityl-imidazol **52**, NaI, DIPEA, ACN, 48 h, Reflux

iv: TFA, DCM, 3 h, RT

Abbildung 28: Synthese der Verbindung **54** [109].

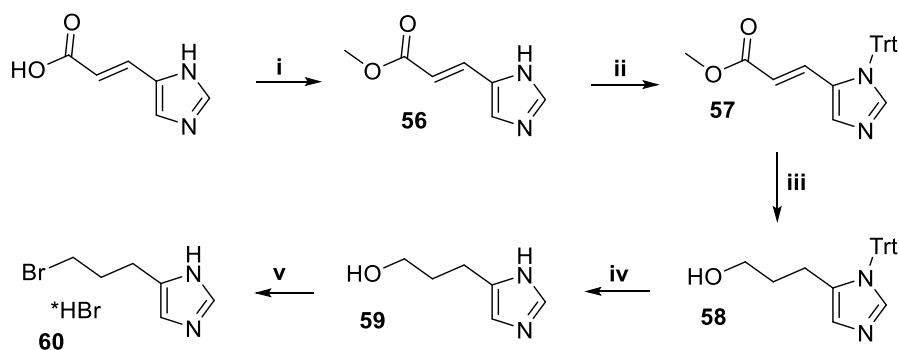
Da dieser Syntheseweg sich für aliphatisch verknüpfte Imidazole als ungünstig herausstellte, wurde ausgehend von Histamin das Bromoethylimidazol **51** hergestellt, welches nach Tritylschätzung der Aminfunktion (**52**) [109], um Produktgemische zu vermeiden, mit den Diaminen **47a-d** umgesetzt wurde. Die Entschätzung mit TFA verlief jedoch äußerst ungünstig, auch ein Wechsel auf HCl, HBr oder Pd/C lieferte keinen Erfolg [151]. So konnte mit **54** nur eine der entschützten Verbindungen letztendlich isoliert werden (**Abb. 28**). Nach weiteren Nachforschungen zu der Ursache dafür stellte sich heraus, dass in allen Fällen der Trizyklus abgespalten worden war. Eben dieser Trizyklus wird im Buch „Greene’s protective groups“ [151] als Aminschutzgruppe beschrieben, die sowohl sauer, als auch mit Reduktionsmitteln abspaltbar ist.



i: **51**, K_2CO_3 , EtOH, 48 h, 40°C

Abbildung 29: Synthese der Verbindung **55**.

Aus dieser Erkenntnis heraus wurden sowohl für die Synthese mit Histamin als auch für die Synthese mit Urocaninsäure Alternativen gesucht, die sowohl saure als auch reduktive Bedingungen umgingen. Für die Histamin-Derivate wurde das Diamin direkt mit Bromoethylimidazol (**51**) umgesetzt. Hierbei stellte die Ausbeute der Synthesen ein Problem dar. Bei Verbindung **55** konnte die erhaltene Endstufe aufgereinigt werden (**Abb. 29**).



i: $SOCl_2$, MeOH, 16 h, Reflux; ii: TEA, Trt-Cl, THF, 16 h, RT; iii: $LiAlH_4$, THF, 6h, Reflux
iv: 1N HCl, 5 h, Reflux; v: HBr (48%), über Nacht, Reflux

Abbildung 30: Synthese der Verbindung **60** [152].

Für die Synthese der Derivate mit Urocaninsäure wurde eine Syntheseroute von Kitbunnadaj et al. herangezogen [152]. Dabei wurde die Säurefunktion der Urocaninsäure mit Methanol verestert (**56**), die Aminfunktion Trityl-geschützt (**57**). Nach der Schützung der funktionellen Gruppen erfolgte die Reduktion mit $LiAlH_4$ (**58**). Nach der sauren Abspaltung der Schutzgruppen wurde der erhaltene Alkohol **59** im letzten Schritt mit HBr in das reaktive Bromid **60** überführt (**Abb. 30**) [153].

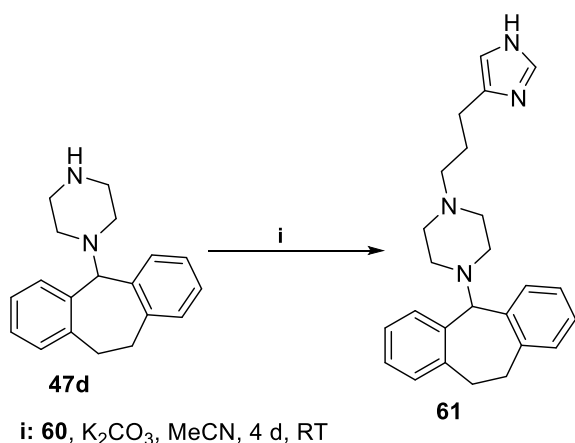


Abbildung 31: Synthese der Verbindung **61** [154].

Dieses wurde direkt mit dem Diamin **47d** umgesetzt. Die Synthese lieferte allerdings ebenso geringe Ausbeuten und nur die Verbindung **61** konnte erhalten werden (**Abb. 31**).

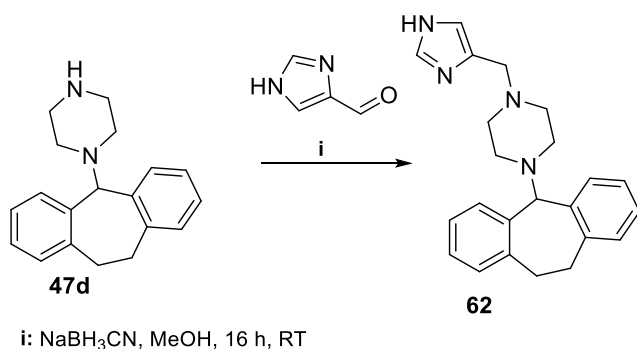


Abbildung 32: Reduktive Aminierung zur Darstellung der Verbindung **62** [155].

Eine Möglichkeit, einen Imidazol-Ring mit einem besonders kurzen Linker an einen Piperazin-Ring zu koppeln, besteht in der reduktiven Aminierung mit 1H-Imidazol-4-carboxaldehyd und $NaBH_3CN$ [155]. Dadurch konnte die Verbindung **62** dargestellt werden (**Abb. 32**).

3.6 Carbazol-Liganden

In einem groß-angelegten Scaffold-Screening zur Identifizierung neuer H₄R-Liganden wurden molekulardynamische Simulationen basierend auf Homologiemodellen verwendet. Der Erfolg dieser Methode konnte dadurch bestätigt werden, dass auch eine Reihe bereits bekannter hH₄-Liganden dabei als affin bewertet wurden. Die zwei Carbazol-Derivate **63** und **64** wurden dabei als vielversprechende Pharmakophore beschrieben (**Abb. 33**) [113].

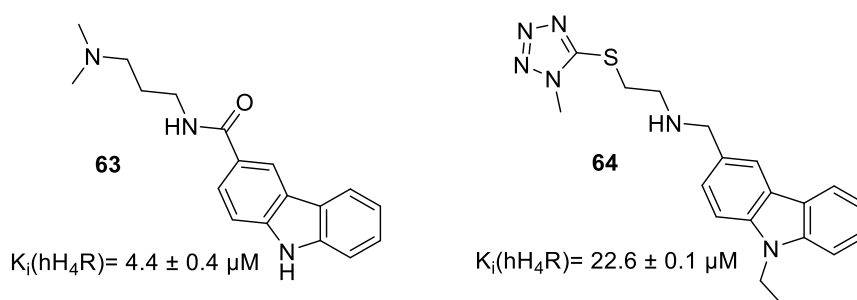


Abbildung 33: H₄-Hits **63** und **64**, identifiziert durch strukturbasiertes virtuelles Screening [113].

Ausgehend von dieser Studie wurde als zentraler Ring das unsubstituierte Carbazol gewählt, um zunächst untersuchen zu können, inwieweit dieser Trizyklus in die Bindungstasche am H₁R und H₄R passt. Dabei wurde ein Methylpiperazin-Carbazol-Derivat hergestellt. Des Weiteren entstanden zwei Derivate, die zusätzlich mit einem Imidazol-Ring gekoppelt wurde. Zudem wurde ein alternativer Verknüpfungspunkt an einem der seitlichen aromatischen Ringe untersucht. Die Synthesen sind im Folgenden beschrieben:

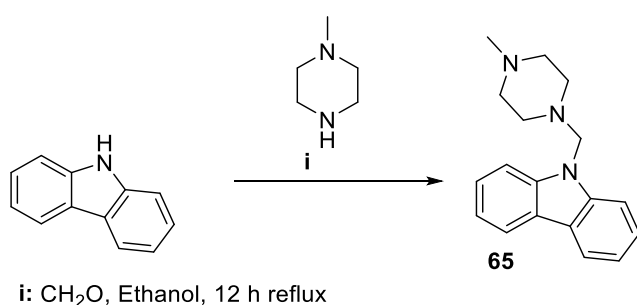
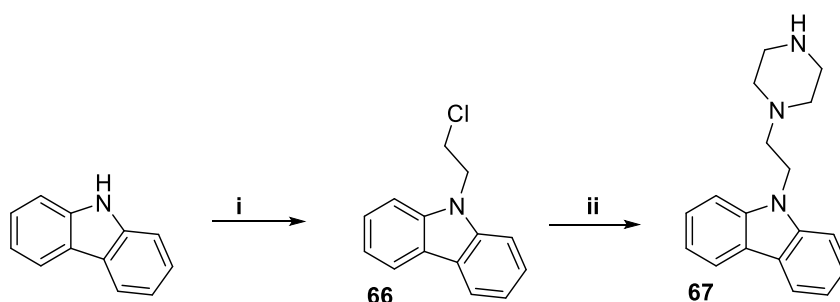


Abbildung 34: Reduktive Aminierung zur Darstellung der Verbindung **65** [156].

Methylpiperazin konnte in einer reduktiven Aminierung mit Formaldehyd an den Stickstoff im zentralen Ring des Carbazols über eine Methylgruppe verknüpft werden (**65**, **Abb. 34**) [156].

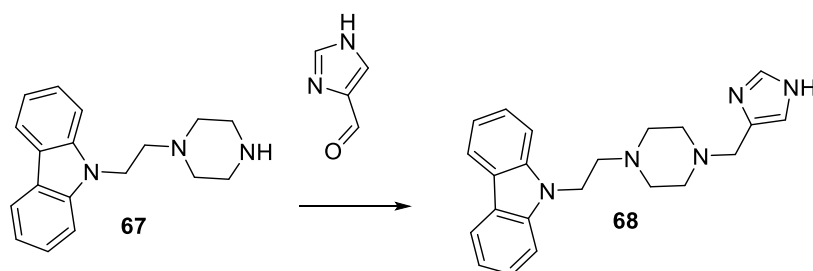


i: TBAB, KOH, K₂CO₃, 1-Brom-2-chlorethan, Benzol, 5 h, 60°C

ii: Piperazin, DIPEA, MeCN, 10 min, Mikrowelle, 120°C

Abbildung 35: Synthese der Verbindung **67** [158].

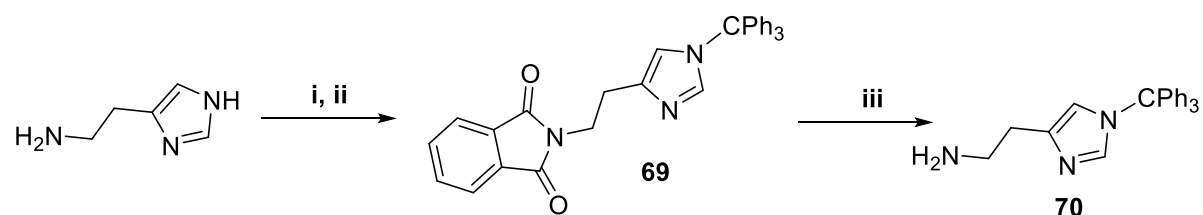
Für die erste Imidazol-Piperazin-Verbindung wurde Carbazol analog einer Versuchsvorschrift von Pieroni et al. [157] mit 1-Brom-2-chlorethan und Tetrabutylammoniumbromid als Phasentransferkatalysator zu **66** umgesetzt. In einer Mikrowellen-Reaktion reagierte **66** mit Piperazin zu **67** (**Abb. 35**).



i: NaBH₃CN, MgSO₄, MeOH, 20 h, RT

Abbildung 36: Reduktive Aminierung von **67** zu **68**.

Das erhaltene Molekül wurde analog zu der Reaktion zu **62** in einer reduktiven Aminierung [155] zur Verbindung **68** umgesetzt (**Abb. 36**).



i: Ethylphtalimid-*N*-carboxylat, Natriumcarbonat, Wasser, über Nacht, RT,

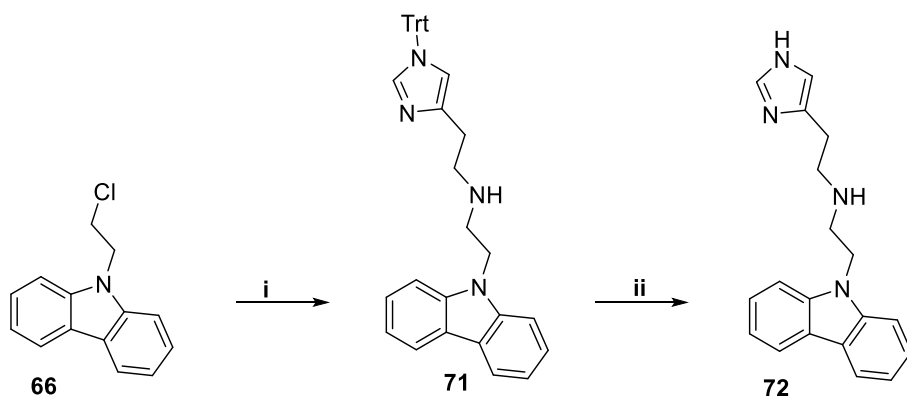
ii: Ph₃CCl, TEA, DMF, über Nacht, RT

iii: Hydrazinhydrat, EtOH, 2h, RT

Abbildung 37: Selektive Schützung des Stickstoffs im Imidazol-Ring bei **70** [109].

Für das zweite hergestellte Imidazol-Piperazin-verknüpfte Carbazol wurde eine von Wan etablierte Synthese verwendet [109]. Am Amin im Imidazol-Ring von Histamin wurde dafür in mehreren Syntheseschritten selektiv eine Schutzgruppe eingeführt. Dazu wurde dieses zunächst mit Ethylphtalimid-*N*-carboxylat am aliphatischen Amin

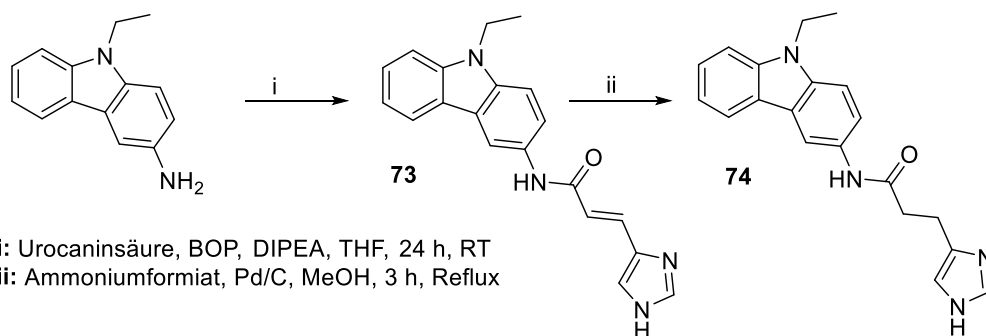
geschützt, anschließend mit Ph_3CCl am Imidazol-ständigen Amin (**69**). Die Entschützung des aliphatischen Amins erfolgte mit Hydrazin (**70**) (**Abb. 37**).



i: **70**, DMF, 10 min, Mikrowelle, 160 °C
ii: THF, TFA, 2 h, RT

Abbildung 38: Synthese von **72** [109].

Dieses wurde in der Mikrowelle mit **66** zu Verbindung **71** umgesetzt, nach Abspaltung der Tritylschutzgruppe wurde **72** erhalten (**Abb. 38**) [109].



i: Urocaninsäure, BOP, DIPEA, THF, 24 h, RT
ii: Ammoniumformiat, Pd/C, MeOH, 3 h, Reflux

Abbildung 39: Synthese von **74**.

Für die Verknüpfung eines Imidazol-Rings an einem der seitlichen Aromaten wurde 3-Amino-9-ethylcarbazol als Edukt gewählt. In einer Synthese analog zu **48a-d** wurde dieses durch das Kopplungsreagenz BOP mit Urocaninsäure zu **73** umgesetzt. Die Reduktion der Doppelbindung erfolgte mit in situ gewonnenem H_2 aus Ammoniumformiat und Pd/C zu **74** (**Abb. 39**). Eine weitere Reduktion der Amidfunktion mit LiAlH_4 gelang nicht.

3.7 Alcaftadin-Derivate

Es wurde gezeigt, dass Alcaftadin (**75**, **Abb. 40**) sowohl für den Histamin-H₁- als auch für den H₂-Rezeptor ein hochaffiner Ligand ist und in funktionellen Assays auch am H₄-Rezeptor antagonistisches Verhalten zeigt, wohingegen es keine Affinität am H₃-Rezeptor aufweist ($pK_i(\text{hH}_1\text{R}) = 8.5$, $pK_i(\text{hH}_2\text{R}) = 7.2$, $pK_i(\text{hH}_3\text{R}) = <5$, $pK_i(\text{hH}_4\text{R}) = 5.8$) [114]. Keine andere bisher charakterisierte Antihistamin-Verbindung weist diese Kombination von Affinitäten auf.

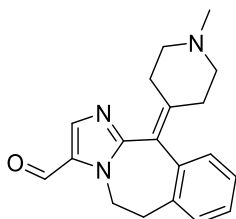


Abbildung 40: Strukturformel von Alcaftadin, **75**.

Ein Alleinstellungsmerkmal des Alcaftadins ist, dass es weit weniger als „dirty drug“ fungiert als bislang bekannte duale H₁/H₄-Liganden [159]. Die einzigen signifikanten Bindungsaktivitäten an anderen GPCRs, die in weiteren Studien von Gallois-Bernos et al. nachgewiesen wurden, betrafen die 5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C}-Rezeptoren mit pK_i -Werten von 5.6 bzw. 5.7. Eine schwache Affinität wurde für α_1 -adrenerge Rezeptoren, 5-HT_{1A}-Rezeptoren, Melanocortin-MC₄-Rezeptoren und muskarinische cholinerge Rezeptoren festgestellt [114].

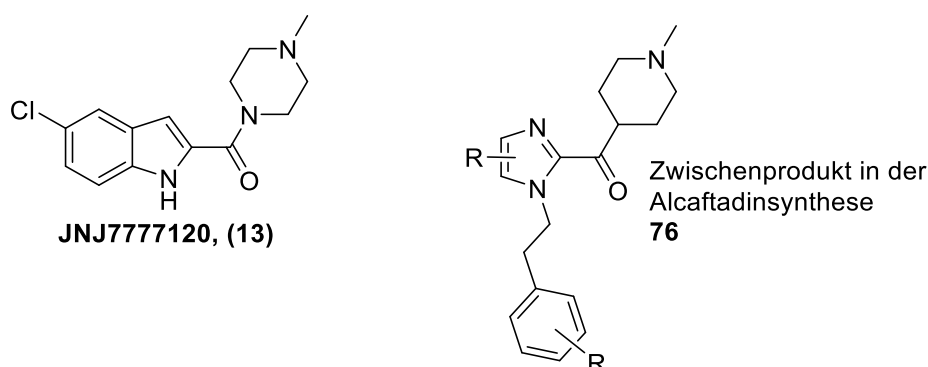
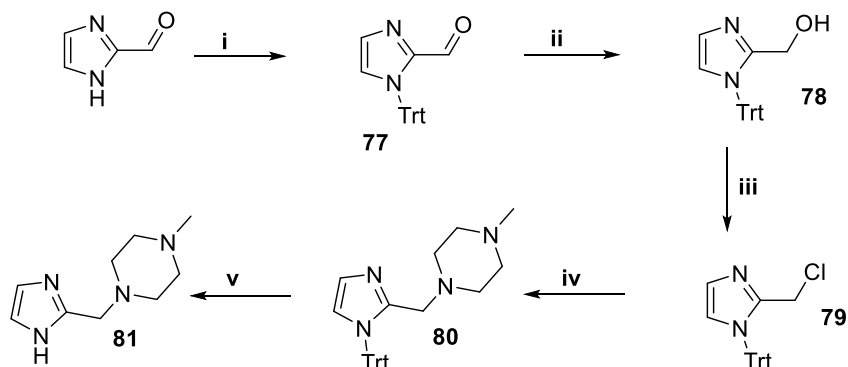


Abbildung 41: Strukturähnlichkeit zwischen **JNJ7777120** [161] und den offenkettigen Zwischenstufen **76** in der nach Jannsens et al. beschriebenen Alcaftadin-Synthese [160].

Bei der entwickelten Alcaftadin-Synthese nach Jannsens et al. [160] fiel auf, dass das Zwischenprodukt vor dem Ringschluss zum Trizyklus strukturelle Ähnlichkeiten zu dem bekannten, von Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development entwickelten, hH₄R-Liganden **JNJ7777120 (13)** [161] aufwies (**Abb. 41**). Zudem

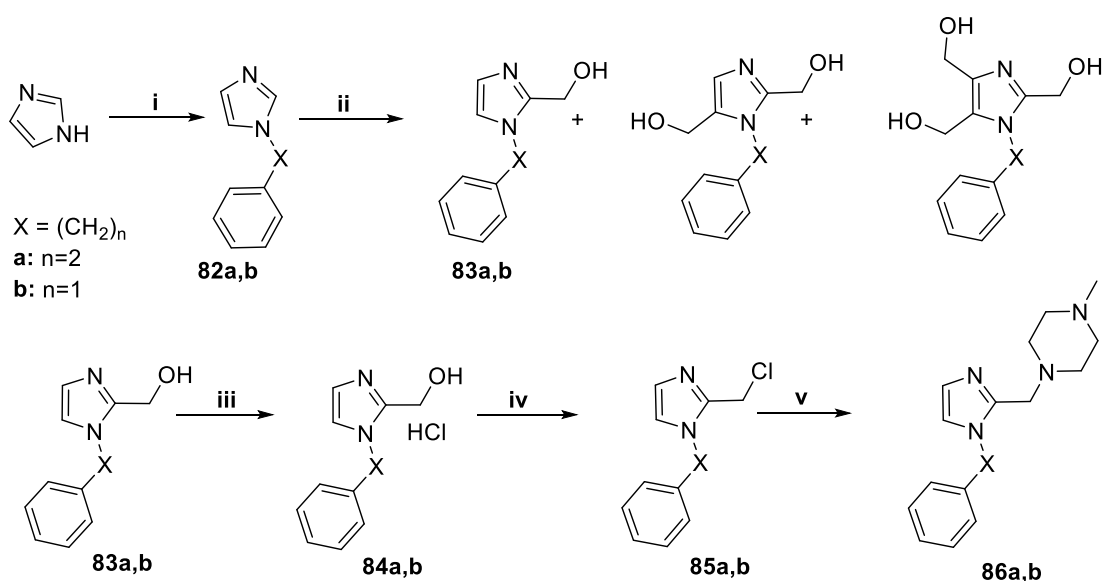
sollten mit diesen offenkettigen Derivaten herausgefunden werden, ob ein Fragment-Screening zu Alcaftadin-Derivaten möglich ist, da so mit relativ geringem synthetischen Aufwand Substanzbibliotheken untersucht werden könnten. Daher wurden vier unterschiedlich substituierte offenkettige Derivate synthetisiert.



i: Trt-Cl, TEA, CHCl_3 , 27 h, RT; ii: NaBH_4 , MeOH, 1 h, RT; iii: SOCl_2 , TEA, Toluol, 1 h, 0°C
iv: Methylpiperazin, DIPEA, MeCN; v: TFA, DCM, 1 h, RT

Abbildung 42: Synthese von **81** [162-166].

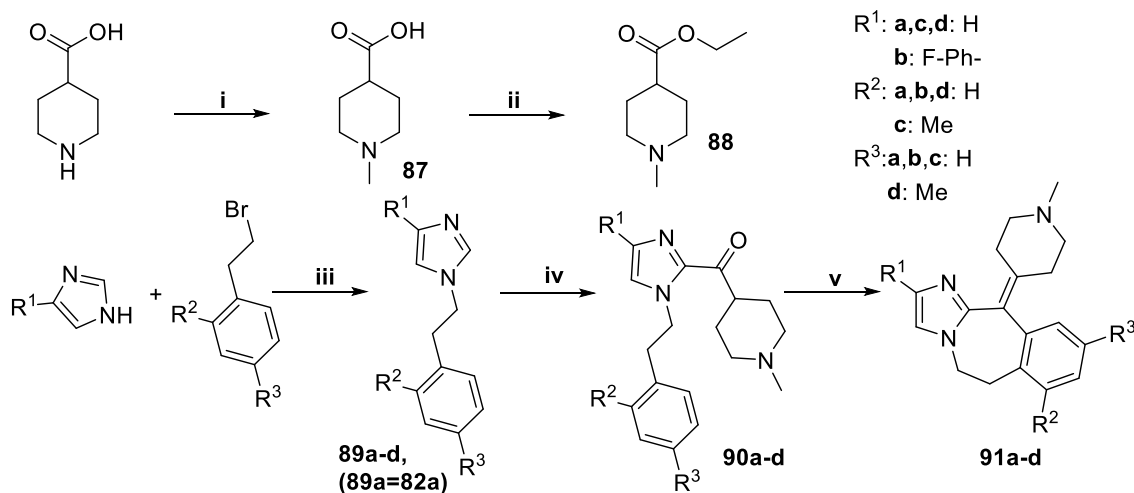
Es sollten sowohl Verbindungen mit und ohne Amid-Bindung untersucht werden. Für ein unsubstituiertes Derivat ohne Amid-Bindung wurde mit 2-Imidazolcarboxaldehyd von dem unsubstituierten Imidazol-Ring ausgegangen. Dieses wurde nach Tritylschützung (**77**) am freien Amin zum Alkohol **78** reduziert und über die reaktive Zwischenstufe **79** [162] mit Methylpiperazin zu **80** umgesetzt [163]. Nach der Entschützung der Aminfunktion wurde **81** erhalten (Abb. 42).



i: $\text{Ph}-(\text{CH}_2)_n\text{-Br}$, K_2CO_3 , THF, 14 h, Reflux, ii: CH_2O , Eisessig, NaOAc, 12 h, 140°C
iii: HCl/isopropanol; iv: SOCl_2 , DCM, 1 h, 0°C ; v: Methylpiperazin, CHCl_3 , 2 h, RT

Abbildung 43: Synthese von **86a** ($n=2$) und **b** ($n=1$) [167-170].

Da die Ausgangsverbindung 2-Imidazolcarboxaldehyd verhältnismäßig teuer zu erwerben ist, wurde für die beiden anderen Derivate ohne Amid-Bindung eine andere Syntheseroute gewählt (**Abb. 43**). Wie für die später erwähnte Synthese der offenkettigen Zwischenstufe in der Alcaftadin-Synthese (**Abb. 44**) wurde der Imidazol-Ring zunächst am freien Amin mit Bromethylbenzol bzw. Benzylbromid umgesetzt (**82a,b**). Der Syntheseweg zum Alkohol basierte auf der Funktionalisierung des Benzylimidazols bzw. des Phenethylimidazols (**83a,b**). Wie bei Zimmermann et al. entstand bei der Formylierung ein Produktgemisch, bei dem der Imidazol-Ring in 2-, in 2,5- und in 2,4- und 5-Position funktionalisiert worden war [167]. Das gewünschte 2-funktionalisierte Produkt ließ sich jedoch säulenchromatographisch isolieren. Da eine direkte Umsetzung zum Chlor-Intermediat nicht möglich war, wurde weiter die Vorschrift von Zimmermann et al. befolgt, wobei zunächst mit HCl in Isopropanol das HCl-Salz der Verbindungen hergestellt wurde (**84a,b**). Im Anschluss konnte die reaktive Zwischenstufe mit Thionylchlorid erhalten werden (**85a,b**), das mit Methylpiperazin zu den Endstufen **86a** und **86b** führte (**Abb. 43**).



i: Ameisensäure, Formaldehyd, 16 h, Reflux; ii: H_2SO_4 , EtOH, über Nacht, Reflux; iii: Phenylethylbromid bzw. Methylphenylethylbromid, K_2CO_3 , THF, 14 h, Reflux; iv: **87**, LDA, THF, Toluol, 1 h, $-50^\circ C$; v: Trifluormethansulfonsäure, 6 h, $95^\circ C$

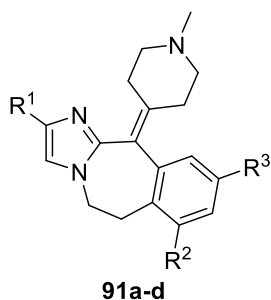
Abbildung 44: Synthese der pharmakologisch getesteten Verbindungen **90a** und **91a-d** [160].

Für die Synthese der offenkettigen unsubstituierten Alcaftadin-Verbindung (**90a**, **Abb. 44**) mit Amid-Funktionalität wurde die allgemeine Alcaftadin-Synthese nach Jannsens et al. befolgt [160].

In einem Patent von Berrebi-Bertrand et al. werden Alcaftadin-Derivate als gute hH_4R -Liganden beschrieben [115]. Diesen Derivaten gemeinsam ist die Sauerstoff-Verknüpfung zwischen Piperidin-Ring und Trizyklus. Ansonsten wird durch das

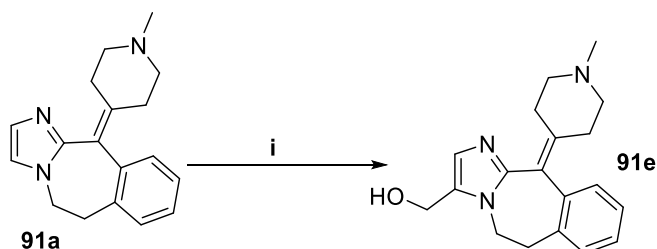
Substitutionsmuster am Trizyklus die hH₄R-Affinität bestimmt. Im Patent selbst sind allerdings keine *K_i*-Werte zu finden, es erfolgt lediglich eine Einteilung in drei Klassen. Da Alcaftadin selbst eine eher mäßige Affinität zum hH₄R aufweist, wurden davon inspiriert fünf verschiedene Alcaftadin-Derivate mit unterschiedlichen Substituenten synthetisiert (**Tabelle 5**).

Tabelle 5: Synthetisierte Verbindungen **91a-d**.



	91a [159]	91b	91c [170]	91d [170]
R¹	H	F-Phe-	H	H
R²	H	H	Me	H
R³	H	H	H	Me

Die Synthese folgte der allgemeinen etablierten Alcaftadin-Synthese von Janssens et al. [160] (**Abb. 44**). Zunächst wurde Isonipecotinsäure in einer Leuckart-Wallach-Reaktion methyliert (**87**). Die Säurefunktion wurde über Esterbildung geschützt (**88**). Imidazol bzw. dessen Fluorphenol-Derivat wurde mit Phenylethylbromid bzw. Methylphenylethylbromid zu **89a-d** umgesetzt. Mit LDA als sterisch gehinderter starker Base wurde die Reaktion in 2-Position zu **90a-d** durchgeführt. Der Ringschluss zum Trizyklus erfolgte mit Trifluormethansulfonsäure (**91a-d**).

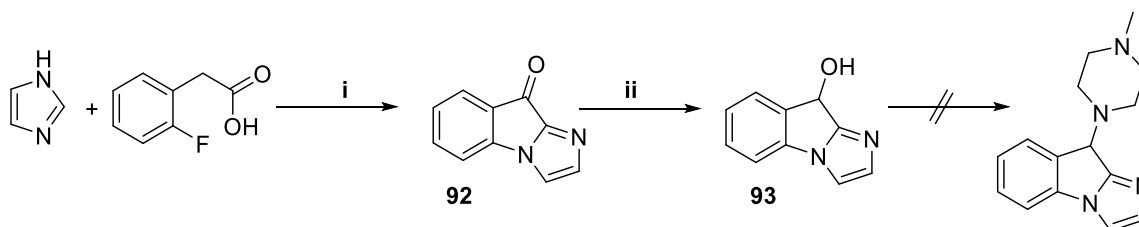


i: CH₂O (aq), NaOAc, 95°C, 20h

Abbildung 45: Umsetzung von **91a** zu **91e** [160].

Für die Synthese Verbindung **91e** wurde das unsubstituierte **91a** mit Formaldehyd formyliert (**Abb. 45**) [160].

Die Synthese eines 5- und eines 6-Rings als Zentrum des Trizyklus konnte nicht durchgeführt werden. Beim 6-Ring verlief die Synthese zunächst analog zur Alcaftadin-Synthese mit Benzylbromid, führte mit Trifluormethansäure jedoch nicht zum gewünschten Produkt.



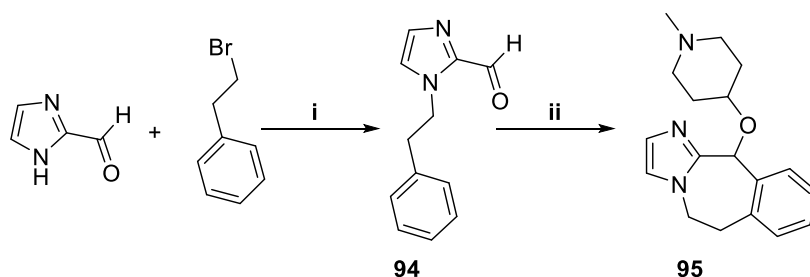
i: $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, O_2 , 12 h, 120°C ; ii: NaBH_4 , MeOH , 1 h, RT

Abbildung 46: die Synthese des Alcaftadin-Derivats mit zentralem 5-Ring führte zu geringen Ausbeuten [172].

Beim 5-Ring wurde ein anderer Ansatz verfolgt: In einer Ullmann-Reaktion wurde 2-Fluorphenylacetic acid mit Imidazol, Kupferacetat, BF_3 in Diethylether und Kaliumcarbonat in DMF zunächst in einem Autoklaven unter Sauerstoff zur Reaktion gebracht (120°C , 20h) [172]. Das entstandene Keton (**92**) wurde zum Alkohol (**93**) reduziert. Der letzte Schritt, in dem ein Methylpiperazin mit einem daraus hergestellten reaktiven Chlor-Intermediat reagieren sollte, lieferte kaum Produkt (**Abb. 46**).

Auch Unternehmungen, eine Funktionalisierung des Alcaftadin-Derivats über die Hydroxygruppe von **91e** zu erwirken, konnten nicht umgesetzt werden. Dieser wurde mit Thionylchlorid in das reaktive Chlor-Intermediat überführt, reagierte aber kaum mit Aminen weiter, ebenso waren Veresterungen nicht zielführend.

Eine Möglichkeit, Substituenten an einem aromatischen Trizyklus einzuführen, besteht darin, an einem Chlor-Substituenten beispielsweise eine Stille- oder Suzuki-Kupplung durchzuführen. Analog zu **91c** und **91d** sollten die entsprechenden Chlor-Derivate hergestellt werden. Die Syntheseroute ergab jedoch kaum Produkt beim Ringschluss analog zu den anderen Alcaftadin-Derivaten. Bei einer nachträglichen Bromierung mit Aluminiumchlorid und Brom entstand ein Produktgemisch, wobei der Trizyklus offenbar an verschiedenen Stellen bromiert worden war, zudem traten Mehrfach-Bromierungen auf. Dieses Gemisch ließ sich säulenchromatographisch nicht aufreinigen.

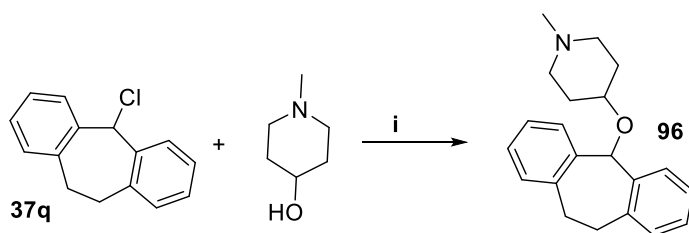


i: K_2CO_3 , DMF, 14 h, Reflux

ii: 4-Hydroxy-N-methylpiperidin, CHCl_3 , Methansulfonsäure, 24 h, Reflux

Abbildung 47: Synthese des Alcaftadin-Derivats **95** mit Sauerstoff als Linker [115].

Um den Einfluss der Sauerstoffverlinkung wie bei den Alcaftadin-Derivaten von Berrebi-Bertrand et al. [115] zu untersuchen, wurde zum einen die unsubstituierte Verbindung **95** nach der dort beschriebenen Synthesemethode hergestellt. Imidazol-2-carbaldehyd wurde mit K_2CO_3 zur Deprotonierung mit Phenethylbromid in DMF zu **94** umgesetzt. Mit Methansulfonsäure als Katalysator wurde in einem Schritt sowohl die Verknüpfung mit 4-Hydroxy-N-methylpiperidin als auch der Ringschluss bewirkt (**95**, **Abb. 47**).



i: CHCl_3 , 2 h, RT

Abbildung 48: Synthese des Dibenzosuberone-Derivats **96**, ausgehend von **37q**.

Zum anderen wurde nach der bereits etablierten Synthesemethode wie für Piperazin-Oxepin-Derivate die Verbindung **96** [173] synthetisiert (**Abb. 48**).

Kapitel 4

Pharmakologischer Teil

4. Pharmakologischer Teil

Alle zuvor synthetisierten Liganden wurden in Kompetitions-Bindungsstudien am hH₁R und hH₄R, ausgewählte Verbindungen zusätzlich am hH₂R und hH₃R untersucht. Die dafür verwendeten Rezeptoren wurden in Sf9-Zellen exprimiert. Einige Verbindungen wurden zusätzlich herausgegriffen, um diese in funktionellen Assays, für den hH₄R im GTP γ S-Assay an Sf9-Membranen und für den gpH₁R in Organbad-Experimenten am Meerschweinchen-Ileum zu charakterisieren. Zusätzlich wurde ein Alcaftadin-Derivat im funktionellen DMR-Assay am hH₁- und am hH₄-Rezeptor bei HEK298T-Zellen untersucht. Die pharmakologischen Methoden werden in folgendem Abschnitt behandelt.

4.1 Molekularpharmakologische Methoden

4.1.1 Sf9-Zelllinie

Für die Durchführung der Kompetitions-Bindungs-Assays sowie der GTP γ S-Assays wurden Testsysteme auf Grundlage des Sf9/Baculoviren Expressionssystems verwendet. Die Zellen hierfür wurden aus dem Ovargewebe der Nachtfalterart *Spodoptera frugiperda* gewonnen. Die Ergebnisse aus Insektenzell-Testsystemen sind mit anderen Testsystemen, die auf Säugetierzellen basieren, vergleichbar. Jedoch können eine Vielzahl auftretender Schwierigkeiten umgangen werden. Zu den Vorteilen zählt z.B. ihr Wachstum bei niedrigeren Temperaturen, keine Notwendigkeit der CO₂-Begasung oder ihre geringere Anfälligkeit für human-pathogene Kontaminationen [174]. Als Expressionssystem dienen Baculoviren-basierte Vektoren. Die Sf9-Zellen werden mit dem genetisch modifizierten Virus, der den Vektor mit dem Genom für den entsprechenden Rezeptor bzw. das gewünschte G-Protein miteinbringt, infiziert. Diese Viren können zwar in Säugetierzellen gelangen, sind dort jedoch nicht persistent und es gibt keinen Nachweis für deren Gentranskription [175, 176]. Die gentechnisch rekombinant exprimierten Rezeptoren weisen im Vergleich zum „Wildtyp“ weit weniger Probleme auf: Zum einen wird nur der gewünschte Rezeptor exprimiert. So werden Interaktionen mit anderen Rezeptortypen ausgeschlossen (Rezeptor-„Crosstalk“) [177] und auch eine ungewollte Rezeptor-Heterodimerisierung wird so umgangen [174]. Des Weiteren können die Rezeptoren nach Belieben mit verschiedenen G-Proteinen kombiniert werden. Für den hH₄R wird beispielsweise über Co-Infektionen mit verschiedenen Kombinationen von G-

Proteinen im Zuge der Charakterisierung funktioneller Assays berichtet [178]. Für den hH₁R wird üblicherweise das RGS4-Protein (Regulator of G-Protein-signaling) mit-exprimiert, welches die GTPase-Funktion aktiviert. Bei den anderen Histamin-Rezeptorsubtypen werden ihre entsprechenden G-Proteine coexprimiert (hH₂R: G_{α2}, hH₃R: G_{α2}+ G_{β1γ2}; hH₄R: G_{α2} + G_{β1γ2}). Da Sf9-Zellen von sich aus kaum G-Proteine exprimieren, kann so deren Einfluss ohne unbekannte Wechselwirkungen untersucht werden. G_{αq}, G_{αs} sowie eine Isoform von G_{αi}-Proteinen kommen zwar vor, zeigen jedoch kaum Kopplung mit den humanen GPCRs [179]. Darüber hinaus weisen die Zellen keine konstitutiv aktiven Rezeptoren auf, was die Selektivität und das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert. Zuletzt ist die Rezeptordichte weit höher, als dies bei natürlich exprimierten Rezeptoren der Fall ist, was zu einer Signalverstärkung führt [174].

4.1.2 Radioligand-Bindungs-Assay

Kompetitions-Bindungs-Assays werden verwendet, um die Affinität eines bestimmten Liganden für einen Rezeptor-Subtypen zu bestimmen [180]. Eine gängige Methode zur Erfassung der Bindung ist die Verwendung eines radioaktiv markierten Liganden als Kompetitor. Radioligand und unmarkierter Ligand konkurrieren um die verfügbaren Bindungsstellen am Rezeptor. Der Radioligand kann im β-Counter über Zählung der Impulse im Flüssigszintillator nachgewiesen werden. Kompetitions-Kurven werden erhalten, indem die spezifische Bindung des Radioliganden, die als prozentualer Anteil an der Gesamtbindung dargestellt wird, gegen die logarithmische Konzentration des konkurrierenden Liganden aufgetragen wird. Der Wendepunkt der sigmoidalen Dosis-Wirkungs-Kurve gibt die Konzentration an, bei der 50% der Bindungsstellen am Rezeptor durch die getestete Verbindung inhibiert werden. Diese mittlere inhibitorische Konzentration wird als *IC*₅₀-Wert bezeichnet. Bei einer steilen sigmoidalen Kurve kann von einer Bindungsstelle am Rezeptor ausgegangen werden, wohingegen mehrere Wendepunkte für mehrere Bindungsstellen sprechen [181].

Die Wechselwirkung zwischen Rezeptor und Rezeptorligand kann durch den Bindungsparameter *K_i* quantifiziert werden. Diese Gleichgewichtsdissoziationskonstante ist ein Parameter für die Affinität des Liganden zur Bindungsstelle am Rezeptor und wird durch die Cheng-Prusoff-Gleichung berechnet [182].

Diese wurde vom Massenwirkungsgesetz abgeleitet und gilt unter folgenden Annahmen: Radioligand und freier Ligand müssen auf dieselbe reversible Weise an den Rezeptor binden. Weiterhin muss sich ein Gleichgewicht eingestellt haben und die Konzentration des freien Radioliganden sowie die Konzentration des freien Liganden müssen bekannt und während des gesamten Experiments konstant sein, bzw. werden diese als näherungsweise konstant angesehen.

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[L]}{K_d}}$$

IC_{50} Konzentration des Liganden, bei der 50% des Radioliganden verdrängt wurde

K_i Rezeptor-Dissoziationskonstante eines kompetitiven Liganden

K_d Rezeptor-Dissoziationskonstante des Radioliganden

[L] Konzentration des Radioliganden in mol/l

4.1.3 GTP γ S-Assay

Aus den generierten Daten der Kompetitions-Bindungsstudien lassen sich Aussagen über die Affinität zum Rezeptor treffen. Unbeachtet bleibt jedoch darin die Art der Bindung. Ausgelöst von der Bindung eines Agonisten wird am Rezeptor der Aktivierungszyklus in Gang gesetzt. Dieser soll im Folgenden beschrieben werden:

Im nicht-aktivierten Zustand liegt die α -Untereinheit mit den Untereinheiten $\beta\gamma$ assoziiert vor und hat GDP gebunden, dies wird als heterotrimeres G-Protein bezeichnet. Wenn der G-Protein-gekoppelte Rezeptor in den aktivierten Zustand gebracht wird, kann für das Heterotrimer eine Bindungsstelle freigelegt werden. Die Aktivierung kann, muss aber nicht zwingend, durch die Bindung eines Agonisten an den Rezeptor geschehen. Dies wiederum initiiert eine Konformationsänderung im G-Protein und der Austausch des an die α -Untereinheit gebundenen GDPs gegen GTP wird aktiviert. Durch eine erneute Konformationsänderung zerfällt der ternäre Komplex und die α -Untereinheit dissoziiert von der $\beta\gamma$ -Untereinheit. Diese $\beta\gamma$ -Untereinheit interagiert in der Zelle mit Effektorproteinen, wodurch eine Zellantwort ausgelöst wird. Durch die Konformationsänderung sinkt zudem die Affinität des Agonisten zum Rezeptor und dieser wird wieder freigesetzt. Die intrinsische GTPase-Aktivität der α -Untereinheit hydrolysiert GTP zu GDP. Dadurch wird diese inaktiviert und es kommt

zur Rekombination mit den $\beta\gamma$ -Untereinheiten, wodurch der Ausgangszustand im G-Proteinzyklus wiederhergestellt ist.

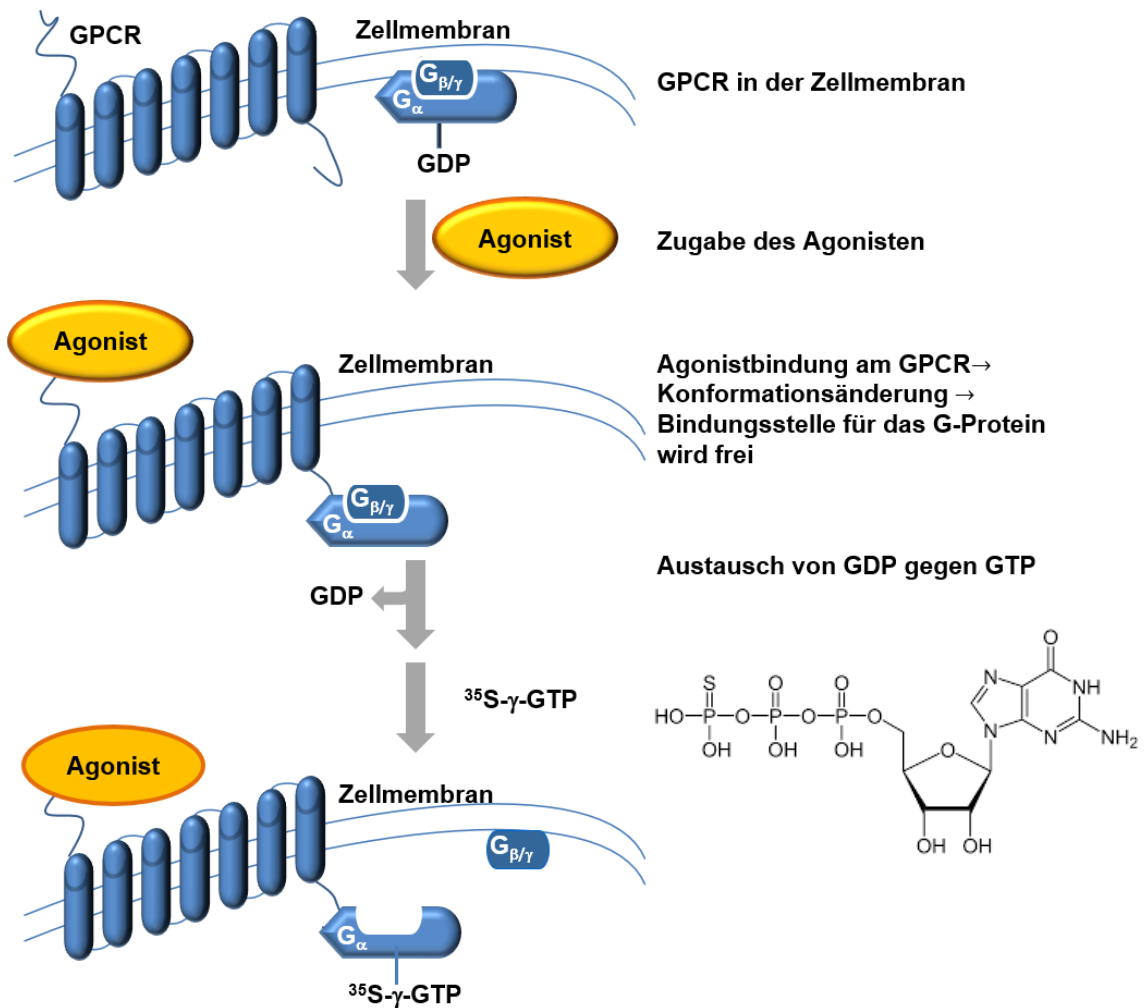


Abbildung 49: Schematische Darstellung des $\text{GTP}\gamma\text{S}$ -Assays: Agonistbindung an den GPCR, Austausch von GDP gegen GTP, (adaptiert von Perkin-Elmer) [183].

Im $\text{GTP}\gamma\text{S}$ -Assay wird $[^{35}\text{S}]\text{GTP}\gamma\text{S}$ anstelle von GTP verwendet (**Abb. 49**). Dieses kann im Gegensatz zu oben beschriebenem Zyklus durch seine Modifizierung am endständigen Phosphat nicht hydrolysiert werden. Der Sauerstoff am γ -Phosphat ist hier durch radioaktiv markierten Schwefel ersetzt. Dadurch reichert sich dieses in der Membran an und kann mittels Filtration von ungebundenem $\text{GTP}\gamma\text{S}$ getrennt werden. Dieses kann im β -Counter über die Zählrate der Impulse in Flüssigszintillator detektiert werden. Bei der Auftragung gegen die logarithmisierte Ligandkonzentration werden Kurven erhalten, aus denen bei halbmaximalem Effekt die mittlere effektive Konzentration EC_{50} ermittelt werden kann. Dieser Assay ist vor allem auf G_i -gekoppelte GPCRs anwendbar [178, 183].

4.1.4 DMR-Assay

Verbindung **91b** wurde im funktionellen DMR-Assay an hH₄R-HEK293T -Zellen untersucht (durchgeführt von U. Seibel, Universität Regensburg, Lehrstuhl Prof. Buschauer †).

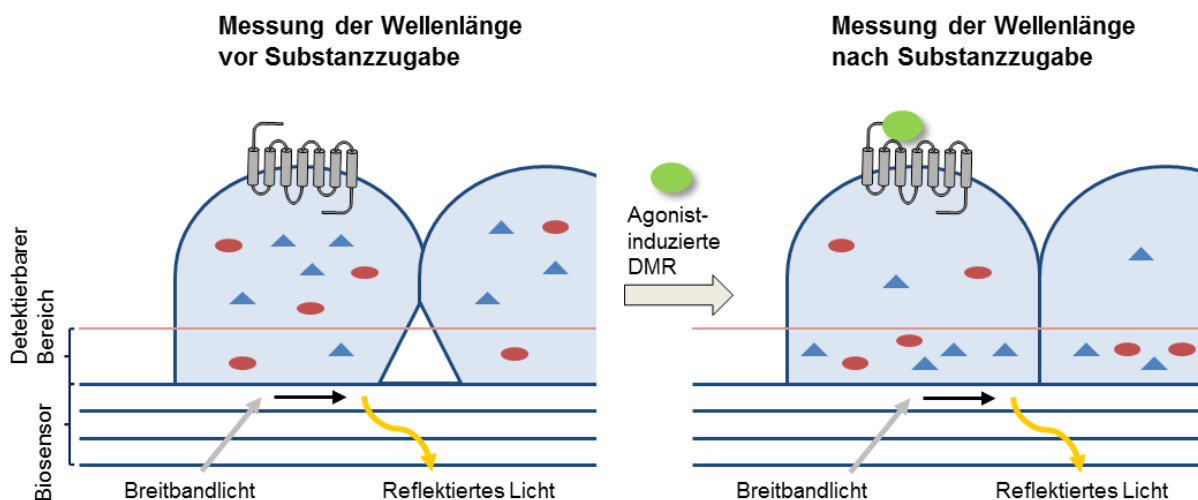


Abbildung 50: modifiziertes Schema der Messung der dynamischen Massenumverteilung und der Messung der Wellenlänge, links: Messung der Wellenlänge des reflektierten Lichts vor Zugabe des Agonisten, rechts: nach Zugabe des Agonisten [188].

Die durch DMR erhaltenen Daten sind mit denen herkömmlicher Assays vergleichbar [184]. Bei dieser Messmethode wird ein Biosensor verwendet, der in zellbewachsenen Well-Messplatten integriert ist. Dieser Biosensor besteht aus einer beschichteten Glasplatte, in der eine Gitternetzstruktur enthalten ist (RWG: resonance wave guide). Bei Breitbandlichteinstrahlung wird Licht bestimmter Wellenlänge entlang des Biosensors weitergeleitet [185]. Die Wellenlänge ist abhängig von der optischen Dichte oberhalb des Biosensors, wobei die Reichweite der Messung etwa 200 - 300 nm beträgt. Da in der DMR-Messung oberhalb des Sensors Zellen wachsen, ist die Zelladhäsion ein entscheidendes Kriterium in diesem Assay [184]. Durch dynamische Prozesse im Aktinkortex wird das Signal verändert. Je nach Zelltyp hat dieser Aktinkortex eine Dicke von 100 - 1000 nm [186, 187]. Massenverschiebungen, die beispielsweise durch Agonistbindung ausgelöst werden, stehen in direktem Zusammenhang mit der Zellform, wenn diese nahe der Wachstumsoberfläche oder im Spalt zwischen Zelle und Substrat stattfinden (**Abb. 50**). Jedoch können auch andere (Makro)moleküle, die nicht mit dem Aktinkortex binden, zu Resonanzverschiebungen führen.

4.2 Organpharmakologische Methoden

4.2.1 H₁-Rezeptoraktivität am Meerschweinchen-Ileum

Da der GTP γ S-Assay besser für Rezeptoren mit dem G-Protein G_i geeignet ist, wurde für den H₁-Rezeptor eine andere funktionelle Charakterisierung durchgeführt. Eine seit langem etablierte Methode hierfür ist die Testung an Meerschweinchenorganen. Bei Meerschweinchen ist die Rezeptorsensibilität und -dichte sehr hoch und trotz einiger Spezies-abhängiger Unterschiede sind die Ergebnisse doch auf den humanen Rezeptor übertragbar [189]. Dies konnte vor allem bei der Entwicklung von H₁-Antihistaminika gezeigt werden, da dort die Forschung durch organpharmakologische Versuche vorangetrieben wurde.

Für die Bestimmung der Rezeptor-Aktivität am gpH₁R wurde auf Grund seiner dortigen hohen Expression das Meerschweinchen-Ileum isoliert und in Segmente zerteilt. Diese Organstücke wurden in einem Organbad unter konstante Zugspannung gesetzt. Infolge einer Komplexbildung zwischen Rezeptor und Agonist kommt es zu einer Zellantwort, die die Kontraktion der Ileumssegmente zur Folge hat. Anhand dieser Längenänderung des Segments wurde zunächst eine Konzentrations-Wirkungs-Kurve mit Histamin erstellt. Nach Ausspülen des Histamin-Effekts wurde dann der Antagonist in verschiedenen Konzentrationen präinkubiert, die Ligandkonzentration wurde kumulativ erhöht und auch hier wurden Konzentrations-Wirkungskurven festgehalten [190]. Agonistische Aktivität konnte für keine der vermessenen Verbindungen festgestellt werden. Die Rechtsverschiebung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven bei Anwesenheit unterschiedlicher Antagonist-Konzentration wird durch die resultierenden EC₅₀-Werte der Kurven wiedergegeben.

4.2.2 Schild-Gleichung

Der Schild-Plot ist ein etabliertes Verfahren, um die pharmakologische Wirkpotenz von Antagonisten in funktionellen Assays, wie in Organbad-Experimenten am Meerschwein-Ileum, zu ermitteln. Dabei wird zunächst graphisch ein linearer Zusammenhang zwischen dem Logarithmus der Antagonist-Konzentration und der Hemmwirkung von diesem ermittelt. Aus dem Abszissenschnittpunkt der Regressionsgerade kann der pA₂-Wert bestimmt werden [191, 192]. Eine besondere Bedeutung kommt der Steigung der Regressionsgerade zu. Anhand dieser können Aussagen über die Art des Antagonismus getroffen werden.

$$\log K_B = \log c(B) - \log (r-1)$$

$$pA_2 = -\log c(B) + \log (r-1)$$

c(B)	Konzentration des Antagonisten in mol/l
EC_{50}	Konzentration des Agonisten, bei dem 50% des Maximalwertes erreicht ist
K_B	Dissoziationskonstante des Ligand-Rezeptor-Komplexes
ΔpEC_{50}	$pEC_{50}(\text{His}) - pEC_{50}(\text{His/B})^*$
r	$10^{\Delta pEC_{50}}$

bei Steigung = 1 gilt: $\log K_B = pA_2$

*Die pEC_{50} -Werte wurden in Abwesenheit eines Antagonisten bzw. bei konstanten Antagonist-Konzentrationen bestimmt.

Bei einer Steigung von 1 und nicht-signifikanter Depression der Dosis-Wirkungskurven liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit ein kompetitiver, reversibler Antagonismus vor. Ist die Steigung signifikant von 1 verschieden oder zeigt sich eine Depression bei hohen Antagonist-Konzentrationen, können keine genaueren Rückschlüsse auf die Art des Antagonismus gezogen werden und die Schild-Gleichung ist ungeeignet, um pA_2 -Werte zu bestimmen. In diesem Fall müssen diese für jeden Konzentrationsbereich separat ermittelt werden.

4.3 Pharmakologische Materialien und Methoden

4.3.1 Sf9-Insektenzelllinie [177, 193-195]

Die Sf9-Insektenzelllinie wurde von BD Biosciences (BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland) bezogen. Die Analyse auf Mykoplasmen-Kontamination erfolgte mit dem Venor GemMykoplasma Detections Kit (Minerva Biolabs, Berlin, Deutschland) und war negativ. Die Sf9-Zellen wurden in 250 ml Erlenmeyer-Kolben bei 28°C in Schüttelkultur (150 rpm) in Insect Xpress Medium (Lonza Group AG, Basel, Schweiz), dem 5% v/v fetales Kälberserum zugesetzt wurde, ohne CO₂-Begasung kultiviert. Die Zelldichte betrug 0.5 - 6.0 Mio Zellen/ml. Die Baculoviren mit den entsprechenden Vektoren wurden wie zuvor beschrieben aus dem BaculoGOLD Transfektionskit (BDPharmingen, SanDiego, USA) nach Herstellerangaben generiert [196] und die Infizierung der Sf9-Zellen erfolgte mit den entsprechend kodierten Viren für die GPCRs bzw. für die jeweiligen G-Proteine (hH₁R + RGS4 , hH₂R + G_{sαs}, hH₃R + G_{iαs} + G_{β1γ2},

hH₄R + G_{αs} + G_{β1γ2}). Dazu wurden die Zellen bei 3 Mio Zellen/ml in frischem Medium ohne FCS mit den Virusüberständen (1 ml/ 100 ml Zellsuspension) versetzt und 48 h in Schüttelkultur (150 rpm) inkubiert.

4.3.2 Membranpräparation [197]

Für die konstant bei 4°C durchgeführte Membranpräparation wurde die infizierte Zellsuspension (200 ml) auf zwei Zentrifugationsgefäße (je 100 ml) aufgeteilt und zentrifugiert (1000 rpm, 5-10 min). Der Überstand wurde verworfen, das abgesetzte Pellet in PBS-Puffer (je 100 ml, 100 mM Tris/HCl, 80 mM Na₂HPO₄; pH = 7.4) gewaschen und erneut zentrifugiert (1000 rpm, 5-10 min). Wie zuvor wurde der Überstand verworfen, das Pellet mit den sedimentierten Sf9-Zellen in Lysis-Puffer aufgenommen (je 60 ml, 100 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, Protease-Inhibitoren: 0.2 mM Phenylmethylsulfonylfluorid, 10 µg/ml Benzamidin, 10 µg/ml Leupeptin, pH = 7.4). Die Lösung wurde in einem Dounce-Homogenisator 25mal homogenisiert und erneut zentrifugiert (500 rpm, 5 min). Das Pellet, das aus intakten Zellkernen bestand, wurde verworfen. Der Überstand mit den Membranfragmenten wurde in Sorvall-Zentrifugenröhrchen überführt und in einer Sorvall-Zentrifuge sedimentiert (18000 rpm, 20 min). Der Überstand wurde abgegossen. Die sich nun im Pellet befindenden Membranfragmente wurden erneut in Lyse-Puffer (je 60 ml) aufgenommen und nochmals zentrifugiert (18000 rpm, 20 min). Zuletzt wurde das Pellet in je 25 ml Bindungspuffer aufgenommen (12.5 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 75 mM Tris/HCl; pH = 7.4), im Dounce-Homogenisator homogenisiert und in 1000 µl-Aliquoten bei -80°C gelagert. Die Protein-Bestimmung erfolgte nach Lowry [198].

4.3.3 Radioligand-Kompetitions-Bindungs-Assays [174, 193]

Die Radioligand-Bindungs-Assays wurden an den jeweiligen Histamin-Rezeptoren nach bekanntem Protokoll durchgeführt. Die Stammlösungen der Liganden wurden in Wasser/DMSO 50/50 (10 mM, v/v) hergestellt. In 96-Well-Platten (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) wurden Triplikate des Liganden in aufsteigenden Konzentrationen (0.1 nM - 1 mM final) in Bindungs-Puffer (12.5 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 75 mM Tris-HCl; pH 7.4) mit BSA (0.2% w/w) und der jeweilige Radioligand vorgelegt. Die Radioliganden wurden wie folgt eingesetzt: hH₁R: [³H]Pyrilamin (c = 5 nM, spezifische Aktivität 85.3 Ci/mmol, K_d = 4.5 nM [199], Hartmann Analytics GmbH, Braunschweig, Deutschland), hH₂R: [³H]UR-DE257 [200] (c = 20 nM,

spezifische Aktivität 63.0 Ci/mmol, $K_d = 31$), hH₃R: [³H]UR-PI294 [102] ($c = 2$ nM, spezifische Aktivität 93.3 Ci/mmol, $K_d = 1.1$) oder [³H]N^α- Methylhistamin ($c = 3$ nM, spezifische Aktivität 85.3 Ci/mmol, $K_d = 3$ nM [127], Hartmann Analytics GmbH, Braunschweig, Deutschland) und hH₄R: [³H]Histamin ($c = 10$ nM, spezifische Aktivität 25.0 Ci/mmol, $K_d = 10$ nM [83], Biotrend Chemikalien GmbH, Köln, Deutschland). Die entsprechenden Membranen wurden aufgetaut und zentrifugiert (10 min, 13.000 rpm, 4°C) und das Pellet anschließend in Bindungspuffer resuspendiert. Die Membranen wurden zuletzt in einer finalen Konzentration von 40 µg (hH₁R), 60 µg (hH₂R), 50 µg (hH₃R) oder 90 µg (hH₄R) pro Well zugegeben. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von Diphenhydramin bzw. Mepyramin (hH₁R, 10 µM), Famotidin (hH₂R, 10 µM) sowie Thioperamid (hH₃R, 10 µM) bzw. Histamin (hH₃R, hH₄R, 10 µM) bestimmt. Die Inkubation erfolgte für 90 min auf einem Schüttler (250 rpm) bei Raumtemperatur. Durch Filtration über Mikroglasfaserfilter (Whatman GF/C), vorbehandelt mit Polyethylenimin (0.3% w/v), wurde der gebundene Radioligand am Brandel-Harvester mit 96 Vertiefungen vom freien Radioligand getrennt. Der Filter wurde zwei Mal mit Bindungspuffer bzw. PBS-Puffer (4°C) gewaschen. Jedes Well-Filterstück wurde ausgestanzt, in 96-Well-Probenplatten (1450-401, Perkin-Elmer, Rodgau, Deutschland) überführt, mit Szintillationscocktail (200 µl) (Rotiscint Eco plus, Roth, Karlsruhe, Deutschland) überschichtet und mindestens 3 h im Dunkeln inkubiert, bevor die Platten an einem Micro Beta 1450 Szintillationszähler (Perkin-Elmer, Rodgau, Deutschland) vermessen wurden.

4.3.4 GTP_γS-Bindungs-Assay [178]

Der GTP_γS-Bindungs-Assay erfolgte in ähnlicher Weise wie der Kompletions-Bindungs-Assay. In einer 96-Well-Platte wurden Triplikate des Liganden in aufsteigender Konzentration (final 10 nM - 1 mM) vorgelegt. Zu jedem Well wurde 80 µl Puffer (1 × Bindungspuffer, BSA 0.05%, 1 µM GDP, 100 mM NaCl, final) sowie [³⁵S]GTP (0.2 nM) gegeben. Die unspezifische Bindung wurde in Gegenwart von unmarkiertem GTP_γS (10 M) bestimmt. Die jeweiligen Membranen wurden aufgetaut, bei 4°C zentrifugiert (13000 rpm, 10 min) und das Pellet wurde in Bindungspuffer (12.5 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 75 mM Tris/HCl (pH 7.4) resuspendiert. Wie oben beschrieben, wurde die Membransuspension hinzugefügt. Nach der Inkubationszeit (1.5 h, 250 rpm, RT) wurden die Membranen durch Filtration über Mikroglasfaserfilter am Brandel-Harvester (Brandel, Gaithersburg, USA) abgetrennt, der Unterschied zu

oben beschriebener Vorgehensweise bestand darin, dass keine Vorbehandlung der Filterstücke mit Polyethylenimin vorgenommen wurde.

4.3.5 Auswertung der Kompetitions-Bindungs-Assays und der GTP γ S-Assays

Die resultierenden Kompetitions-Bindungskurven wurden unter Verwendung der Algorithmen von PRISM 5.01 oder 6.0 (GraphPadSoftware, San Diego, USA) durch nichtlineare Regression (one-site fit- K_i) analysiert. Unter Verwendung eines sigmoidalen Fits wurde der IC_{50} -Wert, ermittelt. Die K_i -Werte wurden mittels der Cheng-Prusoff-Gleichung berechnet. Diese wurden logarithmisch als pK_i ausgedrückt. Alle Daten sind Mittelwerte von drei unabhängigen Versuchen \pm SEM, jeder Datenpunkt wurde aus Triplikaten ermittelt (sofern nicht anders erwähnt). Im Falle der GTP γ S-Assays lieferte ein sigmoidaler Fit (sigmoidal dose-response) den EC_{50} -Wert. Die E_{max} -Werte sind auf den Histamin-Effekt im Testsystem bezogen, dieser wurde mit 100% gleichgesetzt.

4.3.6 Organbad-Experimente am isolierten Meerschweinchen-Ileum [190]

Am isolierten Meerschweinchen-Ileum wurden kumulative Konzentrations-Effekt-Kurven aufgenommen. Dafür wurden Meerschweinchen beiderlei Geschlechts (250 - 500 g) durch einen Nackenschlag betäubt und durch Zertrennen der Halsschlagader ausgeblutet. Das Ileum wurde entnommen und in Segmente der Länge 1.5 - 2.5 cm geschnitten. Die Ileumssegmente wurden in 20-ml-Organbädern unter einer Zugspannung von 5 mN platziert. Diese enthielten eine wässrige Tyrode-Lösung (NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, CaCl₂ 1.8 mM, MgCl₂ 1.0 mM, NaH₂PO₄ 0.4 mM, NaHCO₃ 11.9 mM, Glucose 5.0 mM), wurden auf eine konstante Temperatur von 37°C erwärmt und kontinuierlich mit 95% O₂ und 5% CO₂ begast. Cholinerge Effekte wurden durch Zugabe von Atropin (finale Konzentration 0.05 mM) unterdrückt [95]. Die Kontraktion wurde an einem Transducer Coupler 4711 (FMI GmbH, Seeheim, Deutschland) gemessen und einem 6-Kanal-x/t-Kompensograph C1015 (Siemens, Deutschland) aufgezeichnet. Nach einer 30-minütigen Equilibrierungs-Phase wurden die Organe drei bis viermal mit Histamin (1 M und 10 M) vorstimuliert. Nach jeder Stimulation wurde das Histamin wieder ca. 8 min ausgewaschen und es folgte eine 10-minütige Equilibrierungs-Phase. Anschließend wurden in kumulativer Technik an jedem Organ mit Histamin Konzentrations-Wirkungskurven aufgenommen. Dieses wurde wie nach der Vorstimulation wieder ausgewaschen. Nach einer weiteren Ruhephase wurde der

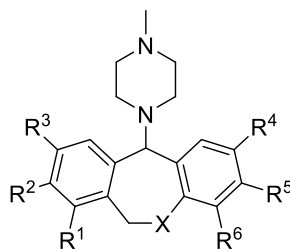
Antagonist in gewünschter Konzentration 15 min präinkubiert. Im Anschluss erfolgte die Aufnahme einer weiteren kumulativen Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Histamin (10 nM - 10 mM). Für jede Verbindung wurden mindestens 20 Kurven erstellt. Die pEC_{50} -Werte sind unkorrigiert. Die Steigung und der pA_2 -Wert wurden durch lineare Regression der Datenpunkte unter Verwendung von GraphPad Prism 5.01 (GraphPadSoftware Inc., San Diego, USA) berechnet.

4.4 Pharmakologische Ergebnisse

4.4.1 Chlor-substituierte Doxepin-Liganden

Insgesamt siebzehn Dibenzo[*b,e*]oxepin abgeleitete Verbindungen **38a-q** (Tabelle 6) wurden in Radioligand-Bindungs-Assays am hH₁R und hH₄R charakterisiert [106]. Davon waren 13 Verbindungen (**38 a-e, h, i, k, l, n, o, q**) im Rahmen der Masterarbeit getestet worden.

Tabelle 6: Substitutionsmuster der Verbindungen **38a-q** [108].



R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X	Verbindung
H	H	H	H	H	H	O	38a
Cl	H	H	H	H	H	O	38b
H	Cl	H	H	H	H	O	38c
H	H	Cl	H	H	H	O	38d
H	H	H	Cl	H	H	O	38e
H	H	H	H	Cl	H	O	38f
H	H	H	H	H	Cl	O	38g
Cl	H	H	Cl	H	H	O	38h
Cl	H	H	H	Cl	H	O	38i
Cl	H	H	H	H	Cl	O	38j
H	Cl	H	Cl	H	H	O	38k
H	Cl	H	H	Cl	H	O	38l
H	Cl	H	H	H	Cl	O	38m
H	H	Cl	Cl	H	H	O	38n
H	H	Cl	H	Cl	H	O	38o
H	H	Cl	H	H	Cl	O	38p
H	H	H	H	H	H	CH ₂	38q

Tabelle 7: Bindungsaffinitäten der Verbindungen **38a-q**, bestimmt in Radioligand-Kompetitions-Bindungs-Assays [108].

Verbindung	pK_i (hH ₁ R)	pK_i (hH ₄ R)
38a	8.12 ± 0.03 ^a	≤5
38b	7.13 ± 0.04	≤4
38c	8.71 ± 0.13	≤4
38d	8.48 ± 0.09	≤4
38e	8.42 ± 0.04 (gpH ₁ R: 8.24 ± 0.09) ^b	≤5
(R)-38e	8.83 ± 0.09 (gpH ₁ R: 8.82 ± 0.13) ^a	≤5
(S)-38e	7.63 ± 0.04 ^a (gpH ₁ R: 7.41 ± 0.03) ^{a,c}	≤5
38f	8.47 ± 0.08 ^d	≤5
38g	7.70 ± 0.11 ^a	≤4
38h	7.06 ± 0.10	≤5
38i	7.42 ± 0.07	≤5
38j	6.83 ± 0.09	≤5
38k	8.50 ± 0.16 ^e	≤5
38l	8.44 ± 0.10	5.27 ± 0.02
38m	7.40 ± 0.06	≤5
38n	8.65 ± 0.16	≤4
38o	8.56 ± 0.03	≤5
38p	7.10 ± 0.07	≤5
38q	8.06 ± 0.04	≤4

a: Anzahl an Experimenten n=5, b: n=7, c: Spuren von **(R)-38e**, die in der CE nachgewiesen wurden können einen leicht erhöhten pK_i für das S-Enantiomer verursachen, d: n=4, e: n=6

Am hH₁R lagen die pK_i -Werte der Verbindungen **38a-q** in Abhängigkeit vom Substitutionsmuster im Bereich von 6.8 - 8.7 (**Tabelle 7**). Ein Chloratom am R¹ oder R⁶ führte zu einer Abnahme der Affinität im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **38a** (**38b**: 10-fach, **38g**: 3-fach), ein Chlor-Atom am R² führte zu einer Affinitätssteigerung (**c**: 4-fach). Ein Chloratom am R³, R⁴ oder R⁵ führte zu einer leichten Erhöhung der Affinität im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **38a**. Innerhalb der monosubstituierten Verbindungen nahm die Affinität in folgender Reihenfolge ab: R² (**38c**) > R³ (**38d**) > R⁵ (**38f**) > R⁴ (**38e**) > R⁶ (**38g**) > R¹ (**38b**). Die Affinität der Oxepin-Verbindung **38a** lag zudem im gleichen Bereich wie die des Carbo-Analogons **38q**, was vermuten lässt, dass der Sauerstoff in Position X keinen

nennenswerten Einfluss auf die Affinität zum hH₁R hat [108]. Die zweifache Chlor-Substitution an R¹, R² oder R³ bzw. R⁴, R⁵ oder R⁶ führte zu den disubstituierten Verbindungen **38h–p**. Die Affinitäten am hH₁R der Verbindungen **38k**, **l**, **n** und **o** lagen im gleichen Bereich wie die der monosubstituierten Verbindungen **38c**, **d**, **e** und **f**. Die anderen disubstituierten Verbindungen zeigten eine Affinitätsabnahme. Alle Verbindungen **38a–q** zeigten nur sehr schwache Affinitäten am hH₄R, lediglich bei **38l** lag der $pK_i > 5$. Somit waren alle Derivate selektive hH₁R-Liganden.

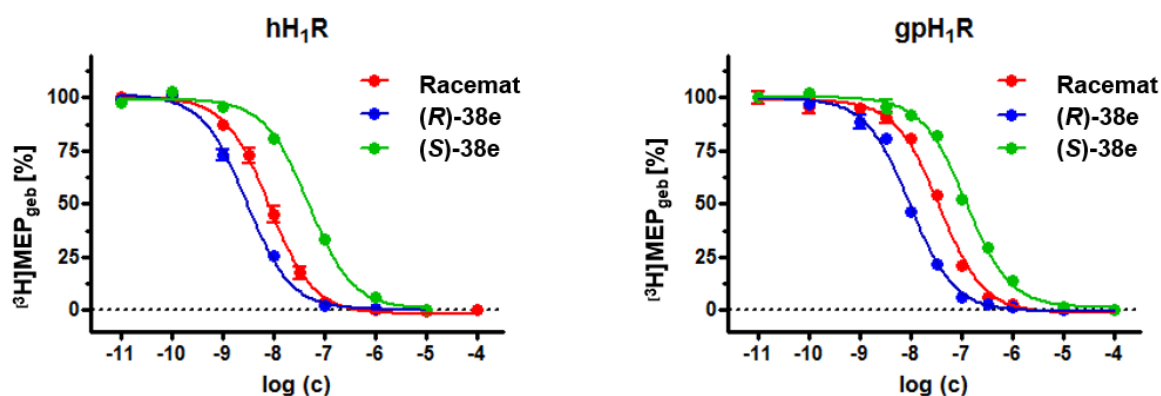


Abbildung 51: Repräsentative Verdrängungskurven im Kompetitions-Bindungs-Assay am hH₁R und gpH₁R von **38e**, (**R**)-**38e** und (**S**)-**38e**.

Bei den beiden Enantiomeren der Verbindung **38e** erwies sich, wie in vorherigen Modelling-Experimenten vermutet [108], das *R*-Enantiomer als Eutomer (**Abb. 51**). Der pK_i am hH₁R sowie am gpH₁R lag um etwa eine Größenordnung höher als der des *S*-Enantiomers.

Tabelle 8: pEC_{50} -Werte aus dem GTP γ S-Assay am hH₄R für die Verbindung **38l**, **38e** sowie deren Enantiomere [108].

Verbindung	pEC_{50}	E_{max}
Histamin	8.08 ± 0.15	1
38l	<5	inv. ag
38e	<5	inv. ag.
(R)- 38e	<5	inv. ag.
(S)- 38e	<5	inv. ag.

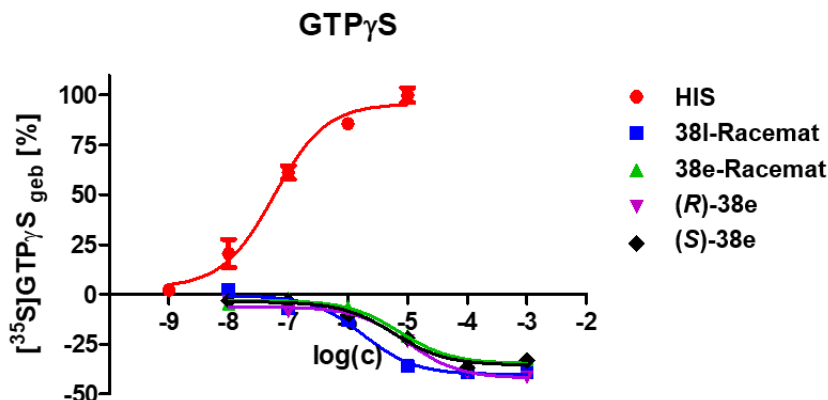


Abbildung 52: Repräsentative Kurven im $\text{GTP}_{\gamma\text{S}}$ -Assay am hH_4R der Verbindungen **38I**, **38e**, **(R)-38e** und **(S)-38e**.

Um zudem Informationen über die Funktionalität der Oxepin-Derivate zu erhalten, wurden das Racemat **38I**, das Racemat **38e** sowie die entsprechenden Enantiomere am hH_4R im $\text{GTP}_{\gamma\text{S}}$ -Assay untersucht (**Tabelle 8**). Dabei wurden sehr moderate pEC_{50} -Werte bestimmt ($pEC_{50} < 5$), allerdings erwiesen sich die Verbindungen im Gegensatz zu Oxazepin-Derivaten als inverse Agonisten [108] (**Abb. 52**).

Tabelle 9: pA_2 -Werte aus dem Ileums-Assay am gpH_1R für die Verbindung **38e** sowie deren Enantiomere [108]

Verbindung	Depression	Konzentrationsbereich der Schild-Analyse	pA_2	Steigung ^a
38e	$\geq 1 \text{ M}$	3.16 nM - 1 μM	8.55 ± 0.30	0.94 ± 0.04^a
(R)-38e	$\geq 316 \text{ nM}$	1 nM - 1 μM	8.68 ± 0.21	0.78 ± 0.03^b
(S)-38e	$\geq 316 \text{ nM}$	10 nM - 3.16 μM	8.03 ± 0.23	0.78 ± 0.03^b

^a aus der Schild-Analyse ermittelte Steigung

^b Steigung signifikant von 1 verschieden, $p < 0.001$

Die Verbindungen wurden zunächst als stille Antagonisten identifiziert. Ohne die Präinkubation mit Histamin war kein Effekt durch die Erhöhung der Ligandkonzentration messbar. Am isolierten Meerschweinchen-Ileum wurden Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Histamin unter Präinkubation mit **38e** bzw. **(R)-38e** und **(S)-38e** aufgenommen. Die ermittelten pA_2 -Werten lagen im Bereich von 8.03 - 8.68 (**Tabelle 9**). Beispielhaft sind einige dieser Kurven sowie die entsprechenden Schild-Plots gezeigt (**Abb. 53**). Die Steigung der beiden Enantiomere ist weitgehend identisch, jedoch signifikant von 1 verschieden, zudem ist in den Kurven bei höherer Antagonist-Konzentration eine Depression zu verzeichnen.

Dies führt zu der Schlussfolgerung, dass diese am $g\text{pH}_1\text{R}$ nicht als reine kompetitive Antagonisten wirken. Die Steigung des Racemats unterschied sich deutlich von der Steigung der Enantiomere, es konnte jedoch keine eindeutige Erklärung dafür gefunden werden. Wie bei den Kompetitions-Bindungs-Assays erwies sich das *R*-Enantiomer als das Eutomer [108].

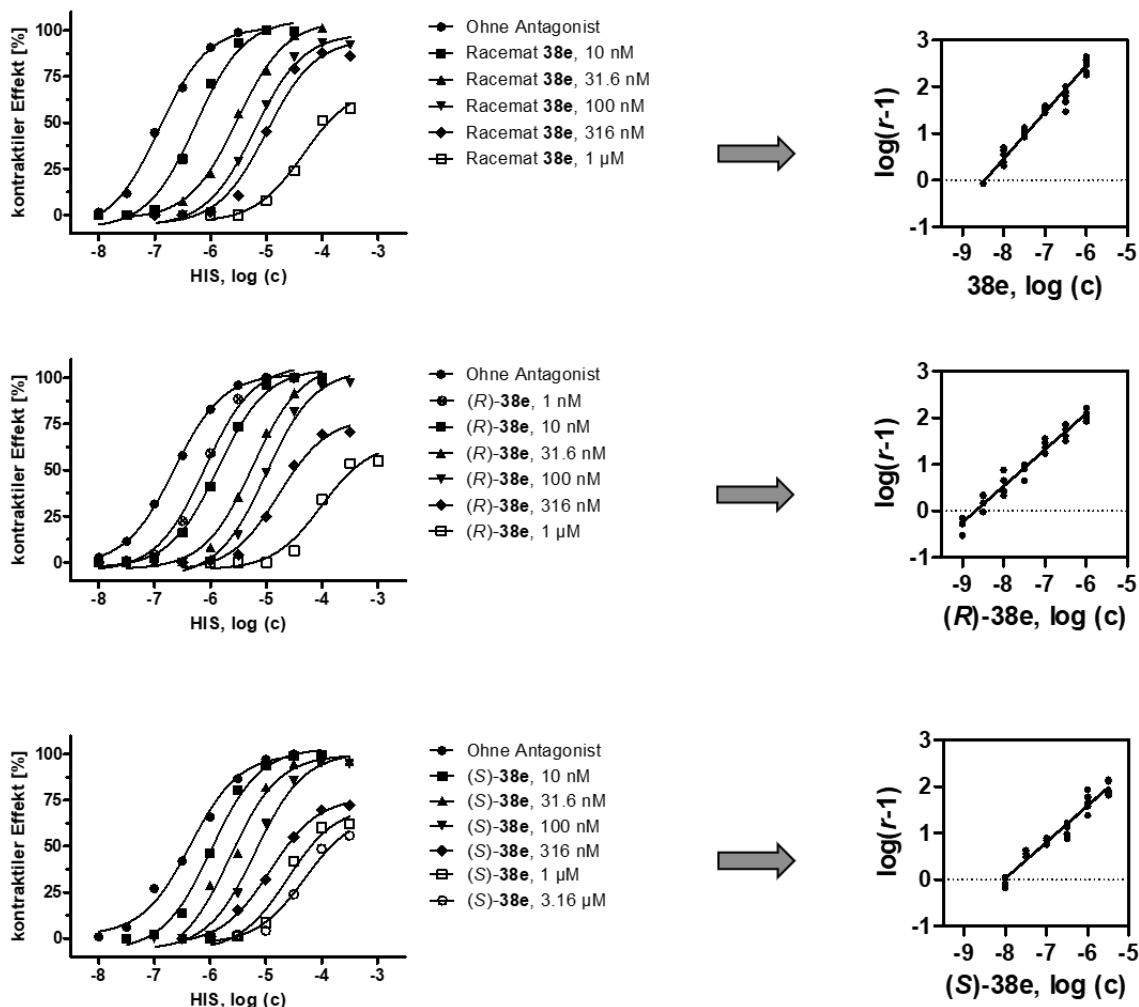


Abbildung 53: Konzentrations-Wirkungskurven (links, repräsentative Kurven): Kontraktion des Meerschweinchen-Ileums, verursacht durch Histamin in Abwesenheit und bei Präinkubation der Antagonisten **38e**, **(R)-38e** und **(S)-38e**. Daraus wurden die entsprechenden Schildplots erstellt (rechts, Gesamtauswertung) [108].

4.4.2 Variationen an der basischen Struktureinheit

4.4.2.1 Austausch des Piperazin-Rings an der Doxepin-Leitstruktur

Ausgehend vom Doxepin-Derivat **38e** wurde eine weitere Reihe von Substanzen synthetisiert.

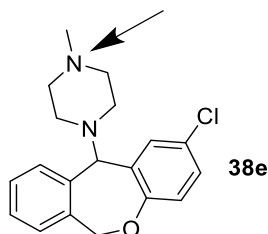
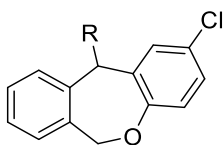


Abbildung 54: Piperazin-Stickstoff bei **38e**, der für die Bindungsaffinität als essenziell angesehen wird

Dabei wurde der Einfluss der Ringvergrößerung von Piperazin zu Homopiperazin, der Einfluss der Methylierung am Piperazin-Stickstoff sowie dessen Einfluss in Position 4 (**Abb. 54**) untersucht (**Tabelle 10**).

Tabelle 10: pK_i -Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH_1R und hH_4R sowie pA_2 -Werte der Verbindungen **39a-d** und **38e**.



Verbindung	R	$pK_i(hH_1R)$	$pA_2(gpH_1R)$	$pK_i(hH_4R)$
39a		7.84 ± 0.27	7.41 ± 0.08	<5
38e		8.42 ± 0.04	8.55 ± 0.30	<5
39b		7.39 ± 0.12	7.48 ± 0.08	<5
39c		7.44 ± 0.18	8.21 ± 0.05	<5
39d [121]		<5	6.40 ± 0.14	<5

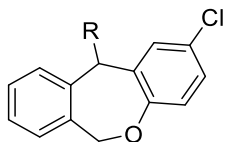
Eine Ringvergrößerung vom Piperazin (**39a**) zum Homopiperazin (**39b**) bzw. vom Methylpiperazin (**38e**) zum Methylhomopiperazin (**39c**) führte am hH₁R zu einer Abnahme der Affinität, im zweiten Fall sogar zu einer Abnahme um den Faktor 10. Am gpH₁R war dieser Effekt nicht zu beobachten. Der Austausch der methylierten Piperazin-Verbindung (**38e**) zur Piperazin-Verbindung (**39a**) führte sowohl am hH₁R als auch am gpH₁R zu einer starken Affinitätsabnahme. Beim Vergleich von Methylhomopiperazin (**39c**) und Homopiperazin (**39b**) war dieser Effekt nur am gpH₁R zu verzeichnen. Die Verbindung mit Piperidin (**39d**) war äußerst schwach affin am hH₁R und mäßig affin am gpH₁R. Daher konnte die Vermutung, dass die Basizität des Piperazin-Stickstoffs in Position 4 (**Abb. 54**) essenziell für die Rezeptoraffinität ist, weiter bestärkt werden. Unterschiede zwischen pA₂ und pK_r-Werten sind auf Spezies-abhängige Rezeptorunterschiede sowie den unterschiedlichen Assay-Typ zurückzuführen. Alle Verbindungen **39a-d** zeigten nur schwache Affinitäten am hH₄R, womit die Verbindungen **39a-c** als selektive hH₁R-Liganden bezeichnet werden können.

4.4.2.2 Oxepin-Liganden mit weiteren Variationen des basischen Zyklus

In der darauffolgenden Oxepin-Serie wurde der Einfluss eines Linkers zwischen Piperazin-Ring und Trizyklus **39e** bzw. zwei kurzen Kohlenstoffketten am basischen Stickstoff des Piperazin-Rings (**39f**, **39g**) untersucht, des Weiteren eine Verbindung mit einem aliphatischen, basischen Amin (**39h**) und eine Verbindung mit einem Pyridin-Ring an Stelle des Piperazin-Rings (**39i**) (**Tabelle 11**). Der Linker zwischen Piperazin-Ring und Trizyklus bei **39e** führte zu einem Affinitätsverlust am hH₁R um etwa den Faktor 10 im Vergleich zu der Verbindung **39a**. Der größere Abstand zwischen den beiden Struktureinheiten ist für die Affinität an diesem Rezeptor offenbar nachteilig. Eine moderatere Affinitätsabnahme ließ sich für die Verbindungen mit den Linkern am basischen Stickstoff des Piperazin-Rings verzeichnen. Als äußerst ungünstig erwies sich der Austausch des Piperazin-Rings gegen ein aliphatisches Amin, hier wurde nur noch eine moderate Affinität zum hH₁R festgestellt. Die Rigidität des Piperazins trägt offensichtlich zu einer besseren Ligand-Rezeptor-Bindung bei. Der Austausch gegen den Pyridin-Ring bei **39i** führte zum kompletten Affinitätsverlust. Alle Verbindungen **39e-i** zeigten nur schwache Affinität zum hH₄R, der Abstand zwischen Trizyklus und Piperazin-Ring verbesserte die Affinität im Vergleich zu **39a** nicht. Bei **39i** war

überhaupt keine Affinität feststellbar. Damit führte der Austausch des Piperazin-Rings gegen die untersuchten Substituenten zu keiner Affinitätssteigerung am hH₄R.

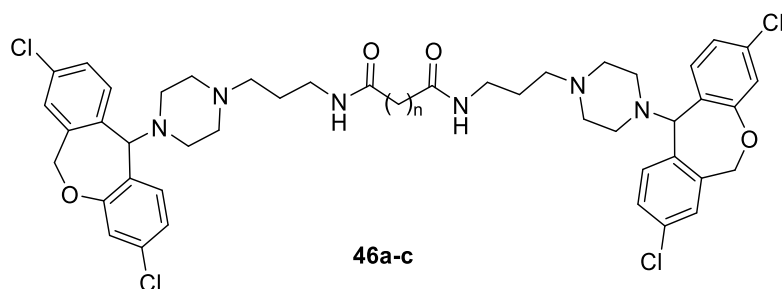
Tabelle 11: p*K_i*-Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH₁R und hH₄R der Verbindungen **39e-39i**.



Verbindung	R	p <i>K_i</i> (hH ₁ R)	p <i>K_i</i> (hH ₄ R)
39e		6.89 ± 0.13	<5
39f		7.49 ± 0.11	<5
39g		7.22 ± 0.15	<5
39h		5.95 ± 0.03	<5
39i		inaktiv	inaktiv

4.4.3 Homobivalente Liganden

Drei homodimere Verbindungen **46a-c** wurden synthetisiert und in Kompetitions-Bindungsstudien am hH₁R und hH₄R untersucht. Die resultierenden p*K_i*-Werte sind in **Tabelle 12** dargestellt.

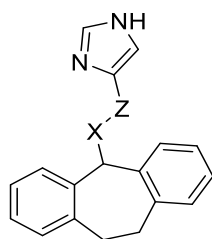
Tabelle 12: p*K*_i-Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH₁R und hH₄R der Verbindungen **46a-c**

Verbindung	n	p <i>K</i> _i (hH ₁ R)	p <i>K</i> _i (hH ₄ R)
38I		8.44 ± 0.10	5.27 ± 0.02
46a	4	7.08 ± 0.04	5.37 ± 0.12
46b	6	6.68 ± 0.05	<5
46c	8	6.70 ± 0.13	<5

Für die drei Verbindungen wurde **38I** als Pharmakophor zum Vorbild genommen, die Wahl der drei Spacer orientierte sich an Studien von McRobb et al. [134] zu homobivalenten Dopamin-Liganden. Für alle drei Verbindungen wurde ein Affinitätsverlust am hH₁R im Vergleich zum Monomer verzeichnet, die geringste Abnahme für **46a** mit dem kürzesten Spacer. Auch am hH₄R führten die beiden längeren Spacer zu einer Affinitätssenkung, bei **46a** mit dem kürzesten Spacer blieb die Affinität im Bereich des monomeren Pharmakophors. Aus diesen Ergebnissen ließ sich die Annahme ableiten, dass nur eines der Pharmakophore an den Rezeptor bindet, während das andere ungebunden bleibt. Die Ergebnisse liefern daher keinen Anhaltspunkt für eine allosterische Bindungsstelle an den beiden Rezeptoren. Um eine solche Bindungsstelle gänzlich auszuschließen, müssten jedoch noch weitere Studien mit verschiedenen Spacerlängen durchgeführt werden.

4.4.4 Imidazol-Verbindungen

Bei verschiedenen Quinazolin-Verbindungen hatte die Verbindung der Pharmakophore mit einem Imidazol-Ring zu einer Erhöhung der Affinität am hH₄R geführt (**Kapitel 1, 21, 22**) [109]. Daher wurden ausgehend von Histamin oder von der Urocaninsäure verschiedene Dibenzosuberone-Imidazol-Verbindungen synthetisiert (**Kapitel 3**) und in Kompetitions-Bindungs-Assays am hH₁R und hH₄R untersucht (**Tabelle 13**).

Tabelle 13: pK_i -Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH_1R und hH_4R der Dibenzosuberone-Verbindungen mit einem Imidazol-Ring

Verbindung	X	Z	$pK_i(hH_1R)$	$pK_i(hH_4R)$
48a	-NH-(CH ₂) ₂ -NH-		<5	<4
48b	-NH-(CH ₂) ₃ -NH-		5.01 ± 0.15	<4
48c	-NH-(CH ₂) ₇ -NH-		5.53 ± 0.14	<5
48d			5.85 ± 0.15	<5
49a	-NH-(CH ₂) ₂ -NH-		5.73 ± 0.30	<5
49b	-NH-(CH ₂) ₃ -NH-		5.72 ± 0.27	<5
49c	-NH-(CH ₂) ₇ -NH-		5.25 ± 0.06	5.07 ± 0.04
49d			<5	<4
50	-NH-(CH ₂) ₇ -NH-	-(CH ₂) ₃ -	5.53 ± 0.28	6.35 ± 0.30
54	-NH-(CH ₂) ₇ -NH-	-(CH ₂) ₂ -	<5	6.28 ± 0.19
55	-NH-(CH ₂) ₂ -NH-	-(CH ₂) ₂ -	6.74 ± 0.21	5.44 ± 0.04
61[154]		-(CH ₂) ₃ -	8.79 ± 0.30	5.25 ± 0.10
62		-(CH ₂)-	8.93 ± 0.11	<5

Bei der Betrachtung der pK_r -Werte am hH_1R fällt auf, dass Verbindungen mit einer Amidfunktion am Piperazin-Ring oder am Amin-Spacer (**48a-d**, **49a-d**) nicht toleriert wurden. Der Grund dafür liegt wahrscheinlich in den veränderten Säure-Base-Eigenschaften der Amid-Funktion verglichen mit dem Amin. Alle Verbindungen mit einer Amid-Funktion wiesen deutlich erniedrigte pK_r -Werte im Vergleich zu **38q** auf. Auch der lange Aminoheptan-Linker bei **50** und **54** zeigte sich ungünstig für die Affinität. Ein kurzer aliphatischer Linker (**55**) erniedrigte die Affinität weniger stark. Verbindungen mit einem verbrückten Piperazin-Ring zwischen Trizyklus und Imidazol-Ring (**61**, **62**) hingegen wiesen hohe Affinität am hH_1R auf. Hier wurde die Affinität durch den Imidazol-Ring sogar leicht erhöht im Vergleich zu **38q** (Faktor 1.1). Für den hH_4R -Rezeptor hingegen galt das entgegengesetzte Prinzip. Hier wiesen Verbindungen mit dem längsten aliphatischen Linker die höchste Affinität zum hH_4R auf (**50**, **54**). Mit einem relativ langen Linker zwischen Piperazin-Ring und Imidazol-Ring wie bei **61** wurde auch der Piperazin-Ring eher toleriert. Trotz der Affinitätssteigerung durch den mit langen aliphatischen Linkern verbundenen Imidazol-Ring lag der pK_r -Wert dennoch im eher moderat affinen Bereich. Der kurze Linker bei **62** führte zu sehr niedrigen Affinitäten am hH_4R . Verbindungen mit Amid-Funktionalitäten am Piperazin-Ring (**48a-d**, **49a-d**) waren auch am hH_4R wenig affin. Durch die Gegensätzlichkeit der Affinitätssteigerung am hH_1R und hH_4R erwies sich der Weg, Imidazol mit Dibenzosuberone zu verknüpfen, als schwierig, um hierbei ausgewogene Affinitäten zu erzielen (**Abb. 55**). Durch längere Linker am Piperazin-Ring könnte an beiden Rezeptoren eine ausgewogene Affinität erzielt werden.

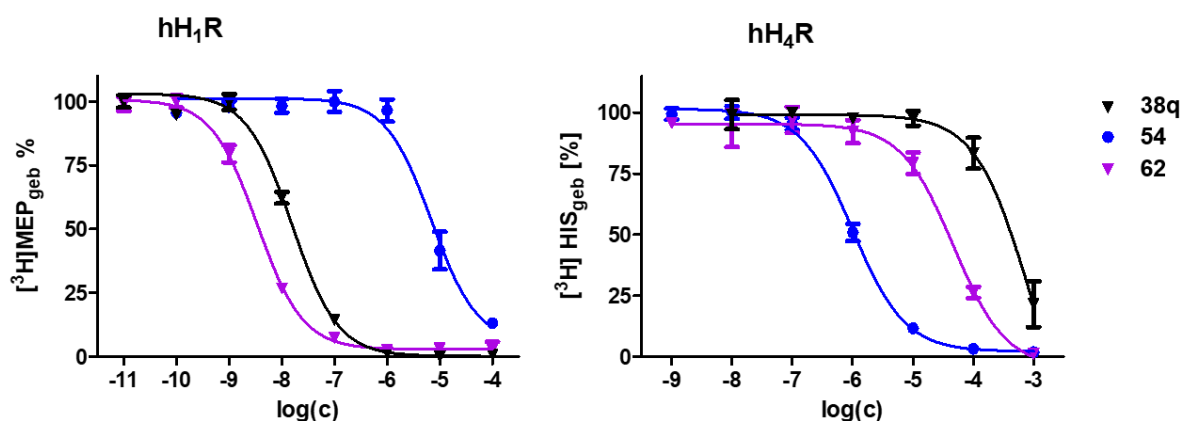


Abbildung 55: Kompetitions-Bindungskurven am hH_1R und hH_4R zweier Imidazol-Dibenzosuberone-Verbindungen sowie deren Vergleich zu **38q**

Die Verbindungen **50**, **55** und **61** mit einer vergleichsweise hohen Affinität am hH₄R und moderaten bis hohen Affinität am hH₁R wurden zudem am hH₃R getestet (**Tabelle 14**).

Tabelle 14: p*K_i*-Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH₃R ausgewählter Imidazol-Doxepin-Derivate

Verbindung	p <i>K_i</i> (hH ₃ R)
50	5.86
55	5.95
61	5.80

Bei Wan korrelierte die Affinität am hH₄R mit der Affinität zum hH₃R [109]. Wie es auch bei den dort beschriebenen Liganden der Fall war, zeigten die Liganden mit langen Linkern zwischen Imidazol-Ring und eigentlichem Pharmakophor (**50**, **55**, **61**, **Abb. 56**) am hH₃R eine höhere Affinität als die Verbindung **38I** mit einem p*K_i*-Wert von 5.08 [108].

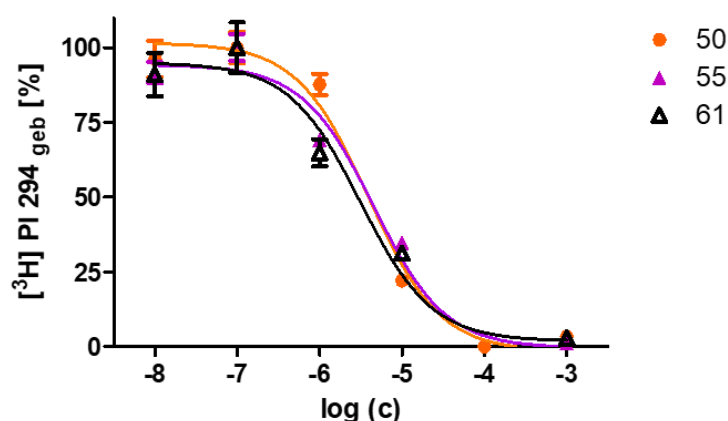


Abbildung 56: Kompetitions-Bindungskurven am hH₃R ausgewählter Imidazol-Doxepin-Derivate

4.4.5 Carbazol-Liganden

Die am hH₄R gescreenten Carbazol-Derivate **63** und **64** [113] dienen als Leitstruktur für die vier im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Carbazol-Verbindungen. Diese wurden in Kompetitions-Bindungs-Assays am hH₁R und hH₄R analysiert. Am hH₁R zeigten alle Verbindungen eine geringe (**65**, **68**, **72** und **74**) bis gar keine Affinität (**Tabelle 15**).

Tabelle 15: pK_r -Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH_1R und hH_4R der Carbazol-Verbindungen

Verbindung	X	Z	$pK_r(hH_1R)$	$pK_r(hH_4R)$
65 [155]		H	5.63 ± 0.02	<5
68		H	5.64 ± 0.28	<5
72		H	<5	5.67 ± 0.10
74	-CH ₂ -CH ₃		<5	5.71 ± 0.07

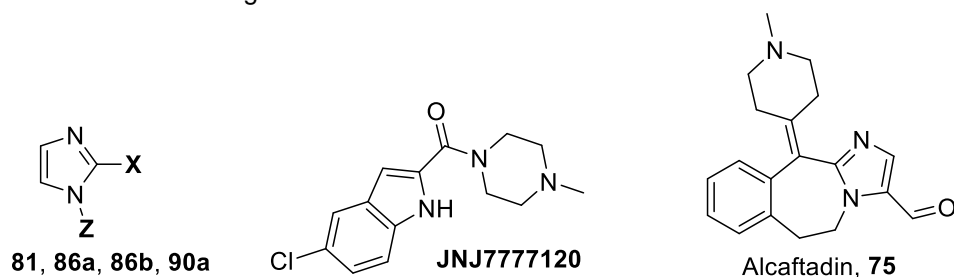
Im Gegensatz zu den bisherigen Trizyklen scheint das komplette aromatische Ringsystem durch seine räumliche Struktur nicht in die Bindungstasche zu passen. Eine Verknüpfung des Imidazol-Rings mit dem Stickstoff im zentralen Ring des Trizyklus wurde am hH_4R nicht toleriert, die Verknüpfung mit dem äußeren aromatischen Ringsystem (**74**) führte zu einer moderat affinen Verbindung. Vermutlich ließe sich die Affinität hier weiter durch die Synthese von Verbindungen ohne Amid-Funktionalität steigern, jedoch wäre am hH_1R vermutlich weiterhin keine Affinität gegeben. Verbindung **74** wurde zudem am hH_3R untersucht und wies mit einem pK_r -Wert 5.76 eine moderate Affinität auf, wodurch diese im gleichen Bereich lag wie der pK_r -Wert am hH_4R .

4.4.6 Alcaftadinliganden

4.4.6.1 Offenkettige Alcaftadin-Liganden

Die Strukturverwandtschaft zu **JNJ7777120** [160] und die Idee eines Fragment-Screenings zur nachfolgenden Synthese von verschiedenen substituierten Alcaftadin-Derivaten [114] gaben Anstoß zur Synthese der vier Verbindungen **81**, **86a**, **86b** und **90a** (Tabelle 16).

Tabelle 16: pK_i -Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH_1R und hH_4R der offenkettigen Alcaftadin-Verbindungen.



Verbindung	X	Z	$pK_i(hH_1R)$	$pK_i(hH_4R)$
81 [165]		H	< 4	< 4
86a			< 5	< 4
86b			< 4	< 4
90a [159]			5.88 ± 0.30	< 5
Alcaftadin [114]			8.32 ± 0.23	< 5
JNJ7777120			<5*	$7.27 \pm 0.39^{**}$

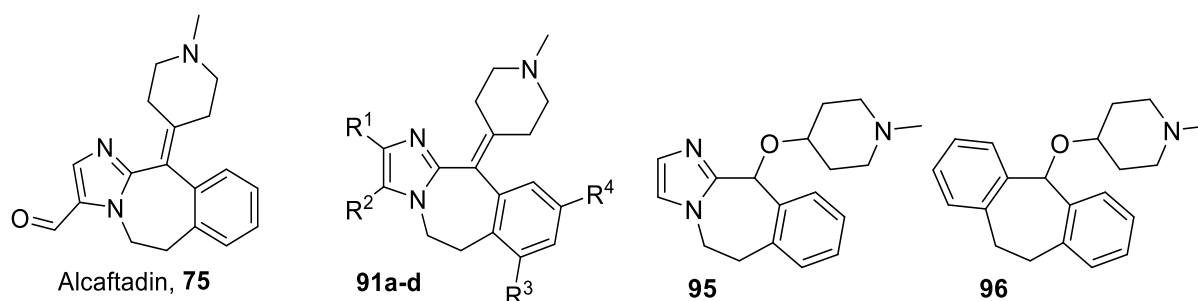
* Thurmond et al. [161] **Wagner et al. [105]

Alle vier untersuchten Verbindungen zeigten eine sehr deutliche Affinitätsabnahme im Vergleich zu Alcaftadin am hH₁R. Dies machte ein Fragment-Screening nicht möglich. Die Verbindung **90a** war mit einem p*K*_i-Wert von 5.88 als einzige moderat affin. Am hH₄R war keine Affinität vorhanden.

4.4.6.2 Substituierte Alcaftadin-Derivate

Basierend auf einem Patent von Berrebi-Bertrand et al. [115] wurden fünf verschieden substituierte Alcaftadin-Derivate synthetisiert (**Tabelle 17**).

Tabelle 17: p*K*_i-Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH₁R und hH₄R der Alcaftadin-Derivate sowie der Dibenzosuberone-Verbindung **96**



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	p <i>K</i> _i (hH ₁ R)	p <i>K</i> _i (hH ₄ R)
Alcaftadin	H	-CHO	H	H	8.32 ± 0.23	< 5
91a [159]	H	H	H	H	8.84 ± 0.11	< 5
91b	4-F-Phe-	H	H	H	9.08 ± 0.01	6.44 ± 0.10
91c [159]	H	H	Me	H	9.65 ± 0.18	< 5
91d [159]	H	H	H	Me	8.87 ± 0.14	< 5
91e [159]	H	-CH ₂ OH	H	H	7.66 ± 0.16	< 5
95 [113]					9.13 ± 0.01	5.58 ± 0.08
96 [172]					10.08 ± 0.25	5.93 ± 0.15

In dem Patent werden die Alcaftadin-Derivate mit Sauerstoff-Linker als hH₄R-Liganden beschrieben, deren Substituenten Einfluss auf die Affinität nehmen. Diese werden jedoch lediglich drei verschiedenen Gruppen (A: *K*_i < 1000, B: *K*_i < 300, C: *K*_i < 30) zugeteilt, weshalb ein gezieltes Herausgreifen von Substituenten erschwert wird. Auch bei den daran anlehnend synthetisierten Alcaftadin-Derivaten **91a-e** konnte der Substituenten-Einfluss auf die Rezeptoraffinität nachgewiesen werden. Für Alcaftadin wurde eine niedrigere Affinität zum hH₄R bestimmt als in der Literatur beschrieben (p*K*_i(hH₄R) = 5.58 [161]).

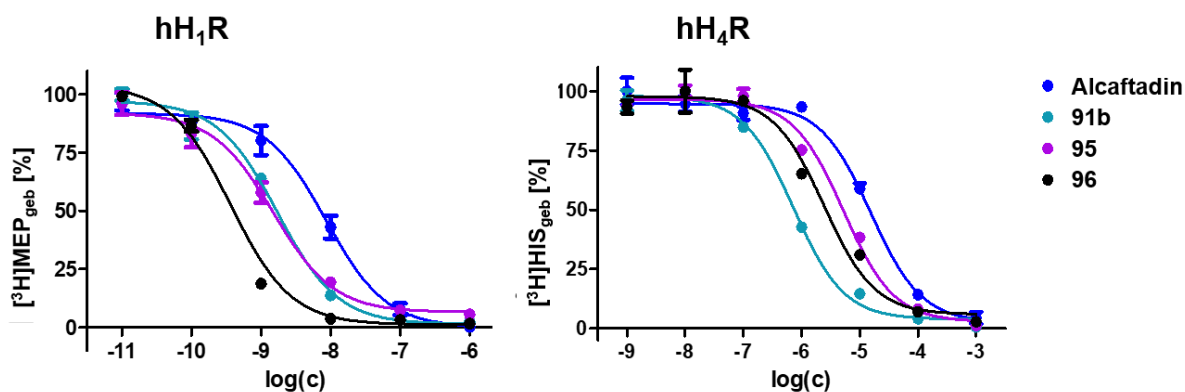


Abbildung 57: Kompetitions-Bindungsstudien am hH₁R und hH₄R zweier verschieden substituierter Alcaftadin-Derivate **91b** und **95** im Vergleich mit Alcaftadin

Bei dem unsubstituierten Derivat (**91a**) nahm die Affinität im Vergleich zu Alcaftadin mit der Aldehyd-Funktionalität am hH₁R zu, eine Alkohol-Funktionalität (**91e**) hingegen erniedrigte diese deutlich. Am hH₄R waren auch diese beiden Verbindungen wenig affin. Ein Methylsubstituent am R³ (**91c**) erhöhte die Affinität am hH₁R um mehr als eine Zehnerpotenz, am R⁴ (**91d**) in schwächerem Maße, keinen signifikanten Einfluss hatten die beiden Substituenten auf die hH₄R-Affinität. Der 4-Fluorophenyl-Ring erwies sich als förderlicher Substituent, am hH₁R und am hH₄R konnte eine deutliche Erhöhung des p*K_i*-Werts festgehalten werden, am hH₄R lag dieser bei 6.44 (**Abb. 57**). Bei Berrebi-Bertrand et al. wurden stets Alcaftadin-Derivate mit Sauerstoff-Einfachbindungen untersucht [115]. Daher wurde mit **95** eine Verbindung getestet, bei der auch die Doppelbindung zum Piperidin-Ring gegen eine Sauerstoff-Einfachbindung ausgetauscht wurde. Am hH₁R sowie am hH₄R konnte eine deutliche Affinitätssteigerung vermerkt werden (**Abb. 57**). Zudem wurde die Verbindung **96** untersucht. Diese baut auf dem Dibenzosuberon-Trizyklus auf und der basische Piperidin-Ring ist ebenso wie in den Alcaftadin-Verbindungen bei Berrebi-Bertrand et al. über einen Sauerstoff mit dem Trizyklus verbunden. Diese Verbindung zeichnete sich im Vergleich zu der Verbindung **38q** ebenso durch eine Affinitätssteigerung an beiden Rezeptoren aus. Besonders am H₁R konnte mit einem p*K_i* von 10.08 eine enorm starke Affinität verzeichnet werden.

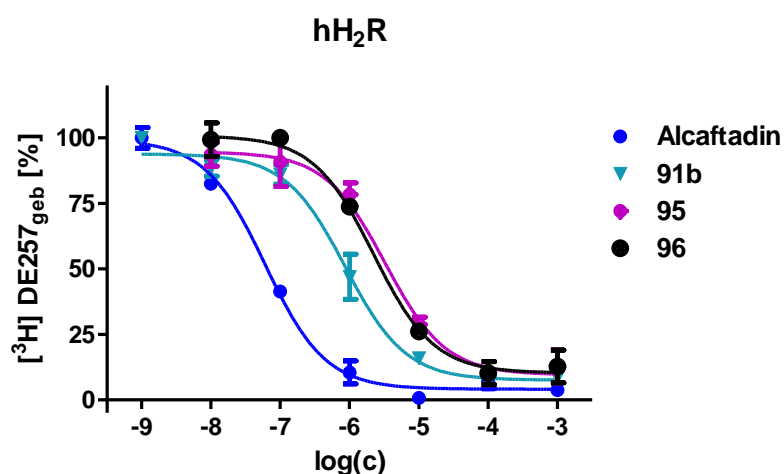
Da diese Alcaftadin-Derivate sich als vielversprechende Substanzklasse für potentielle H₁/H₄-Rezeptorliganden erwiesen, wurden diese auch am hH₂R und hH₃R auf ihre Affinitäten hin getestet, um die Rezeptorselektivität zu untersuchen (**Tabelle 18**).

Tabelle 18: pK_i -Werte aus Kompetitions-Bindungs-Assays am hH_2R und hH_3R der Alcaftadin-Derivate sowie des Dibenzosuberone-Derivats **96**

Verbindung	$pK_i(hH_2R)$	$pK_i(hH_3R)$
Alcaftadin	7.44	< 5
91a	6.74	< 5
91b	6.42	< 5
91c	6.48	< 4
91d	7.15	< 4
91e	6.15	< 4
95	5.65	< 4
96	5.95	< 4

n=1 am hH_2R und hH_3R

Alcaftadin zeigte wie in der Literatur beschrieben am hH_3R kaum Affinität, am hH_2R wurde auch hier ein hoher pK_i -Wert ermittelt [114]. Für die dualen H_1/H_4 -Rezeptorliganden ist diese Affinität unerwünscht. Alle synthetisierten Verbindungen wiesen im Vergleich zum Alcaftadin erniedrigte pK_i -Werte am hH_2R auf und lagen in einem Bereich von 5.65 - 7.15. Den niedrigsten Wert zeigte die Sauerstoff-verbrückte Verbindung **95** (Abb. 58). Die Dibenzosuberone-Verbindung **96** fiel ebenso in diesen Bereich. Am hH_3R waren alle Verbindungen genau wie die Leitstruktur Alcaftadin nicht affin.

**Abbildung 58:** Kompetitions-Bindungsstudien am hH_2R von **91b** und **95** im Vergleich mit Alcaftadin

4.4.6.3 DMR-Assay an hH₁R-HEK293T und hH₄R-HEK293T-Zellen von 91b

Da die Verbindung **91b** am hH₄R eine relativ hohe Affinität im Vergleich zu den anderen Verbindungen zeigte, sollte diese im funktionellen DMR-Assay an hH₄R-HEK293T-Zellen untersucht werden (durchgeführt von U. Seibel, Universität Regensburg, Lehrstuhl Prof. Buschauer †). Dabei konnte in einer Dreifachbestimmung am hH₁R ein pEC₅₀-Wert von 6.93 ± 0.13 ermittelt werden (**Tabelle 19**). Dieser liegt unter dem bestimmten pK_r-Wert.

Tabelle 19: pEC₅₀-Werte aus funktionellen DMR-Assays am hH₁R und hH₄R des Alcaftadin-Derivats **91b**

	hH ₁ R		hH ₄ R	
	pEC ₅₀	E _{max}	pEC ₅₀	E _{max}
HIS	7.51 ± 0.27	100	7.30 ± 0.17	100
91b	6.93 ± 0.13	-33.3 ± 2.22	n.d.	n.d.

Bei der Auswertung der Messung stach ins Auge, dass dieser Ligand im Vergleich zu Histamin zwar am hH₁R invers agonistisches Verhalten, am hH₄R jedoch agonistisches Verhalten zeigt (**Abb. 59**).

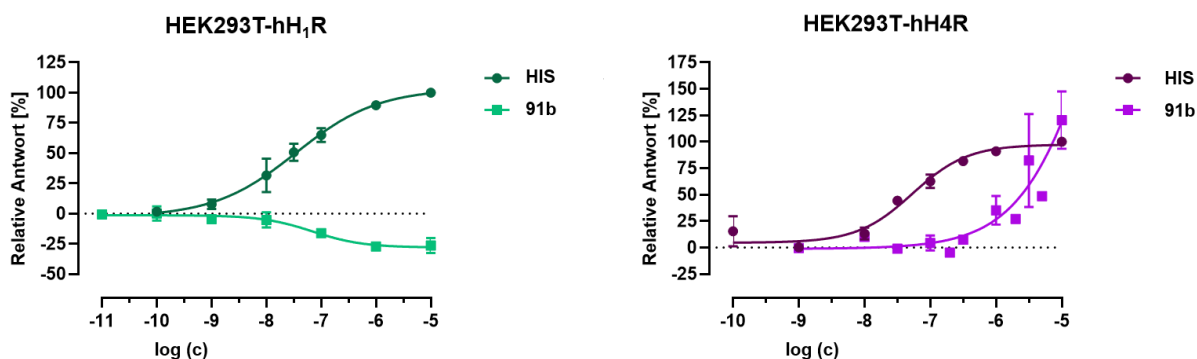


Abbildung 59: DMR-Kurven am hH₁R und hH₄R von **91b** Vergleich mit Histamin.

4.7 Diskussion

Eine Übersicht der synthetisierten Oxepin-Derivate ist in **Abb. 60** gegeben.

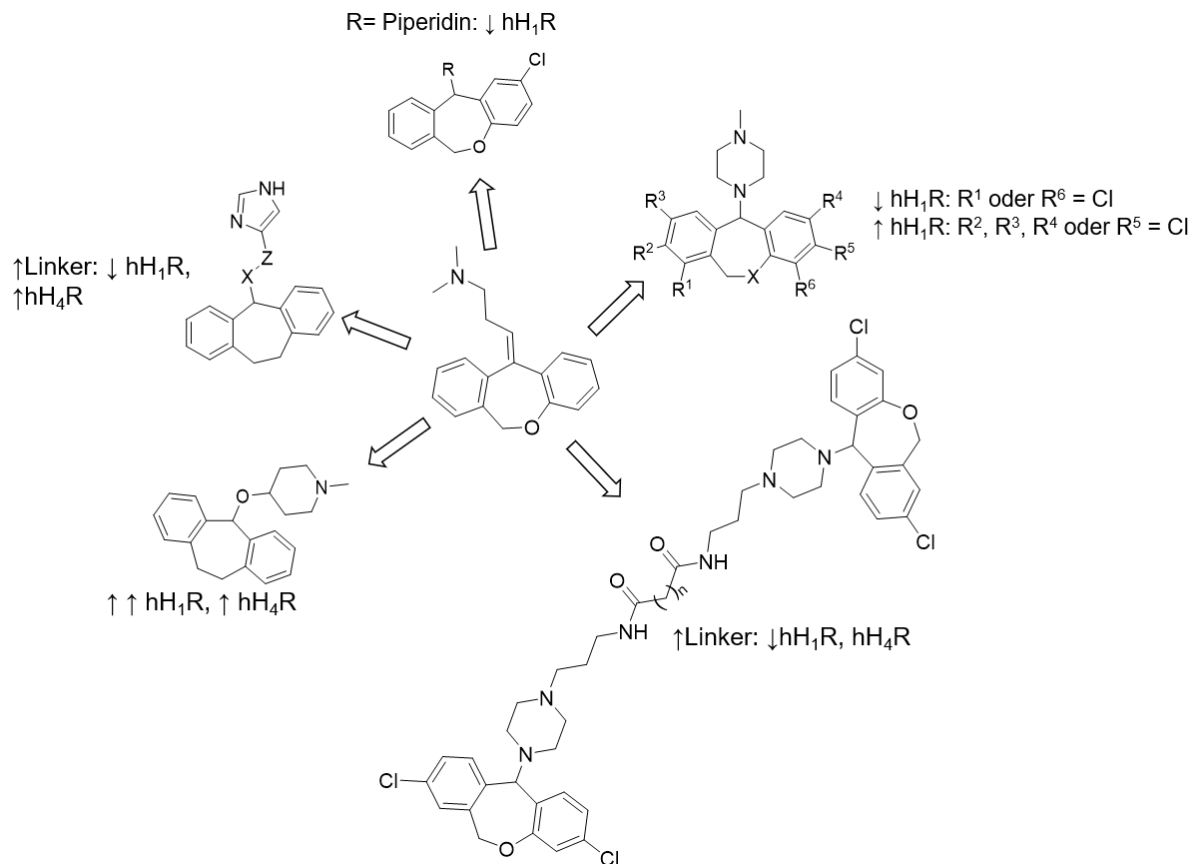


Abbildung 60: Übersicht zu den synthetisierten Oxepin-Derivaten

Ein verändertes Chlor-Substitutionsmuster beeinflusste die Affinität am hH₁R enorm (**Abb. 61**). Ein Chlor-Atom in Position R¹ oder R⁶ erwies sich dabei als nachteilig (**38b**, **38g-j**, **38m** und **38p**), wohingegen bei den anderen Derivaten höhere Affinitäten als beim unsubstituierten Oxepin-Derivat (**38a**) gemessen wurden. Das Dibenzosuberone-Derivat **38q** lag im gleichen Bereich.

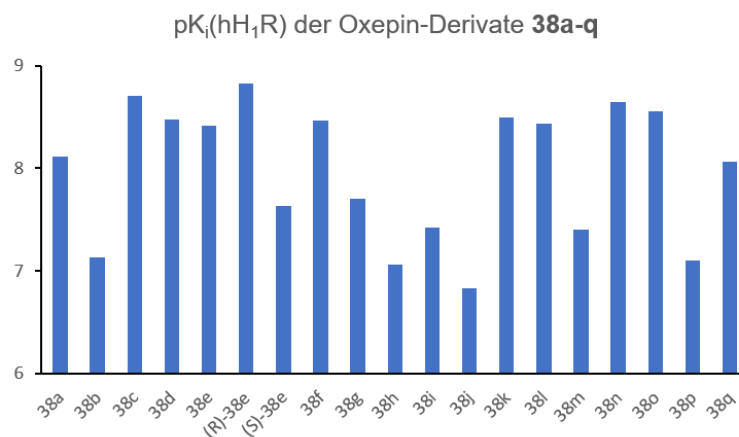


Abbildung 61: Übersicht der pK_i-Werte am hH₁R der Chlor-substituierten Oxepin-Derivate

Am hH₄R zeigten die Derivate keine oder nur mäßige Affinität. Wie erwartet wurde im GTP γ S-Assay von **38e** bzw. den Enantiomeren inverser Agonismus nachgewiesen. In der Literatur gibt es Vermutungen, dass eine Konformationsänderung, die durch die Ligandbindung am hochkonservierte Trp^{6.48} initiiert wird, dies verursacht [201]. Durch Veränderung des Substitutionsmusters am Trizyklus konnte anders als für die zum Vorbild genommenen Oxazepin-Derivate nur eine moderate Affinitätssteigerung am hH₄R erreicht werden.

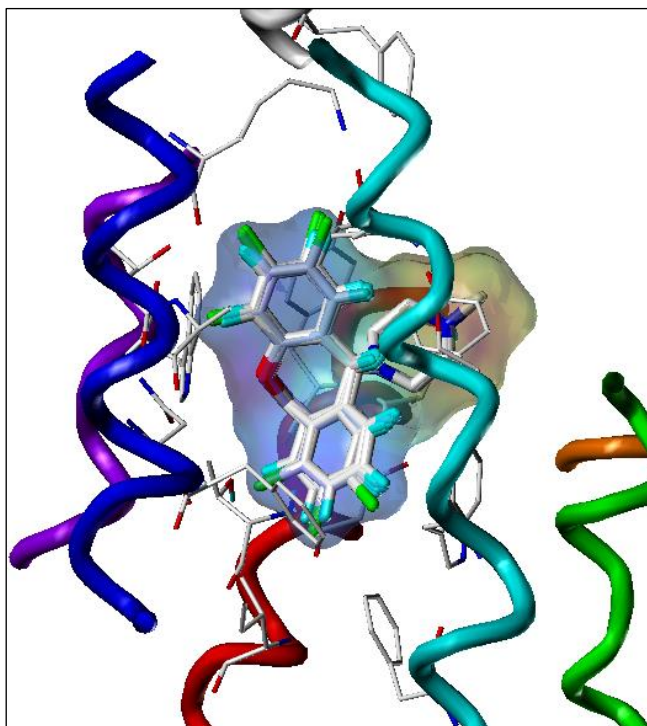


Abbildung 62: Bindung der Oxepin-Derivate an den hH₁R, dabei wird ein Überlapp aller Derivate **38a-p** gezeigt [108].

Für den hH₁- und den hH₄-Rezeptor wurde für den inaktiven Zustand ein Homologie-Modell generiert, wobei die Kristallstruktur des hH₁R mit dem gebundenen Doxepin als Templat verwendet wurde [108]. Dabei wurden Bindungsmodi für alle Chlor-substituierten Doxepin-Derivate in der orthosterischen Bindungstasche des hH₁R berechnet (**Abb. 62**). Diese ähneln dem hH₁R in der Kristallstruktur im Komplex mit dem Antagonisten Doxepin. Dabei bildet das *N*-Methylpiperazin in Sesselkonformation eine stabile elektrostatische Wechselwirkung mit dem Asp^{3.32}. Sowohl am hH₁R als auch am hH₄R wird der Trizyklus in die orthosterische Bindungstasche zwischen TM III, TM V und TM VI eingebettet, die hauptsächlich von den Aminosäuren Tyr^{3.33}, Thr^{3.37}, Thr^{5.42}, Phe^{5.47} sowie Phe^{6.44} und Trp^{6.48} (für hH₁R und hH₄R identisch), und Ile^{3.40}, Trp^{4.56}, Lys^{5.39}, Ala^{5.43}, Asn^{5.46} und Phe^{6.52} im Fall von hH₁R bzw. Val^{3.40}, Val^{4.56}, Leu^{5.39}, Ser^{5.43}, Glu^{5.46} und Ser^{6.52} im Fall von hH₄R gebildet wird.

Basierend auf den Simulationen für **(R)-38e** und **(S)-38e**, wurden auch für die Enantiomere **(R)-38a - (R)-38p** und **(S)-38a - (S)-38p** Docking-Modelle generiert [108]. Für jeden der Liganden wurden dabei drei leicht unterschiedliche Bindungszustände untersucht und die jeweilige mittlere Dockingenergie ermittelt, wobei die Gleichung $\Delta E = -RT \ln \left(\frac{1}{2} \exp(-\Delta E^{\text{berechnet, (R)-Enantiomer}}/(RT)) + \frac{1}{2} \exp(-\Delta E^{\text{berechnet, (S)-Enantiomer}}/(RT)) \right)$ verwendet wurde. Im Fall der beiden untersuchten Enantiomere **(R)-38e** und **(S)-38e** korrelierte diese mit den bestimmten pK_r -Werten und das **(R)**-Enantiomer konnte auch hier als Eutomer bestimmt werden. Eine Strukturanalyse des Ligand-Rezeptor-Modells für das unsubstituierte Derivat **38a** ergab, dass der Sauerstoff des Liganden im Fall des **(S)**-Enantiomers näher am Sauerstoff des Rezeptors angelagert ist. Daraus resultiert eine abstoßende elektrostatische Wechselwirkung. Daher wurde auch hier für das **(R)**-Enantiomer eine höhere Affinität vorhergesagt.

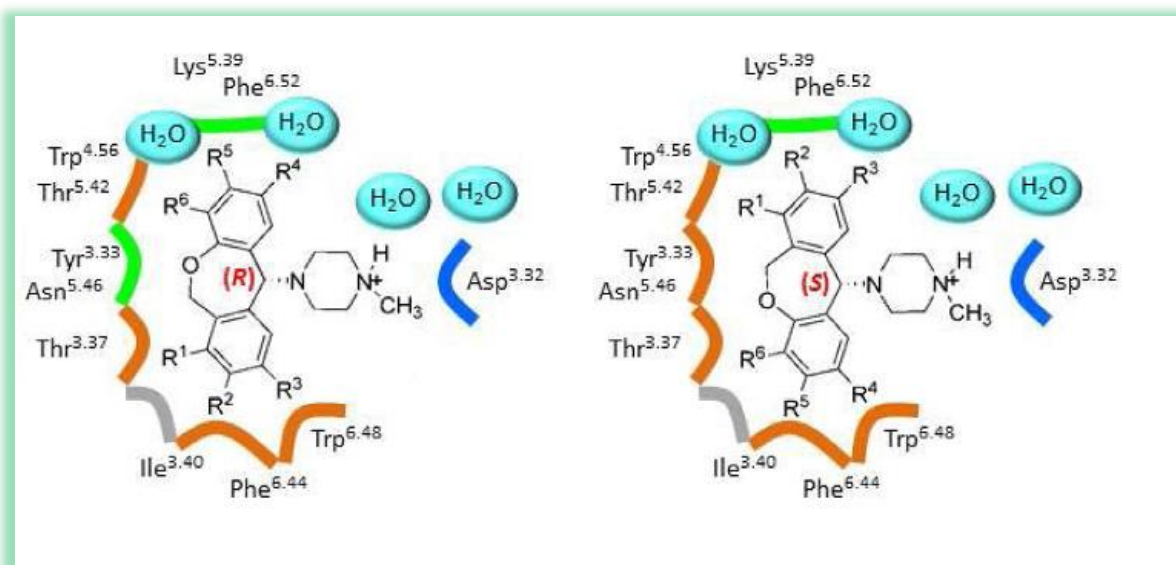


Abbildung 63: Strukturwirkungsbeziehungen der Oxepin-Derivate **38a-p** am hH_1R [108]

Diese Beobachtung gilt für die meisten Oxepin-Derivate, Ausnahmen bilden **38d**, **g**, **o** und **p** (**Abb. 63**). Im Fall von **38d** wurde dem **(S)**-Enantiomer eine höhere Affinität als dem **(R)**-Enantiomer zugeschrieben, da bei diesem die Chlor-Substitution am R^3 die energetisch nachteilige abstoßende Wechselwirkung der Sauerstoff-Atome ausgleicht. Auf Grund der Daten aus der Kristallstrukturanalyse und den berechneten Daten aus den Modelling-Studien kann davon ausgegangen werden, dass die Enantiomere der Oxepin-Derivate sich in ihrer Orientierung in der Bindungstasche unterscheiden. Beim **(R)**-Enantiomer ist das Chlor-Atom in den Positionen R^4 , R^5 und R^6 zum $\text{Thr}^{5.42}$, $\text{Trp}^{4.56}$, $\text{Lys}^{5.39}$ sowie zu Wassermolekülen benachbart. Beim **(S)**-Enantiomer hingegen ist dieses in Nachbarschaft zu $\text{Thr}^{3.37}$, $\text{Ile}^{3.40}$, $\text{Phe}^{6.44}$ und $\text{Trp}^{6.48}$. Für Derivate mit einem

Chlor-Atom am R¹, R² oder R³ kehrt sich dieser Effekt um. Vermutlich füllt das Chlor-Atom am R⁴ oder R⁵ beim (*R*)-Enantiomer bzw. am R² und R³ beim (*S*)-Enantiomer die Bindungstasche des hH₁R am Lys^{5.39} und Phe^{6.52} optimaler aus, was zu einer Affinitätssteigerung führt. Ein Chlor-Atom in Position R⁶ beim (*R*)-Enantiomer bzw. R¹ beim (*S*)-Enantiomer hat eine sterische Abstoßung zum Thr^{5.42} zur Folge. Ist hingegen das Chloratom in Position R¹ beim (*R*)-Enantiomer bzw. in Position R⁶ beim (*S*)-Enantiomer, führt das zu sterischer Abstoßung mit dem Thr^{3.37}, was eine Verschiebung des aromatischen Ringsystems von 0.7-0.9 Å in Richtung TM VI zur Folge hat. Des Weiteren führt ein Chlor-Atom in Position R² oder R³ beim (*R*)-Enantiomer bzw. R⁴ oder R⁵ beim (*S*)-Enantiomer zu sterischen Abstoßungen mit Ile^{3.40} und Trp^{6.48}. Außerdem lassen die Daten aus den Modelling-Experimenten vermuten, dass der Sauerstoff bei den (*S*)-Enantiomeren näher an negativ geladenen Partien des Rezeptors angelagert sind als beim (*R*)-Enantiomer, woraus wiederum eine Abstoßung resultiert.

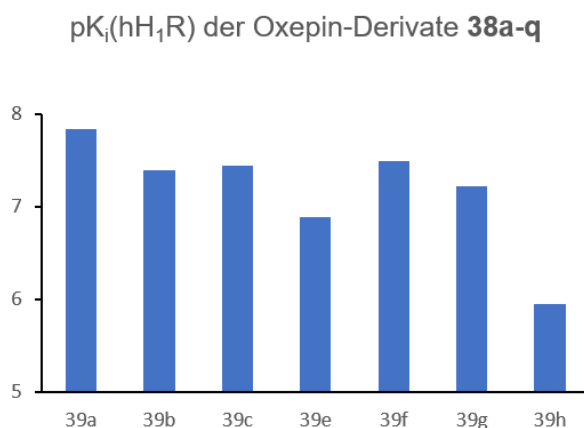


Abbildung 64: Übersicht der pK_i-Werte am hH₁R der Oxepin-Derivate mit Variationen der basischen Struktureinheit

Ebenso wie die Chlor-substituierten Oxepin-Derivate zeigten alle anderen Oxepin-Derivate mit einem basischen Amin am Piperazin-Ring hohe Affinitäten am hH₁R, ein Homopiperazin-Ring wurde ebenfalls toleriert (**Abb. 64, 39a-c, 39e und 39f**). Fehlte dieses zweite basische Amin jedoch, führte dies zu einem Affinitätsverlust. Auch der Austausch des Piperazin-Rings gegen eine aliphatische Kette hatte eine Affinitätsabnahme zur Folge (**Abb. 64, 39h**).

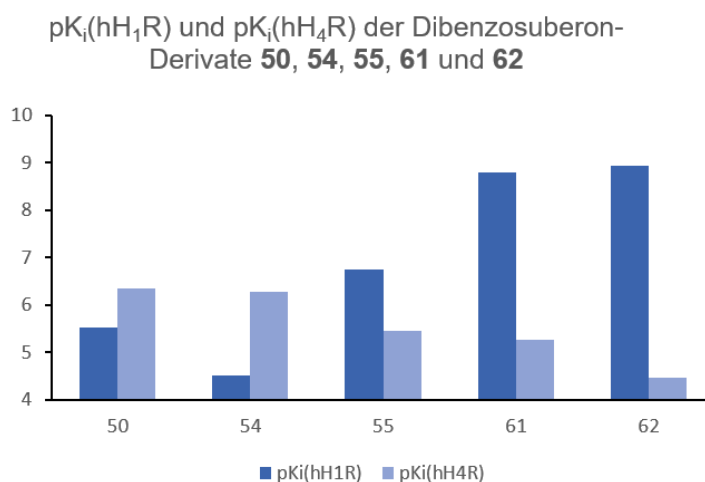


Abbildung 65: Übersicht der pK_r-Werte am hH₁R und hH₄R der Dibenzosuberone-Derivate, verlinkt mit einem Imidazol-Ring

Ein Imidazol-Ring, welcher über einen langen Linker mit dem Trizyklus verbunden war, führte zu einer leichten Affinitätssteigerung am hH₄R (**Abb. 65, 50, 54**). Diese ging jedoch mit einer Affinitätsabnahme am hH₁R einher. Verbindungen mit kürzeren Linkern und einem darin enthaltenen Piperazin-Ring waren hingegen am hH₁R affiner (**61, 62**). Ein kurzer aliphatischer Linker führte sowohl am hH₁R als auch am hH₄R nur zu moderater Affinität (**55**).

Anders als am hH₁R trägt der Piperazin-Ring beim hH₄R anscheinend nicht zur Rezeptoraffinität bei. Vermutlich ist bei den langen Linkern nur der Imidazol-Ring in die Bindungstasche eingebettet. Am hH₁R hingegen ist dieser lange Linker anscheinend hinderlich, wodurch es zu der Affinitätsabnahme kommt. Da der hH₁R und der hH₄R eine geringe Homologie aufweisen, ist es schwierig, beiden gerecht zu werden. Durch diese Studie konnten jedoch wichtige Einsichten in die Strukturwirkungsbeziehungen der beiden Rezeptoren gewonnen werden. Eine Amid-Bindung am Piperazin-Ring wurde an keinem der beiden Rezeptoren akzeptiert. Dies deckt sich mit bisherigen Studien [80, 110, 112, 203] in denen ein basischer Stickstoff als notwendig für die Affinität am hH₄R beschrieben wird. Die Liganden mit langen Linkern zwischen Imidazol-Ring und eigentlichem Pharmakophor (**50, 55 und 61**) zeigten im Vergleich zu **38I** mit einem pK_r-Wert von 5.08 [108] am hH₃R höhere Affinität. Die dimeren Ligand-Verbindungen führten sowohl am hH₁R als auch am hH₄R zu einer Affinitätsabnahme im Vergleich zum Monomer **38I**, weshalb diese keinen Nachweis für etwaige allosterische Bindungsstellen lieferten.

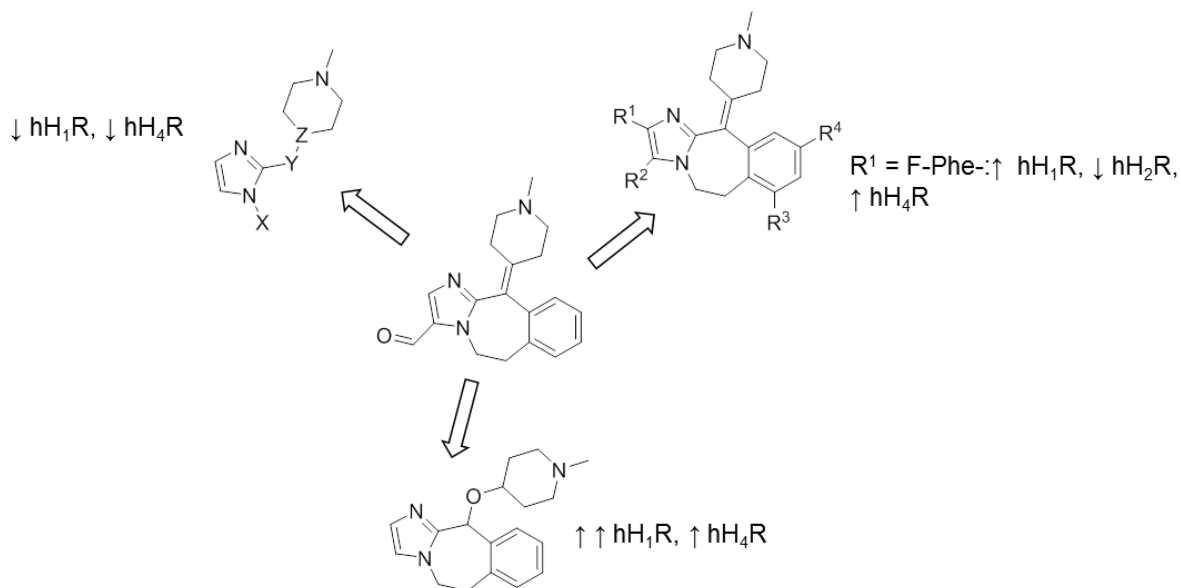


Abbildung 66: Übersicht zu den synthetisierten Alcaftadin-Derivaten

Bei den trizyklischen Alcaftadin-Derivaten zeigte sich, dass diese wie die Oxepin-Derivate am hH₁R äußerst affin waren. Offenkettige Derivate hingegen wurden nicht toleriert (**Abb. 66**).

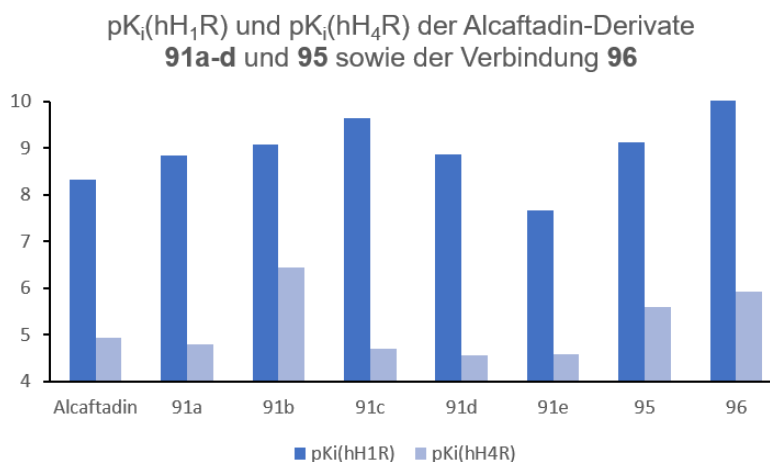


Abbildung 67: Übersicht der pK_r-Werte am hH₁R und hH₄R der Alcaftadin-Derivate sowie der Verbindung 96

Durch Variation des Substitutionsmusters konnte eine enorme Änderung des Affinitätsprofils am hH₄R erreicht werden (**Abb. 67**). Dieser Trizyklus scheint besser als der Oxepin-Trizyklus bzw. dessen Carbo-Analogen in die Bindungstasche des hH₄R zu passen. Es bleibt die Frage offen, ob durch die Entfernung der Aldehyd-Funktionalität, die am Alcaftadin vorhanden ist, die geringe Affinität zu den anderen GPCRs erhalten bleibt. Beim Screening verschiedener Substituenten erwies sich ein 4-Fluorophenyl-Substituent am Imidazol-Ring des Trizyklus (**91b**) als Affinitätsförderlich. Der Austausch der Doppelbindung gegen eine Sauerstoff-verbrückte

Einfachbindung war für die Affinität an beiden Rezeptoren günstig. Dies galt auch für das Dibenzosuberone-Derivat **96**.

Am hH₃R wiesen alle Alcaftadin-Verbindungen nur eine schwache Affinität auf, am hH₂R waren alle Verbindungen schwächer affin als Alcaftadin, jedoch wurden bei diesen Substituenten-abhängig moderate pK_i-Werte bestimmt.

Alcaftadin wird in der Literatur als Antagonist am hH₁R und am hH₄R beschrieben [114]. Im funktionellen DMR-Assay zeigte sich das untersuchte Derivat **91b**, welches unter den Alcaftadin-Derivaten die höchste Affinität gegenüber dem hH₄R hatte, nicht wie erwartet als Antagonist. Stattdessen wurde mit diesem Liganden ein inverser Agonist am hH₁R und ein Agonist am hH₄R gefunden. Vermutlich führt der große 4-Fluorophenyl-Rest zu einer Umorientierung in der Bindungstasche im Vergleich zum Alcaftadin.

5. Kapitel

Zusammenfassung und Ausblick

5. Zusammenfassung und Ausblick

In den letzten Jahren wurden erwähnenswerte Fortschritte bei der Suche nach dualen Histamin-Rezeptorliganden für den hH₁R und den hH₄R gemacht. So konnte bei Clozapin-abgeleiteten Liganden die Substituenten-Abhängigkeit am hH₁R und hH₄R gezeigt werden und die an beiden Rezeptoren affine Verbindung **26** veröffentlicht werden [108]. Die Clozapin-Derivate haben jedoch den Nachteil, dass diese am hH₄R agonistisches Verhalten zeigen. Wan gelang es, ausbalancierte Liganden mit agonistischem Verhalten an beiden Rezeptoren zu synthetisieren (**27**, **28**), jedoch zeigten diese kaum Rezeptorselektivität am hH₄R gegenüber dem hH₃R [109].

In dieser Arbeit wurden drei verschiedene Verbindungsklassen untersucht, bei denen die trizyklischen Verbindungen Doxepin, Carbazol und Alcaftadin als Vorbild für das Grundgerüst dienten. Für die Doxepin-abgeleiteten Oxepin-Derivate (**Abb. 68**) konnte der Substituenten-Einfluss am hH₁R wie bei den Clozapin-Derivaten gezeigt werden. Das optimalste Substitutionsmuster wurde für den hH₁R mit einem Chlor-Substituenten am R² gefunden, am hH₄R konnte ein moderat affiner Ligand durch die Chlor-Substitution am R² und R⁵ synthetisiert werden. Dieser Ligand wies am hH₁R einen hohen p*K*-Wert von 8.44 auf, am hH₄R einen p*K*-Wert von 5.27. Im Gegensatz zu den Clozapin-Derivaten wurden die Doxepin-Derivate im funktionellen Assay am hH₄R jedoch als inverse Agonisten identifiziert. Da der Wert am hH₄R niedriger ist als bei den Clozapin-Derivaten, scheint der Oxepin-Trizyklus schlechter als der Oxazepin-Trizyklus in die hH₄R-Bindungstasche zu passen.

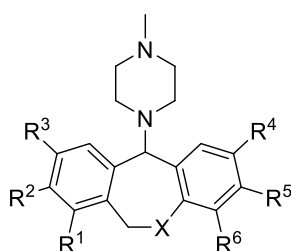


Abbildung 68: Synthetisierte Oxepin-Derivate **38a-q**

Alle synthetisierten Chlor-substituierten Doxepin-Derivate lagen vermutlich racemisch vor. In Modelling-Experimenten wurde für die beiden Enantiomere unterschiedliche Orientierungen in der orthosterischen Bindungstasche berechnet. Daher wurde für das Chlor-substituierte Oxepin-Derivat **38e** exemplarisch eine Racemat-Trennung durchgeführt. Diese wurde durch die Messung des Drehwinkels des Racemats sowie der beiden erhaltenen Enantiomere verfolgt und durch die Messung der Kristallstruktur bestätigt. Dabei konnte in Kompetitions-Bindungsstudien das *R*-Enantiomer als

Eutomer bestimmt werden, was im „Molecular Modelling“ bereits vorhergesagt worden war [108].

Durch Variationen an der basischen Struktureinheit konnte gezeigt werden, dass das basische Zentrum in Position 4 im Piperazin-Ring für die Affinität zu beiden Rezeptoren ein entscheidendes Strukturmerkmal ist, da das Fehlen desselben zu komplettem Affinitätsverlust führte. Die affinste Verbindung am hH₁R aus dieser Reihe war die Verbindung mit einem Methylpiperazin. Am hH₄R waren auch diese Derivate nur mäßig affin.

Da für viele andere GPCRs allosterische Bindungsstellen bekannt sind und somit homodimere Liganden zu affineren Verbindungen im Vergleich zu den Monomeren führten, wurden mit dem in Position R² und R⁵ Chlor-substituierten Oxepin-Derivat ein dualer hH₁R/hH₄R-Antagonist als Pharmakophor zur Synthese verschiedener homodimerer Liganden eingesetzt. Im Vergleich zu der entsprechenden monomeren Verbindung **38I** wurde jedoch eine Affinitätsabnahme am hH₁R und hH₄R verzeichnet. Daher wurde vermutet, dass nur eines der Pharmakophore des homodimeren Liganden zur Bindung an den Rezeptor beitrug, während das andere Pharmakophor ungebunden blieb. Entweder war demnach keine allosterische Bindungsstelle vorhanden, das Pharmakophor wies zu geringe Affinität auf, um an diese mutmaßliche Bindungsstelle zu binden, oder die gewählten Spacerlängen waren ungeeignet.

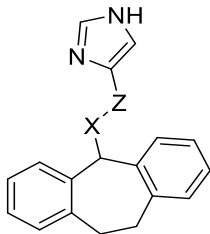


Abbildung 69: Synthetisierte Imidazol-Dibenzosuberone-Liganden

Bei Wan wurden affine Liganden zum hH₄R dadurch synthetisiert, dass ein Imidazol-Ring mit einem Ligandbaustein verknüpft wurde. Daher wurden auch von Dibenzosuberone ausgehend, welches dem Oxepin-Grundgerüst ähnelt, Imidazol-verbrückte Liganden synthetisiert (**Abb. 69**). Besonders bei den Derivaten, die einen langen Diaminoheptan-Linker enthielten, wurde eine Affinitätssteigerung am hH₄R beobachtet. Gleichzeitig wurde jedoch eine Affinitätsabnahme am hH₁R verzeichnet. So wurde für die Verbindung **50** (X = -NH-(CH₂)₇-NH-, Z = -(CH₂)₃-) am hH₁R ein pK_r-Wert von 5.53, am hH₄R ein pK_r-Wert von 6.35 bestimmt. Da der hH₁R und der hH₄R eine geringe Homologie aufweisen, waren am H₁R-affine Liganden hingegen am hH₄R

wiederum nur schwach affin. Zudem konnte für diese Verbindungen eine höhere Affinität zum hH₃R nachgewiesen werden als beispielsweise für das Oxepin-Derivat **38I** [108].

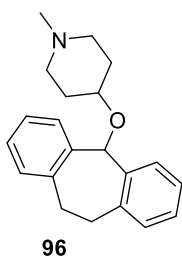


Abbildung 70: Strukturformel des am hH₁R affinen Liganden **96**

Mit der Verbindung **96** (**Abb. 70**) konnte der am hH₁R besonders affine Ligand synthetisiert werden, indem ein Sauerstoff-Atom zwischen dem basischen Ring und dem Trizyklus eingeführt wurde. Dieser wies einen p*K_i* von 10.08 auf. Am hH₄R lag der p*K_r*-Wert bei 5.93.

Die zweite untersuchte Verbindungsklasse waren Carbazol-Derivate. Dieser Trizyklus war in Modelling-Experimenten als potentieller H₄R-Ligand gescreent worden [113]. Die synthetisierten Derivate erwiesen sich jedoch an beiden Rezeptoren als kaum affin. Der planare Trizyklus scheint nicht in die orthosterische Bindungstasche beider Rezeptoren zu passen.

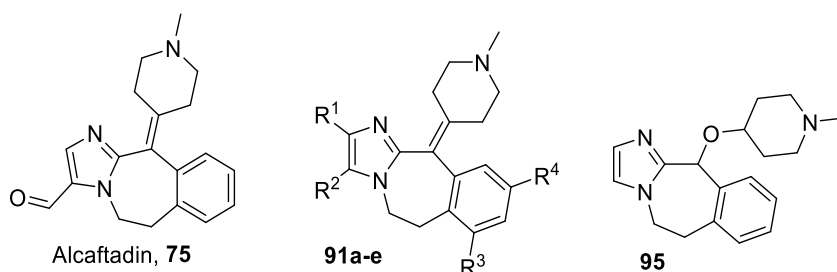


Abbildung 71: Strukturformel von Alcaftadin sowie der synthetisierten Alcaftadin-Derivate

Die dritte untersuchte Substanzklasse waren Alcaftadin-Derivate (**Abb. 71**). Dabei konnte bei Verbindung **95** gezeigt werden, dass der Austausch der Doppelbindung gegen eine Sauerstoff-enthaltende-Einfachbindung wie bei **96** zu einer Affinitätssteigerung im Vergleich zu Alcaftadin führte, am hH₁R lag der p*K_r*-Wert bei 9.13, am hH₄R bei 5.58. Am hH₁R waren zudem Methyl-Substituenten in Position R³ oder R⁴ förderlich für die Affinität, und auch das unsubstituierte Derivat wies einen höheren p*K_r*-Wert als Alcaftadin auf, wohingegen eine Hydroxymethyl-Gruppe in Position R² bei **91e** den p*K_r*-Wert senkte. Bei Verbindung **91b** mit einem Fluorophenyl-Substituenten konnte mit einem p*K_r*-Wert von 6.44 die höchste Affinitätssteigerung am

hH₄R erzielt werden, am hH₁R lag der pK_r-Wert bei 9.08. Daher wurde dieser Ligand im funktionellen DMR-Assay am hH₁R und hH₄R an HEK298T-Zellen untersucht. Alcaftadin selbst wird in der Literatur als Antagonist am hH₁R, hH₂R und hH₄R beschrieben [114]. Bei den DMR-Studien wurde der Ligand **91e** jedoch als inverser Agonist am hH₁R und als Agonist am hH₄R identifiziert. Vermutlich führt der große Fluorophenyl-Ring zu einer anderen Orientierung des Trizyklus in der Bindungstasche als bei Alcaftadin. Dieser Wirkmechanismus müsste in Zukunft genauer untersucht werden. Am hH₃R waren alle untersuchten Alcaftadin-Derivate wie das Alcaftadin selbst nicht affin, am hH₂R zeigten sie geringere Affinität als das Alcaftadin, jedoch lagen hier die pK_r-Werte dennoch im Bereich von 5.65-7.15. In nachfolgenden Projekten wäre es sinnvoll, eine größere Substanzbibliothek von Alcaftadin-Derivaten mit unterschiedlichsten Substituenten am hH₁R und hH₄R zu screenen. Für Derivate mit einer Sauerstoff-enthaltenden Einfachbindung ist zudem, wie für die Chlor-substituierten Doxepin-Derivate interessant, ob die vermutlich als Racemat vorliegenden Verbindungen getrennt werden können und ob diese ebenso unterschiedliche Affinitäten zu den Rezeptoren zeigen. Darüber hinaus müsste untersucht werden, ob die Alcaftadin-Derivate ebenso wie Alcaftadin selbst eine ebenso geringe Affinität zu anderen GPCRs aufweisen, da diesen im Unterschied zu Alcaftadin die Aldehydfunktion fehlt, oder ob diese entscheidend für die Rezeptorselektivität ist. Falls dieser Substituent eine so entscheidende Struktureinheit darstellt, müsste eine Substanzbibliothek mit verschiedenen Substituenten synthetisiert werden, die zudem die Carbonyl-Funktionalität als Struktureinheit tragen.

Alle synthetisierten Liganden führen zu einem besseren Verständnis des hH₁R und des hH₄R auf molekularer Ebene. Die beiden vielversprechendsten Moleküle sind jedoch die Verbindungen **95** und **96**, da bei diesen ein sehr hoher pK_r-Wert am hH₁R und moderate pK_r-Werte am hH₄R erzielt werden konnte. Am hH₃R weisen diese kaum Affinität auf. Am hH₂R liegt die Affinität in einem ähnlichen Bereich wie die am hH₄R. Da der hH₂R jedoch keine Homologie zum hH₄R aufweist, bieten diese beiden Moleküle einen guten Ausgangspunkt für die Synthese affiner dualer Liganden.

6. Kapitel

Experimenteller Teil

6. Experimenteller Teil

6.1 Allgemeine Angaben

Chemikalien und Lösungsmittel

Kommerziell erhältliche Chemikalien und Lösemittel wurden von folgenden Herstellern bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet: Acros Organics (Geel, Belgien), Activate Scientific GmbH (Prien, Deutschland), Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland), Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) und TCI Europe GmbH (Eschborn, Deutschland). Deuterierte Lösemittel zur NMR-Spektroskopie wurden von der Firma Deutero GmbH (Kastellaun, Deutschland) bezogen. Alle Reaktionen unter Wasserausschluss wurden unter Stickstoff oder Argon in ausgeheizten Kolben durchgeführt. Für die Herstellung von Puffern, HPLC Eluenten und Probenstammlösungen zur pharmakologischen Testung wurde Millipore-Wasser verwendet.

Dünnschichtchromatographie

Reaktionskontrollen wurden mittels Dünnschichtchromatographie (DC) durchgeführt. Hierzu wurden vorbeschichtete Folien (ALUGRAM Xtra SIL G/ UV254, Fa. Macherey-NAGEL GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) verwendet. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht ($\lambda = 245 \text{ nm}$ und 366 nm) und mit Joddampf.

Elementaranalyse

Die Elementaranalyse (CHN) wurde mit dem Vario micro cube (Elementaranalysesysteme GmbH, Deutschland) durchgeführt.

NMR

Die Spektren der kernmagnetischen Resonanz (^1H -NMR und ^{13}C -NMR) wurden mit einem Bruker Avance 300-, 400- oder III 600-Spektrometer unter Verwendung von deuterierten Lösungsmitteln (CDCl_3 , MeOH-d_4 , DMSO-d_6) aufgenommen. 2D-Kernspinresonanzspektren wurden mit einem Avance III HD 400 aufgenommen. Alle Spektren wurden mit dem Programm MestReNova (Mestrelab Research®, S. L., Santiago de Compostela, Spanien) ausgewertet. Die chemische Verschiebung δ wurde in ppm angegeben, bezogen auf die chemische Verschiebung des protischen Lösungsmittels im Vergleich zu Tetramethylsilan ($\delta = 0 \text{ ppm}$).

Die Kopplungskonstanten J wurden in Hertz (Hz) berechnet. Die Multiplizitäten wurden wie folgt angegeben: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), dd (Dublett vom Duplett), dt (Dublett vom Triplet), td (Triplet vom Dublett) und m (Multiplet). Die Multiplizität der Kohlenstoffatome (^{13}C -NMR) wurde durch ^{13}C -DEPT 135 und ^{13}C -DEPT 90 (verzerrungsfreie Verstärkung durch Polarisationstransfer) bestimmt: "+" primäres und tertiäres Kohlenstoffatom (positives DEPT 135-Signal), "-" sekundäres Kohlenstoffatom (negatives DEPT 135-Signal), "quat" quaternäres Kohlenstoffatom.

Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie (MS) wurde mit den Geräten Finnigan MAT 95, Finnigan SSY 710A, Agilent Q-TOF 6540 UHD, MAT SSQ 710 A und TSQ 7000 durchgeführt. Hochauflösende Massenspektren wurden an einem Agilent 6540 UHD Accurate-Mass QTOF LC/MS-System (Agilent Technologies, Santa Clara, Kanada) inklusive Elektrosprayionisation gemessen.

Die Elementaranalyse (CHN) wurden am Heraeus Elementar Vario EL III bzw. Heraeus CHN Rapid (Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland) durchgeführt. Die optische Drehung wurde mit einem Polarimeter P8000-PT (Krüss, Deutschland) gemessen. Die chemischen Namen wurden mit ChemBioDrawUltra 12.0 (CambridgeSoft, Cambridge, USA) bestimmt.

Die Gefriertrocknung der Verbindungen wurde am Christ alpha 2-4 LD-Gerät mit einer Vacuubrand RZ 6 Drehschieber-Vakuumpumpe durchgeführt.

Mikrowellenreaktionen

Für Mikrowellenreaktionen wurde das Gerät Initiator 2.0 synthesizer (Biotage, Uppsala, Schweden) verwendet.

Polarimeter

Die optische Drehung wurde mit einem Polarimeter P8000-PT (Krüss, Deutschland) bestimmt.

Präparative und analytische HPLC

Präparative HPLC wurde an einer Knauer-HPLC (Berlin, Deutschland) durchgeführt, bestehend aus zwei K-1800-Pumpen und einem K 2001 Detektor. Als stationäre

Phase wurde die Säule Phenomenex Kinetex 5u XB-C18 (250 × 21.2 mm) (Aschaffenburg, Deutschland) mit einer Flussrate von 15 ml/min oder 20 ml/min verwendet. Die UV-Detektion erfolgte bei 220 nm. Als mobile Phase wurde ein Eluentengemisch aus 0.1% TFA in Millipore Wasser und MeCN verwendet. Zur Probenvorbereitung wurden alle in Eluenten gelöste Verbindungen mittels PTFE-Filter (25 mm, 0.2 µm) der Firma Phenomenex Ltd. (Aschaffenburg, Deutschland) filtriert. Die analytische HPLC wurde mit einem HPLC-System von Agilent Technologies (Serie 1100) bestehend aus einer binären Pumpe, einem Entgaser (G1312A), einem Autosampler (ALS, G1329A), einem thermostatisiertes Säulenfach (COLCOM, G1316A) und einem Diodenarray-Detektor (DAD, G1315B) durchgeführt. Als stationäre Phase wurde die Säule Phenomenex Kinetex 5u XB-C18 (250mm x 4.6 mm, 5 µm) (Aschaffenburg, Deutschland) mit einer Flussrate von 1 ml/min verwendet. Die UV-Detektion erfolgte bei 220 nm. Als mobile Phase diente 0,05% TFA in Millipore Wasser und MeCN. Vor der Verwendung war bei allen HPLC-Messungen eine ausreichende Entgasung der Eluenten mit Helium notwendig. Die Reinheit der Proben wurde anhand des prozentualen Anteils der Flächenpeaks bei 220 nm bestimmt. Der Kapazitätsfaktor berechnet sich gemäß $k = (t_R - t_0) / t_0$.

Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie wurde unter Verwendung von Merck-Kieselgel Geduran 60 (0.063–0.200 mm) (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Die Flash-Chromatographie wurde an einer Intelli Flash- 310 Flash-Chromatography Workstation von Varian Deutschland (Darmstadt, Deutschland) durchgeführt.

Schmelzpunkte

Alle Schmelzpunkte wurden mit einem Stuart Melting Point SMP 30-Gerät gemessen und wurden nicht korrigiert.

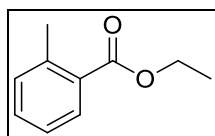
6.2 Synthese der Chlor-substituierten Doxepin-Derivate

Die allgemeinen Versuchsvorschriften A-G entsprechen literaturbekannten Synthesen [108, 117].

Allgemeine Versuchsvorschrift A für die Verbindungen 31a und 31c

2-Methylbenzoesäure bzw. 4-Chlor-2-methylbenzoesäure (1 Äquivalent) wurde bei Raumtemperatur in DMF gelöst. 3.5 Äquivalente K_2CO_3 und ein dreifacher Überschuss an Ethyliodid wurden zugegeben. Die resultierende Mischung wurde 22 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von Toluol wurde die Mischung zuerst mit Wasser, dann mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurden die Titel-Verbindungen **31a** bzw. **31c** erhalten.

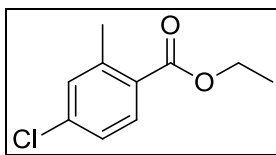
Ethyl-2-methylbenzoat (**31a**) [202]



$C_{10}H_{12}O_2$ (M = 164.20 g/mol)

31a wurde nach der allgemeinen Vorschrift A aus 2-Methylbenzoesäure (6.81 g, 50.02 mmol) in DMF (250 ml) hergestellt und als farbloses Öl (6.50 g, 39.59 mmol, 79%) erhalten.

$C_{10}H_{12}O_2$ (M = 164.20 g/mol). **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.97 - 7.81 (m, 1H), 7.41 - 7.33 (m, 1H), 7.29 - 7.11 (m, 2H), 4.36 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.39 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 167.68 (C_{quat}), 140.01 (C_{quat}), 131.82 (+, Ar-CH), 131.65 (+, Ar-CH), 130.50 (+, Ar-CH), 129.94 (C_{quat}), 125.67 (+, Ar-CH), 60.67 (-, CH_2), 21.73 (+, CH_3), 14.33 (+, CH_3). **EI-MS** m/z 164.1 M^+ (51), 119.1 (100), 118.1 (73), 91.1 (53).

Ethyl-4-chloro-2-methylbenzoat (31c)

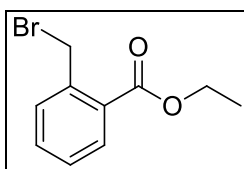
$C_{10}H_{11}ClO_2$ (M = 198.65 g/mol)

31c [203] wurde nach der allgemeinen Vorschrift A aus 4-Chlor-2-methylbenzoesäure (10.00 g, 58.62 mmol) in DMF (290 ml) hergestellt und als gelbliches Öl erhalten (11.12 g, 55.98 mmol, 96%).

$C_{10}H_{11}ClO_2$ (M = 198.65 g/mol). **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.86 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.33 - 7.14 (m, 2H), 4.34 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.57 (s, 3H), 1.38 (t, J = 7.1 Hz, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 166.79 (C_{quat}), 142.17 (C_{quat}), 137.82 (C_{quat}), 132.03 (+, Ar-CH), 131.56 (+, Ar-CH), 128.23 (C_{quat}), 125.91 (+, Ar-CH), 60.93 (-, CH_2), 21.69 (+, CH_3), 14.31(+, CH_3). **EI-MS** m/z 200.1 M^+ (12), 198.1 M^+ (36), 155.1 (30), 154.1 (27), 153.1 (100), 152.1 (50).

Allgemeine Versuchsvorschrift B für die Verbindungen 32a und 32c

Zu einer Lösung von **31a** bzw. **31c** in CCl_4 oder Benzol wurden der 1.1-fache Überschuss an NBS und der Radikalstarter AIBN gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei 85° C unter Rückfluss gerührt. Der Überstand wurde durch Filtration vom Feststoff getrennt und mit Wasser und einer gesättigten wässrigen Lösung von NaCl gewaschen. Die erhaltenen Titel-Verbindungen **32a** bzw. **32c** wurden unter Vakuum getrocknet und ohne weitere Aufreinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

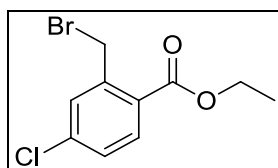
Ethyl-2-(bromomethyl)benzoat (32a) [204]

$C_{10}H_{11}BrO_2$ (M = 243.10 g/mol)

32a wurde nach der allgemeinen Vorschrift B aus **31a** (6.15 g, 37.45 mmol) in CCl_4 (150 ml) hergestellt und als gelbliches Öl erhalten (7.84 g, 32.25 mmol, 86%).

$C_{10}H_{11}BrO_2$ (M = 243.10 g/mol). **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.99-7.96 (m, 1H); 7.50-7.44 (m, 2H); 7.40 - 7.35 (m, 1H); 4.96 (s, 2H); 4.42 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H); 1.43 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 166.67, (C_{quat}), 139.07 (C_{quat}), 133.15 (+, Ar-CH), 132.42 (+, Ar-CH), 131.65 (+, Ar-CH), 131.28 (+, Ar-CH), 128.54 (C_{quat}), 61.73 (-, CH_2), 31.64 (-, CH_2), 14.26 (+, CH_3). **EI-MS** m/z 244.0 M^+ (7), 242.0 (6), 163.1 (40), 135.1 (100).

Ethyl-2-(bromomethyl)-4-chlorobenzoat (**32c**) [205]



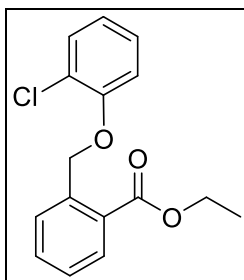
$C_{10}H_{10}BrClO_2$ (M = 277.54 g/mol)

32c wurde nach der allgemeinen Vorschrift B aus **31c** (6.15 g, 30.96 mmol) in CCl_4 (150 ml) hergestellt und als gelbliches Öl erhalten (7.84 g, 28.25 mmol, 91%).

$C_{10}H_{10}BrClO_2$ (M = 277.54 g/mol). **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.27 - 7.17 (m, 2H), 4.90 (s, 2H), 4.35 (q, 7.1 Hz, 2H), 1.40 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 165.77 (C_{quat}), 141.03 (C_{quat}), 138.42 (C_{quat}), 132.77 (+, Ar-CH), 131.61(+, Ar-CH), 128.63 (C_{quat}), 127.69 (+, Ar-CH), 61.57 (-, CH_2), 30.49 (-, CH_2), 14.21 (+, CH_3). **EI-MS** m/z 277.9 M^+ (12), 276.0 M^+ (9), 171.1 (41), 169.0 (100), 89.1 (44).

Allgemeine Versuchsvorschrift C für die Verbindungen **33g** und **33m**

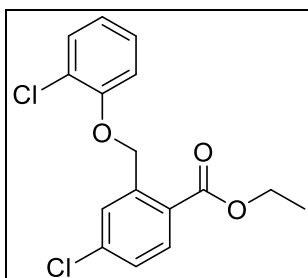
Zu einer Lösung des entsprechenden Chlorphenols und 20%igem NaOEt in Ethanol wurden **32a** bzw. **32c** langsam zugegeben. Es wurde ein weiß-bräunlicher Niederschlag beobachtet. Das Gemisch wurde 8 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser zugegeben und das Produkt mit Toluol aus der wässrigen Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser und einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt erhalten. Nach der Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (PE/DCM 1/1 v/v) wurden die Titel-Verbindungen **33g** bzw. **33m** erhalten.

Ethyl-2-((2-chlorophenoxy)methyl)benzoat (33g) [108]

$C_{16}H_{15}ClO_3$ (290.74 g/mol)

33g wurde nach der allgemeinen Vorschrift C aus **32a** (5.59 g, 22.99 mmol) und 2-Chlorphenol (2.96 g, 23.02 mmol) hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (5.00 g, 17.20 mmol, 75%).

$C_{16}H_{15}ClO_3$ (M = 290.74 g/mol), Smp. 44 °C. **¹H-NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 (dd, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.63 - 7.55 (m, 1H), 7.42 - 7.36 (m, 2H), 7.23 - 7.13 (m, 1H), 7.02 (dd, J = 8.3, 1.2 Hz, 1H), 6.96 - 6.87 (m, 1H), 5.58 (s, 2H), 4.37 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.40 (t, J = 7.1 Hz, 3H). **¹³C-NMR** (101 MHz, $CDCl_3$) δ 166.91 (C_{quat}), 154.16 (C_{quat}), 139.22 (C_{quat}), 132.78 (+, Ar-CH), 130.72 (+, Ar-CH), 130.31 (+, Ar-CH), 127.78 (+, Ar-CH), 127.66 (C_{quat}), 127.29 (+, Ar-CH), 127.17 (+, Ar-CH), 123.00 (C_{quat}), 121.52 (+, Ar-CH), 113.72 (+, Ar-CH), 68.86 (-, CH_2), 61.10 (-, CH_2), 14.31 (+, CH_3). **GC-MS** m/z 290.1 M^+ (<1), 163.0 (38), 135.0 (100). **CHN** ($C_{16}H_{15}ClO_3$) berechnet: C 66.10, H 5.20; gefunden: C 66.31, H 5.30.

Ethyl-4-chloro-2-((2-chlorophenoxy)methyl)benzoat (33m) [108]

$C_{16}H_{14}Cl_2O_3$ (M= 325.19 g/mol)

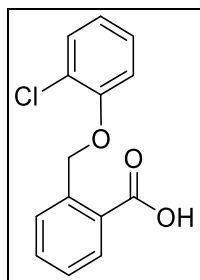
33m wurden nach der allgemeinen Vorschrift C aus **32c** (9.13 g, 32.90 mmol) und 2-Chlorphenol (4.45 g, 34.61 mmol) hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (6.63 g, 20.39 mmol, 62%).

$C_{16}H_{14}Cl_2O_3$ (M = 325.19 g/mol), Smp. 81 °C. **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.12 - 7.89 (m, 2H), 7.47 - 7.11 (m, 3H), 7.09 - 6.81 (m, 2H), 5.53 (s, 2H), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.40 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 166.01 (C_{quat}), 153.86 (C_{quat}), 141.48 (C_{quat}), 139.46 (C_{quat}), 132.16 (+, Ar-CH), 130.39 (+, Ar-CH), 127.82 (+, Ar-CH), 127.45 (+, Ar-CH), 127.35 (+, Ar-CH), 125.66 (C_{quat}), 123.10 (C_{quat}), 121.83 (+, Ar-CH), 113.72 (+, Ar-CH), 68.36 (-, CH_2), 61.32 (-, CH_2), 14.28 (+, CH_3). **EI-MS** m/z 326.0 M^+ (<1), 324.0 M^+ (<1), 199.1 (15), 197.0 (51), 171.1 (32), 169.0 (100). **CHN** ($C_{16}H_{14}Cl_2O_3$) berechnet: C 59.10, H 4.34; gefunden: C 59.22, H 4.34.

Allgemeine Vorschrift D zur Herstellung der Verbindungen 34g und 34m

Zu einer Lösung von **33g** bzw. **33m** in Ethanol wurde eine 5%ige wässrige Lösung von Natriumhydroxid gegeben. Das Gemisch wurde 1 h bei 100°C unter Rückfluss erhitzt. Nachdem das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert worden war, wurde zuerst Wasser zugesetzt. Dann wurde 10%ige Salzsäure zugegeben, sodass weiße Kristalle ausfielen. Diese wurden abfiltriert, in DCM gelöst und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das reine Produkt **34g** bzw. **34m** erhalten.

2-((2-Chlorphenoxy)methyl)benzoesäure (34g) [206]



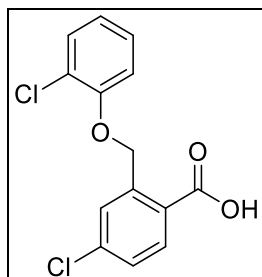
$C_{14}H_{11}ClO_3$ (262.69 g/mol)

34g wurden nach der allgemeinen Vorschrift D aus **33g** (5.00 g, 17.20 mmol) in 40 ml Ethanol hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (4.50 g, 17.13 mmol, 100%).

$C_{14}H_{11}ClO_3$ (M = 262.69 g/mol), Smp. 164 °C. **1H -NMR** (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 13.09 (s, 1H), 7.96 (dd, $J = 7.7, 1.0$ Hz, 1H), 7.76 - 7.69 (m, 1H), 7.67 - 7.60 (m, 1H), 7.50 - 7.43 (m, 2H), 7.33 - 7.28 (m, 1H), 7.16 - 7.11 (m, 1H), 7.00 - 6.95 (m, 1H), 5.54 (s, 2H). **^{13}C -NMR** (101 MHz, $DMSO-d_6$) δ 168.45 (C_{quat}), 154.06 (C_{quat}), 138.46 (C_{quat}), 132.76 (+, Ar-CH), 131.07 (+, Ar-CH), 130.49 (+, Ar-CH), 129.64 (C_{quat}), 128.87 (+, Ar-

CH), 128.23 (+, Ar-CH), 128.01 (+, Ar-CH), 122.19 (+, Ar-CH), 122.00 (C_{quat}), 114.51 (+, Ar-CH), 68.80 (-, CH₂). **ESI-MS** *m/z* 261.0 [M-H]⁻. **CHN** (C₁₄H₁₁ClO₃) berechnet: C 64.01, H 4.22; gefunden: C 63.90, H 4.39.

4-Chloro-2-((2-chlorophenoxy)methyl)benzoesäure(34m) [108]



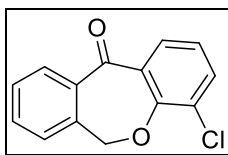
C₁₄H₁₀Cl₂O₃ (297.13 g/mol)

34m wurde nach der allgemeinen Vorschrift H aus **33m** (6.53 g, 20.08 mmol) in 48 ml Ethanol hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (5.45 g, 18.34 mmol, 91%).

C₁₄H₁₀Cl₂O₃ (M = 297.13 g/mol), Smp. 193.6 °C. **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13.35 (s, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.59 - 7.42 (m, 2H), 7.37 - 7.28 (m, 1H), 7.15 (dd, *J* = 8.3, 1.3 Hz, 1H), 7.05 - 6.94 (m, 1H), 5.53 (s, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-d₆) δ 166.94 (C_{quat}), 153.16 (C_{quat}), 140.59 (C_{quat}), 137.08 (C_{quat}), 132.57 (+, Ar-CH), 129.97 (+, Ar-CH), 128.40 (+, Ar-CH), 127.58 (+, Ar-CH), 126.97 (+, Ar-CH), 121.89 (+, Ar-CH), 121.42 (C_{quat}), 113.99 (+, Ar-CH), 67.63 (-, CH₂). **ESI-MS** *m/z* 295.0 [M-H]⁻. **CHN** (C₁₄H₁₀Cl₂O₃) berechnet: C 56.59, H 3.39; gefunden: C 56.64, H 3.38.

Allgemeine Vorschrift E: Herstellung der Verbindungen 35g und 35m

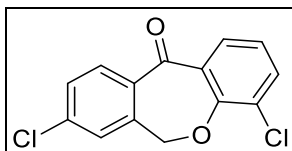
Eine Mischung aus **34g** oder **34m** und dem 1.6-fachen Überschuss an Thionylchlorid wurde bei 75° C 1 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Toluol zugegeben und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in DCM gelöst, auf 0° C abgekühlt und mit 2.2 Äquivalenten wasserfreiem AlCl₃ versetzt. Nach 15-minütigem Rühren wurde Eiswasser zugegeben. Das Produkt wurde mit Toluol extrahiert und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie und Toluol als Eluent aufgereinigt.

4-Chlorodibenzo[b,e]oxepin-11(6H)-on (35g) [206]

$C_{14}H_9ClO_2$ (244.67 g/mol)

35g wurde nach der allgemeinen Vorschrift E aus **34g** (4.50 g, 17.13 mmol) hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.90 g, 3.68 mmol, 22%).

$C_{14}H_9ClO_2$ (M = 244.67 g/mol), Smp. 100 °C. **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.15 (dd, J = 8.2, 1.8 Hz, 1H), 7.92 - 7.82 (m, 1H), 7.63 - 7.53 (m, 2H), 7.53 - 7.44 (m, 1H), 7.43 - 7.37 (m, 1H), 7.12 - 6.99 (m, 1H), 5.31 (s, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 190.40 (C_{quat}), 156.78 (C_{quat}), 140.12 (C_{quat}), 135.63 (+, Ar-CH), 135.10 (C_{quat}), 133.02 (+, Ar-CH), 130.78 (+, Ar-CH), 129.52 (+, Ar-CH), 129.50 (+, Ar-CH), 127.94 (+, Ar-CH), 126.95 (C_{quat}), 125.38 (C_{quat}), 122.08 (+, Ar-CH), 74.19 (-, CH_2). **GC-MS** m/z 246.03 M^+ (33), 244.03 M^+ (100), 243.02 (30), 215.03 (33), 209.06 (44), 181.06 (35), 152.06 (37). **CHN** ($C_{14}H_9ClO_2$) berechnet: C 68.73, H 3.71; gefunden: C 68.98, H 3.76.

4,8-Dichlorodibenzo[b,e]oxepin-11(6H)-on (35m) [108]

$C_{14}H_8Cl_2O_2$ (279.12 g/mol)

35m wurde nach der allgemeinen Vorschrift E aus **34m** (5.39 g, 18.14 mmol) hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (3.96 g, 14.19 mmol, 78%).

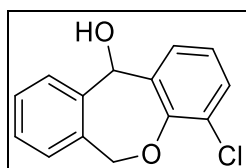
$C_{14}H_8Cl_2O_2$ (M = 279.12 g/mol), Smp. 185 °C. **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.15 (dd, J = 8.2, 1.7 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.61 (dd, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 7.49 - 7.44 (m, 1H), 7.40 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.12 - 7.04 (m, 1H), 5.26 (s, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 188.79 (C_{quat}), 156.69 (C_{quat}), 139.18 (C_{quat}), 138.10 (C_{quat}), 136.86 (C_{quat}), 135.83 (+, Ar-CH), 131.38 (+, Ar-CH), 130.85 (+, Ar-CH), 129.66 (+, Ar-CH), 127.96 (+, Ar-CH), 126.90 (C_{quat}), 125.55 (C_{quat}), 122.45 (+, Ar-CH), 73.70 (-, CH_2). **EI-MS** m/z

280.0 M⁺ (47), 278.0 M⁺ (81), 245.1 (34), 243.0 (100), 215.1 (40), 152.1 (44). **CHN** (C₁₄H₈Cl₂O₂) berechnet: C 60.25, H 2.89; gefunden: 60.48, H 2.92.

Allgemeine Vorschrift F: Herstellung der Verbindungen **36g**, **36j**, **36m** und **36p**

35g, **35m**, **35j** (Synthese: J. Spindler), **35p** (Synthese: J. Spindler) bzw. Dibenzosuberone (**35q**) (1 Äquivalent) wurde in trockenem Methanol gelöst. Unter Eiskühlung wurde langsam ein 1.4-facher Überschuss an NaBH₄ zugegeben. Das Gemisch wurde 2 h im Eisbad gerührt. Nach Zugabe von Wasser fiel ein weißer Feststoff aus, der abgesaugt, in DCM aufgenommen und mit Wasser gewaschen wurde. Die organische Phase wurde abgetrennt und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt erhalten. Aus diesem wurden nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (DCM) die Titel-Verbindungen **36g**, **36j**, **36m**, **36p** und **36q** erhalten.

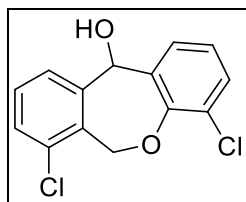
4-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-ol (**36g**) [206]



C₁₄H₁₁ClO₂ (M = 246.69 g/mol)

36g wurde nach der allgemeinen Vorschrift F aus **35g** (0.90 g, 3.68 mmol) in 8 ml Methanol hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.31 g, 1.26 mmol, 34%).

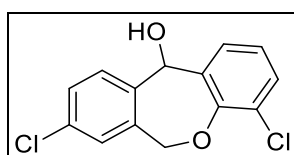
C₁₄H₁₁ClO₂ (M = 246.69 g/mol), Smp. 142 °C. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.48 - 7.16 (m, 6H), 6.98 - 6.90 (m, 1H), 5.91 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 5.69 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.18 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 152.23 (C_{quat}), 139.60 (C_{quat}), 134.59 (C_{quat}), 132.01 (C_{quat}), 130.64 (+, Ar-CH), 128.95 (+, Ar-CH), 128.53 (+, 2 Ar-CH), 128.30 (+, Ar-CH), 128.03 (+, Ar-CH), 125.39 (C_{quat}), 122.76 (+, Ar-CH), 76.57 (+, CH), 71.64 (-, CH₂). **EI-MS** *m/z* 248.1 M⁺ (28), 246.1 M⁺ (91), 245.1 (34), 231.1 (24), 230.1 (46), 229.1 (45), 228.1 (94), 217.1 (34), 215.1 (100), 194.2 (34), 155.0 (54), 152.1 (48), 91.1 (53), 90.2 (33), 89.1 (34), 63.1 (33). **CHN** (C₁₄H₁₁ClO₂) berechnet: C 68.16, H 4.49; gefunden: C 68.28, H 4.57.

4,7-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-ol (36j) [108]

$C_{14}H_{10}Cl_2O_2$ (M = 281.13 g/mol)

36j wurde nach der allgemeinen Vorschrift F aus **35j** (1.98 g, 7.09 mmol) in 10 ml Methanol hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (1.96 g, 6.97 mmol, 98%).

$C_{14}H_{10}Cl_2O_2$ (M = 281.13 g/mol), Smp. 138 °C. **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.44 - 7.38 (m, 1H), 7.38 - 7.30 (m, 2H), 7.26 - 7.19 (m, 2H), 7.06 - 6.99 (m, 1H), 5.74 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 5.64 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 5.35 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H). **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 151.47 (C_{quat}), 141.06 (C_{quat}), 136.24 (2 C_{quat}), 132.70 (C_{quat}), 132.20 (C_{quat}), 130.34 (+, Ar-CH), 129.84 (+, Ar-CH), 128.74 (+, Ar-CH), 126.81 (+, Ar-CH), 126.17 (+, Ar-CH), 124.65 (+, Ar-CH), 75.01 (+, CH), 70.05 (-, CH_2). **EI-MS** m/z 282.0 M^+ (49), 280.0 M^+ (76), 264.0 (42), 262.0 (63), 250.0 (34), 248.9 (45), 245.1 (58), 210.1 (69), 199.1 (35), 181.1 (38). **CHN** ($C_{14}H_{10}Cl_2O_2$) berechnet: C 59.81, H 3.59; gefunden: C 60.01, H 3.59.

4,8-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-ol (36m) [108]

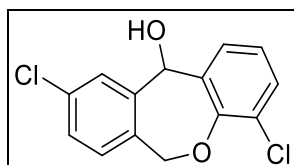
$C_{14}H_{10}Cl_2O_2$ (M = 281.13 g/mol)

36m wurde nach der allgemeinen Vorschrift F aus **35m** (3.86 g, 13.83 mmol) in 23 ml Methanol hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (3.37 g, 11.99 mmol, 87%).

$C_{14}H_{10}Cl_2O_2$ (M = 281.13 g/mol), Smp. 139 °C. **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.41 - 7.32 (m, 2H), 7.31 - 7.18 (m, 3H), 7.02 - 6.91 (m, 1H), 5.78 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H), 5.73 - 6.64 (m, 1H), 5.14 (d, $J = 14.0$ Hz, 1H). **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 151.89 (C_{quat}), 137.99 (C_{quat}), 136.30 (C_{quat}), 134.55 (C_{quat}), 132.49 (C_{quat}), 130.70 (+, Ar-CH), 129.34 (+, Ar-CH), 128.32 (+, Ar-CH), 128.10 (+, Ar-CH), 127.92 (+, Ar-CH), 125.60 (C_{quat}),

123.26 (+, Ar-CH), 75.32 (+, CH), 71.09 (-, CH₂). **EI-MS** m/z 282.1 M⁺ (34), 280.1 M⁺ (57), 264.1 (22), 262.1 (32), 249.0 (35), 227.0 (34), 210.2 (38), 199.0 (33), 181.0 (30), 165.2 (35), 155.0 (100), 154.1 (69), 153.1 (44), 152.1 (75), 125.1 (40), 99.1 (36), 89.1 (59), 82.2 (43), 76.1 (45), 63.1 (43). **CHN** (C₁₄H₁₀Cl₂O₂) berechnet: C 59.81, H 3.59; gefunden: C 59.81, H 3.58.

4,9-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-ol (**36p**) [108]



C₁₄H₁₀Cl₂O₂ (M = 281.13 g/mol)

36p wurde nach der allgemeinen Vorschrift F aus **35p** (0.52 g, 1.86 mmol) in 10 ml Methanol hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.51 g, 1.81 mmol, 97%).

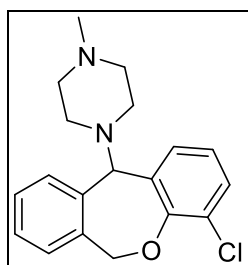
C₁₄H₁₀Cl₂O₂ (M = 281.13 g/mol), Smp. 152 °C. **¹H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.56 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.44 - 7.39 (m, 2H), 7.38 - 7.33 (m, 1H), 6.99 - 6.92 (m, 1H), 6.44 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.08 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 5.59 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 5.49 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H). **¹³C-NMR** (101 MHz, DMSO-d₆) δ 150.38 (C_{quat}), 144.82 (C_{quat}), 132.95 (C_{quat}), 131.96 (C_{quat}), 131.65 (C_{quat}), 130.34 (+, Ar-CH), 129.52 (+, Ar-CH), 127.48 (+, Ar-CH), 127.40 (+, Ar-CH), 125.05 (+, Ar-CH), 122.95 (C_{quat}), 121.64 (+, Ar-CH), 69.93 (+, CH), 69.21 (-, CH₂). **EI-MS** m/z 282.1 M⁺ (43), 280.1.0 M⁺ (63), 264.1 (42), 262.0 (56), 249.0 (95), 245.1 (42), 228.2 (35), 227.1 (44), 210.2 (32), 199.1 (41), 181.1 (48), 165.2 (36), 163.1 (32), 155.1 (100). **CHN** (C₁₄H₁₀Cl₂O₂) berechnet: C 59.81, H 3.59; gefunden: C 59.91, H 3.84.

Allgemeine Vorschrift G zur Herstellung der Verbindungen **38g**, **38j**, **38m**, **38p**, **39a-f**, **39h** und **39i**

Die Verbindung **36g**, **36j**, **36m**, **36p** bzw. **36q** wurde in DCM gelöst. Über einen Zeitraum von 30 min wurde eine Lösung von Thionylchlorid (2.06 Äquivalente) in DCM unter Eiskühlung in die Lösung getropft. Das Gemisch wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das resultierende Zwischenprodukt wurde sofort ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe verwendet.

Eine Lösung des entsprechenden reaktiven Zwischenprodukts in Chloroform wurde zu einer Lösung des 2.5-fachen Überschusses von *N*-Methylpiperazin bzw. des entsprechenden Amins in Chloroform zugetropft. Das Gemisch wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch in 5%ige wässrige NaHCO₃-Lösung gegossen. Das Produkt wurde mit Chloroform extrahiert, mit Wasser gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie unter Verwendung von verschiedenen Lösungsmitteln (allmähliche Modifikation des Lösungsmittels innerhalb eines Säulenchromatographielaufs (1: DCM, 2: Ethylacetat 3: Ethylacetat/7 M NH₃ in MeOH 9/1 v/v). Die Verbindungen **38g**, **38j**, **38m**, **38p**, **39a-f**, **39h** und **39i** wurden als weiße oder leicht gelbe Feststoffe erhalten.

1-(4-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methylpiperazin (**38g**) [108]



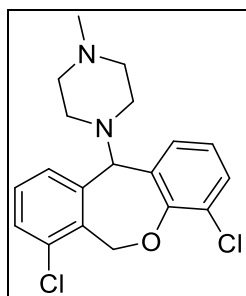
C₁₉H₂₁ClN₂O (M = 328.84 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37g** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36g** (0.30 g, 1.22 mmol) in DCM (5 ml) mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.51 mmol) in 2 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.32 g, 1.20 mmol) erhalten. **38g** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37g** (0.32 g, 1.20 mmol) in Chloroform (4 ml) mit einer Lösung von *N*-Methylpiperazin (0.30 g, 3.00 mmol) in Chloroform (8 ml) hergestellt und als hellgelber Feststoff erhalten (0.29 g, 0.88 mmol, 72%).

C₁₉H₂₁ClN₂O (M = 328.84 g/mol), Smp. 132 °C. **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35 - 7.19 (m, 5H), 7.03 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 6.79 - 6.71 (m, 1H), 4.90 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 3.93 (s, 1H), 3.01 - 1.81 (m, 11H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 151.98 (C_{quat}), 140.37 (C_{quat}), 133.77 (C_{quat}), 131.98 (+, Ar-CH), 130.64 (+, Ar-CH), 129.90 (+, Ar-CH), 128.98 (+, Ar-CH), 128.83 (+, Ar-CH), 128.48 (+, Ar-CH), 125.49 (C_{quat}), 124.55 (C_{quat}), 119.75 (+, Ar-CH), 76.20 (+, CH), 70.09 (+, CH₂), 55.38

(-, 2 CH₂), 51.49 (-, 2 CH₂), 45.85 (+, CH₃). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₁₉H₂₂ClN₂O⁺ [M+H]⁺ 329,1415; gefunden: 329.1419. **CHN** (C₁₉H₂₁ClN₂O) berechnet: C 69.40, H 6.44, N 8.52; gefunden: C 69.21, H 6.32, N 8.18.

**1-(4,7-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methylpiperazin
(38j)** [108]

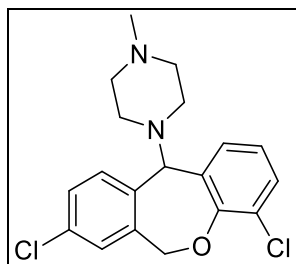


C₁₉H₂₀Cl₂N₂O (M = 363.28 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37j** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36j** (1.90 g, 6.76 mmol) in 25 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (1.02 ml, 13.9 mmol) in 10 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (2.38 g, 7.94 mmol) erhalten. **38j** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37j** (2.38 g, 7.94 mmol) in 13 ml Chloroform mit einer Lösung von *N*-Methylpiperazin (1.99 ml, 19.85 mmol) in 26 ml Chloroform hergestellt und als beiger Feststoff erhalten (1.31 g, 3.61 mmol, 53%).

C₁₉H₂₀Cl₂N₂O (M = 363.28 g/mol), Smp. 167 °C. **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 7.30 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.20 - 7.15 (m, 1H), 7.14 - 7.09 (m, 1H), 7.01 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 6.78 - 6.72 (m, 1H), 5.52 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 3.94 (s, 1H), 2.82 - 2.06 (m, 11H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 152.06 (C_{quat}), 142.23 (C_{quat}), 134.51 (C_{quat}), 131.95 (+, Ar-CH), 131.63 (C_{quat}), 130.88 (+, Ar-CH), 129.63 (+, Ar-CH), 129.48 (+, Ar-CH), 127.87 (+, Ar-CH), 124.86 (C_{quat}), 124.71 (C_{quat}), 120.06 (+, Ar-CH), 76.13 (+, CH), 64.92 (-, CH₂), 55.29 (-, 2 CH₂), 51.55 (-, 2 CH₂), 45.85 (+, CH₃). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₁₉H₂₁Cl₂N₂O⁺ [M+H]⁺ 363.1025; gefunden: 363.1045. **CHN** (C₁₉H₂₀Cl₂N₂O) berechnet: C 62.82, H 5.55, N 7.71; gefunden: C 62.69, H 5.48, N 7.57.

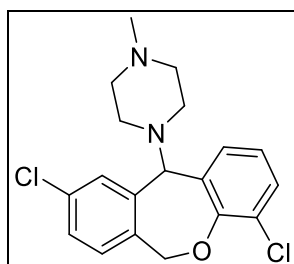
**1-(4,8-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methylpiperazin
(38m) [108]**



$C_{19}H_{20}Cl_2N_2O$ (M = 363.28 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37m** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36m** (0.80 g, 2.85 mmol) in DCM (9 ml) mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.43 ml, 5.87 mmol) in DCM (4.5 ml) hergestellt und als violettes Öl (0.84 g, 2.80 mmol) erhalten. Aus dem Zwischenprodukt **37m** (0.84 g, 2.80 mmol) in Chloroform (5 ml) wurde nach der allgemeinen Vorschrift G mit einer Lösung von *N*-Methylpiperazin (0.70 g, 7.00 mmol) in Chloroform (10 ml) das Produkt **38m** hergestellt und als gelber Feststoff erhalten (0.86 g, 2.37 mmol, 83%).

$C_{19}H_{20}Cl_2N_2O$ (M = 363.28 g/mol), Smp. 159 °C. **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.35 - 7.27 (m, 2H), 7.27 - 7.22 (m, 1H), 7.16 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.02 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.77 - 6.70 (m, 1H), 4.84 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 3.93 (s, 1H), 2.92 - 2.04 (m, 11H). **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 151.79 (C_{quat}), 138.61 (C_{quat}), 135.38 (C_{quat}), 134.22 (C_{quat}), 131.93 (+, Ar-CH), 130.87 (+, Ar-CH), 130.38 (+, Ar-CH), 130.00 (+, Ar-CH), 128.71 (+, Ar-CH), 124.88 (C_{quat}), 124.66 (C_{quat}), 120.12 (+, Ar-CH), 75.27 (+, CH), 69.31 (-, CH_2), 55.20 (-, 2 CH_2), 51.20 (-, 2 CH_2), 45.65 (+, CH_3). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{19}H_{21}Cl_2N_2O$ $[M+H]^+$ 363.1025; gefunden: 363.1029. **CHN** ($C_{19}H_{20}Cl_2N_2O \cdot 0.1$ EtOAc) berechnet: C 62.20, H 5.60, N 7.64; gefunden: 61.88, H 5.63, N 7.71.

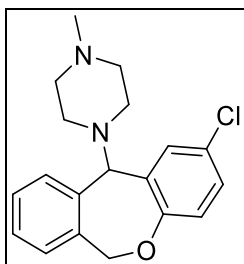
1-(4,9-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methylpiperazin (38p)

$C_{19}H_{20}Cl_2N_2O$ ($M = 363.28$ g/mol)

Das Zwischenprodukt **37p** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36p** (0.44 g, 1.57 mmol) in 6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.23 ml, 3.23 mmol) in 2.5 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.45 g, 1.50 mmol) erhalten. **38p** wurde nach dem allgemeinen Verfahren K aus dem Zwischenprodukt **37p** (0.45 g, 1.50 mmol) in 13 ml Chloroform mit einer Lösung von *N*-Methylpiperazin (0.38 g, 3.75 mmol) in 26 ml Chloroform hergestellt und als beiger Feststoff erhalten (0.34 g, 0.94 mmol, 60%) [108].

$C_{19}H_{20}Cl_2N_2O$ ($M = 363.28$ g/mol), Smp. 121 °C. **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32 - 7.26 (m, 2H), 7.26 (dd, $J = 7.8, 4.7$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 6.79 - 6.74 (m, 1H), 4.88 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 3.87 (s, 1H), 2.84 - 2.07 (m, 11H). **^{13}C -NMR** (101 MHz, $CDCl_3$) δ 151.79 (C_{quat}), 142.11 (C_{quat}), 134.53 (C_{quat}), 132.19 (C_{quat}), 131.90 (+, Ar-CH), 131.28 (+, Ar-CH), 130.90 (+, Ar-CH), 128.93 (+, Ar-CH), 128.40 (+, Ar-CH), 124.81 (C_{quat}), 124.65 (C_{quat}), 119.99 (+, Ar-CH), 75.73 (+, CH), 69.28 (-, CH_2), 55.29 (-, 2 CH_2), 51.54 (-, 2 CH_2), 45.85 (+, CH_3). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{19}H_{21}Cl_2N_2O^+$ $[M+H]^+$ 363.1025; gefunden: 363.1030. **CHN** ($C_{19}H_{20}Cl_2N_2O$) berechnet: C 62.82, H 5.55, N 7.71; gefunden: C 62.45, H 5.79, N 7.43.

6.3 Chirale Trennung der racemischen Verbindung **38e** [108]



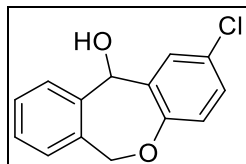
$C_{19}H_{21}ClN_2O$ ($M = 328.84$ g/mol)

Das racemische 1-(2-Chlor-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*] oxepin-11-yl)-4-methylpiperazin **38e** (synthetisiert von J. Spindler nach den allgemeinen Versuchsvorschriften A-G) und (+)-*O,O'*-di-*p*-toluoyl-*D*-weinsäure (Acros Organics, Geel, Belgien) (molares Mischungsverhältnis 1/1) wurden durch Erwärmen der Mischung in Methanol gelöst. Die gesättigte Mischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, um das (+)-*O, O'*-Di-*p*-toluoyl-*D*-weinsäuresalz (1/1) zu ergeben. Die Kristalle wurden filtriert, die (*S*)-Enantiomere mit einer Reinheit $S/R = 87/13$ wurden erhalten (der Enantiomerenüberschuss wurde mit 1H -NMR-Spektroskopie bestimmt). Das Weinsäure-Derivat selbst diente als Shift-Reagenz. Die Kristalle wurden in DCM gelöst und die Base mit Hilfe von 25% Ammoniaklösung freigesetzt. Die Kristallisation wurde wiederholt, wobei ein Verhältnis $S/R = 98/2$ erreicht wurde. Nach der dritten Kristallisation wurde ein Enantiomerenüberschuss von 93.4 (gemäß CE) für die freie Base erhalten. Um die Eignung dieser Methode zu Beginn zu bestätigen, wurden zusätzlich Spektren mit dem Shift-Reagenz (*S*)-(+)-2,2,2-Trifluor-1-(9-anthryl)ethanol gemessen, was zu den gleichen Ergebnissen führte.

Das (+)-*O,O'*-Di-*p*-toluoyltartratsalz aus der Lösung der ersten Kristallisation (so) enthielt die Enantiomere mit einem Enantiomerenverhältnis $R/S = 68/32$. Die Base wurde analog zum (*S*)-Enantiomer freigesetzt und die Kristallisation mit (-)-*O,O'*-Di-*p*-toluoyl-*L*-weinsäure (Acros Organics, Geel, Belgien) durchgeführt. Die erhaltenen Kristalle lieferten das (*R*)-Enantiomer mit einem Verhältnis $R/S = 96/4$. Nach der zweiten Kristallisation wurde ein Enantiomerenüberschuss von 93.6 (gemäß CE) für die freie Base erhalten [108].

6.4 Synthese der Doxepin-Derivate mit verschiedenen Amin-Substitutionsmustern

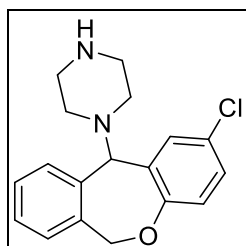
2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-ol (**36e**) [108]



$C_{14}H_{11}ClO_2$ (M = 246.69 g/mol)

Verbindung **36e** wurde nach den allgemeinen Versuchsvorschriften synthetisiert. Die NMR-Spektren entsprachen der Literatur.

1-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-piperazin (**39a**)



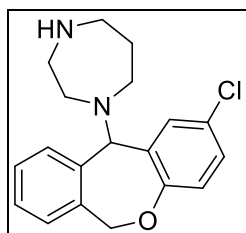
$C_{18}H_{19}ClN_2O$ (M = 314.81 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36e** (0.3 g, 1.22 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in 1.84 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.33 g, 1.25 mmol) erhalten. **39a** wurde gemäß der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.33 g, 1.25 mmol) in 1.8 ml Chloroform mit einer Lösung von Piperazin (0.27 g, 3.15 mmol) in 4 ml Chloroform hergestellt und als weißer Feststoff (0.15 g, 0.48 mmol, 38%) erhalten.

$C_{18}H_{19}ClN_2O$ (M = 314.81 g/mol), Smp. 153-156°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.22 (m, 3H), 7.22 - 7.16 (m, 1H), 7.14 - 7.06 (m, 2H), 6.81 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 6.76 - 6.67 (m, 1H), 4.70 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.80 (s, 1H), 3.01 - 2.75 (m, 4H), 2.64 - 2.20 (m, 4H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 155.04 (C_{quat}), 140.13 (C_{quat}), 133.94 (C_{quat}), 132.55 (+, Ar-CH), 129.85 (+, Ar-CH), 129.62 (+, Ar-CH), 129.07 (+, Ar-CH), 128.75 (+, Ar-CH), 128.52 (+, Ar-CH), 124.92 (C_{quat}), 124.09 (C_{quat}), 121.94 (+, Ar-CH), 76.21

(+, CH), 69.44 (-, CH₂), 52.55 (-, 2 CH₂), 46.14 (-, 2 CH₂). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für C₁₈H₂₀ClN₂O⁺ [M+H]⁺ 315.1263, gefunden: 315.1259 (100), 317.1235 (34). **CHN** (C₁₈H₁₉ClN₂O · 0.25 EtOAc) berechnet: C 67.47, H 6.35, N 8.14; gefunden: C 67.29, H 6.00, N 8.32.

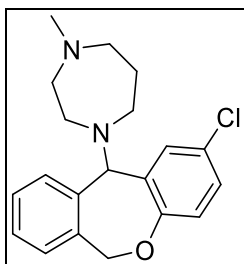
1-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-diazepan (39b)



C₁₉H₂₁ClN₂O (M = 328.13 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36e** (0.30 g, 1.25 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in 1.84 ml DCM hergestellt und als violetteres Öl (0.33 g, 1.25 mmol) erhalten. **39b** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.33 g, 1.25 mmol) in 1.8 ml Chloroform mit einer Lösung von Homopiperazin (0.31 g, 3.15 mmol) in 4 ml Chloroform hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.14 g, 0.42 mmol, 34%).

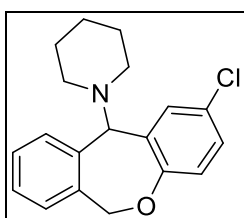
C₁₉H₂₁ClN₂O (M = 328.13 g/mol), Smp. 183.5°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.38 - 7.15 (m, 3H), 7.14 - 7.03 (m, 2H), 6.77 - 6.55 (m, 3H), 4.76 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 3.30 - 3.10 (m, 2H), 3.10 - 2.75 (m, 4H), 2.75 - 2.51 (m, 2H), 1.99 - 1.83 (m, 2H), 1.36 - 1.09 (m, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 154.73 (C_{quat}), 141.32 (C_{quat}), 133.56 (C_{quat}), 132.31 (+, Ar-CH), 130.00 (+, Ar-CH), 129.49 (+, Ar-CH), 128.79 (+, Ar-CH), 128.72 (+, Ar-CH), 128.36 (+, Ar-CH), 126.64 (C_{quat}), 124.14 (C_{quat}), 121.99 (+, Ar-CH), 74.54 (+, CH), 69.53 (-, CH₂), 55.63 (-, CH₂), 51.99 (-, CH₂), 49.20 (-, CH₂), 47.23 (-, CH₂), 30.41 (-, CH₂). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für C₁₉H₂₂ClN₂O⁺ [M+H]⁺ 329.1421; gefunden: 329.1421. **CHN** (C₁₈H₁₉ClN₂O · 0.4 Acetamid) berechnet: C 67.47, H 6.58, N 9.54; gefunden: C 67.31, H 6.55, N 9.11.

1-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methyl-1,4-diazepan (39c)

$C_{20}H_{23}ClN_2O$ ($M = 342.87$ g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Verfahren G aus **36e** (0.30 g, 1.25 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in 1.84 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.33 g, 1.25 mmol) erhalten. **39c** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.33 g, 1.25 mmol) in 1.8 ml Chloroform mit einer Lösung von 1-Methylhomopiperazin (0.35 g, 3.0 mmol) in 4 ml Chloroform hergestellt und als gelbes Öl erhalten (0.20 g, 0.58 mmol, 46%).

$C_{20}H_{23}ClN_2O$ ($M = 342.87$ g/mol), 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.34 - 7.17 (m, 3H), 7.13 - 7.04 (m, 2H), 6.87 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.74 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 4.11 (s, 1H), 2.76 - 2.55 (m, 6H), 2.52 - 2.39 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.81 - 1.69 (m, 2H). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 154.78 (C_{quat}), 141.30 (C_{quat}), 133.61 (C_{quat}), 132.31 (+, Ar-CH), 129.93 (+, Ar-CH), 129.46 (+, Ar-CH), 128.76 (+, Ar-CH), 128.71 (+, Ar-CH), 128.34 (+, Ar-CH), 126.60 (C_{quat}), 124.12 (C_{quat}), 121.93 (+, Ar-CH), 74.76 (+, CH), 69.53 (-, CH_2), 58.39 (-, CH_2), 56.51 (-, CH_2), 52.19 (-, CH_2), 51.71 (-, CH_2), 46.96 (+, CH_3), 27.45 (-, CH_2). HR (ESI-MS) m/z berechnet für $C_{20}H_{24}ClN_2O^+$ $[M+H]^+$ 343.1572; gefunden: 343.1573.

1-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-piperidin (39d) [123]

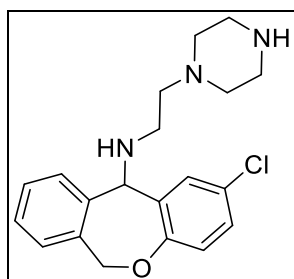
$C_{19}H_{20}ClNO$ ($M = 313.83$ g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36e** (0.30 g, 1.25 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in

1.84 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.33 g, 1.25 mmol) erhalten. **39d** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.33 g, 1.25 mmol) in 1.8 ml Chloroform mit einer Lösung von (0.31 g, 3.15 mmol) Homopiperazin in 4 ml Chloroform hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.19 g, 0.60 mmol, 48%).

$C_{19}H_{20}ClNO$ ($M = 313.83$ g/mol), Smp. 147.5-148.5°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.33 - 7.21 (m, 3H), 7.21 - 7.14 (m, 1H), 7.12 - 7.04 (m, 2H), 6.89 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 6.76 - 6.66 (m, 1H), 4.69 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 3.76 (s, 1H), 2.56 - 2.05 (m, 4H), 1.52 - 1.31 (m, 6H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 154.89 (C_{quat}), 141.11 (C_{quat}), 133.87 (C_{quat}), 132.51 (+, Ar-CH), 129.79 (+, Ar-CH), 129.34 (+, Ar-CH), 128.85 (+, Ar-CH), 128.61 (+, Ar-CH), 128.23 (+, Ar-CH), 125.89 (C_{quat}), 123.89 (C_{quat}), 121.81 (+, Ar-CH), 76.54 (+, CH), 69.40 -, (CH_2), 52.86 (-, 2 CH_2), 26.31 (-, 2 CH_2), 24.56 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{19}H_{21}ClNO^+$ $[M+H]^+$ 314.14; gefunden: 314.13 (100%). **CHN** ($C_{19}H_{20}ClNO$) berechnet: C 72.72, H 6.42, N 4.46; gefunden: C 72.49, H 6.24, N 4.33.

2-Chloro-*N*-(2-(piperazin-1-yl)ethyl)-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-amin (39e)



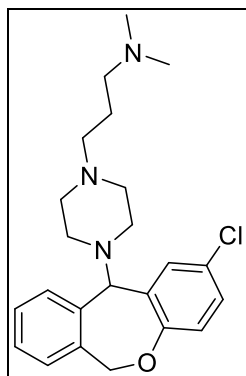
$C_{20}H_{24}ClN_3O$ ($M = 357.88$ g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36e** (0.30 g, 1.25 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in 1.84 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.33 g, 1,25 mmol) erhalten. **39e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.33 g, 1.25 mmol) in 1.8 ml Chloroform mit einer Lösung von 1-(2-Aminoethyl)piperazin (0.26 g, 3.05 mmol) in 4 ml Chloroform hergestellt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung des entstandenen Produktgemisches war nicht möglich (0.15 g, 0.43 mmol, 34%). Daher wurde dieses in Chloroform (5 ml) gelöst und mit Phtalsäureanhydrid (66 mg, 0.45 mmol) und TEA (60 μ L, 0.43 mmol) 15 h refluxiert, wobei **39e** als solches unverändert blieb. Der Ansatz wurde in Eiswasser gegossen

und mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten Natriumcarbonatlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung war nach Vorschrift G möglich. **39e** wurde als weißer Feststoff erhalten (0.06 g, 0.17 mmol, 14%).

$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}$ (M = 357.88 g/mol), Smp. 108-110°C, **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ 7.33 - 7.26 (m, 2H), 7.25 - 7.16 (m, 2H), 7.12 (dd, $J = 8.6, 2.6$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.22 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 5.34 (bs, 1H), 4.86 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.51 (s, 1H), 2.85 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.38 - 2.04 (m, 2H), 2.41 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.33 - 2.06 (m, 6H), 1.31 - 1.16 (m, 1H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ 155.82 (C_{quat}), 139.70 (C_{quat}), 135.41 (C_{quat}), 130.86 (+, Ar-CH), 130.74 (C_{quat}), 129.35 (+, Ar-CH), 129.05 (+, Ar-CH), 128.62 (+, Ar-CH), 128.24 (+, Ar-CH), 128.22 (+, Ar-CH), 126.21 (C_{quat}), 122.14 (+, Ar-CH), 71.20 (-, CH_2), 67.71 (+, CH), 58.09 (-, CH_2), 54.28 (-, 2 CH_2), 45.96 (-, 2 CH_2), 44.36 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{ClN}_3\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 358.1681; gefunden: 358.1691 (100).

3-(4-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin-1-yl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (39f)

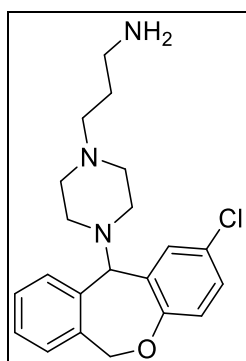


$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}$ (M = 399.21 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36e** (0.30 g, 1.25 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in 1.84 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.33 g, 1.25 mmol) erhalten. **39f** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.50 g, 1.89 mmol) in 2.4 ml Chloroform mit einer Lösung von 1-(3-Dimethylamino)propylpiperazin (0.81 g, 4.73 mmol) in 4.8 ml Chloroform hergestellt und wurde als klares Öl erhalten (70 mg, 0.18 mmol, 14%).

$C_{23}H_{30}ClN_3O$ ($M = 399.21$ g/mol), 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37 - 7.22 (m, 3H), 7.19 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 7.14 - 7.03 (m, 2H), 6.79 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 6.76 - 6.67 (m, 1H), 4.69 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 3.81 (s, 1H), 2.65 - 2.07 (m, 18H), 1.76 - 1.55 (m, 2H). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 155.05 (C_{quat}), 140.32 (C_{quat}), 133.98 (C_{quat}), 132.49 (+, Ar-CH), 129.78 (+, Ar-CH), 129.55 (+, Ar-CH), 128.96 (+, Ar-CH), 128.74 (+, Ar-CH), 128.45 (+, Ar-CH), 125.21 (C_{quat}), 124.05 (C_{quat}), 121.89 (+, Ar-CH), 75.94 (+, CH), 69.44 (-, CH_2), 57.90 (-, CH_2), 56.53 (-, CH_2), 53.51 (-, CH_2), 51.61 (-, CH_2), 45.49 (+, 2 CH_3), 25.15 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{23}H_{31}ClN_3O^+$ $[M+H]^+$ 400.2157, gefunden: 400.2157.

3-(4-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin-1-yl)propan-1-amin (39g)



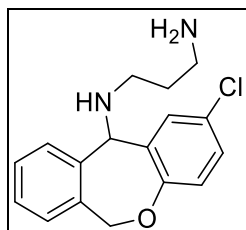
$C_{21}H_{26}ClN_3O$ ($M = 371.91$ g/mol)

39a (0.30 g, 0.96 mmol), 3-Brompropylaminhydrobromid (0.21 g, 0.96 mmol), DIPEA (0.5 g, 3.82 mmol) und NaI (143 mg, 0.96 mmol) wurden 2 h in Chloroform unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Mischung in Wasser gegossen und das Produkt mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das weiße feste Produkt **39g** wurde mit Säulenchromatographie (Ethylacetat/7 M NH_3 in MeOH 10/1 v/v) gereinigt (40 mg, 0.11 mmol, 12%).

$C_{21}H_{26}ClN_3O$ ($M = 371.91$ g/mol), Smp. 78-80°C, 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32 - 7.22 (m, 3H), 7.22 - 7.16 (m, 1H), 7.13 - 7.04 (m, 2H), 6.78 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 6.75 - 6.68 (m, 1H), 5.55 (bs, 1H), 4.68 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 3.82 (s, 1H), 2.79 - 2.10 (m, 12H), 1.69 - 1.53 (m, 2H), 1.26 (bs, 1H). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 155.05 (C_{quat}), 140.29 (C_{quat}), 133.98 (C_{quat}), 132.49 (+, Ar-CH), 129.79 (+, Ar-CH), 129.57 (+, Ar-CH), 128.98 (+, Ar-CH), 128.76 (+, Ar-CH), 128.49 (+, Ar-CH), 125.19 (C_{quat}), 124.09 (C_{quat}),

121.89 (+, Ar-CH), 75.90 (+, CH), 69.45 (-, CH₂), 56.46 (-, CH₂), 53.52 (-, 2 CH₂), 51.60 (-, 2 CH₂), 40.82 (-, CH₂), 29.85 (-, CH₂). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für C₂₁H₂₇ClN₃O⁺ [M+H]⁺ 372.1845, gefunden: 372.1837.

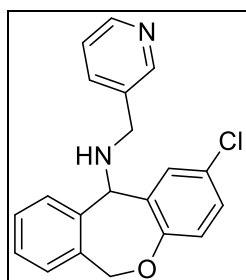
***N*-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)propan-1,3-diamin (39h)**



C₁₇H₁₉ClN₂O (M = 302.80 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36e** (0.30 g, 1.25 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in 1.84 ml DCM hergestellt und als violettes Öl (0.33 g, 1.25 mmol) erhalten. **39h** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.50 g, 1.89 mmol) in 2.4 ml Chloroform mit einer Lösung von Diaminopropan (0.81 g, 4.73 mmol) in 4.8 ml Chloroform hergestellt und als weißer klebriger Feststoff erhalten (0.40 mg, 0.13 mmol, 10%).

C₁₇H₁₉ClN₂O (M = 302.80/mol), **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.26 (m, 3H), 7.24 - 7.17 (m, 2H), 7.16 - 7.09 (m, 1H), 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.28 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.85 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.51 (s, 1H), 2.77 - 2.47 (m, 4H), 1.61 (m, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 155.79 (C_{quat}), 152.79 (C_{quat}), 139.56 (C_{quat}), 135.40 (C_{quat}), 130.85 (+, Ar-CH), 130.51 (C_{quat}), 129.43 (+, Ar-CH), 129.15 (+, Ar-CH), 128.67 (+, Ar-CH), 128.30 (+, Ar-CH), 128.27 (+, Ar-CH), 122.21 (+, Ar-CH), 71.12 (-, CH₂), 68.03 (+, CH), 46.01 (-, CH₂), 40.44 (-, CH₂), 33.21 (-, CH₂). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für C₁₇H₁₉ClN₂O: [M+H]⁺ 303.1262, gefunden: 303.1259.

2-Chloro-N-(pyridin-3-yl-methyl)-6,11-dihydrodibenzo[b,e]oxepin-11-amin (39i)

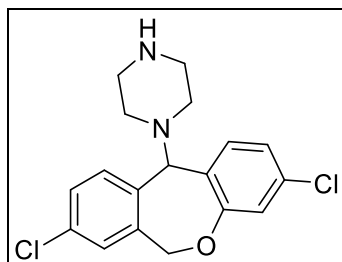
$C_{20}H_{17}ClN_2O$ (M = 336.82 g/mol)

Das Zwischenprodukt **37e** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36e** (0.30 g, 1.25 mmol) in 3.6 ml DCM mit einer Lösung von Thionylchlorid (0.18 ml, 2.5 mmol) in 1.84 ml DCM hergestellt und als violetteres Öl (0.33 g, 1.25 mmol) erhalten. **39i** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Zwischenprodukt **37e** (0.33 g, 1.25 mmol) in 1.8 ml Chloroform mit einer Lösung von 3-Picolylamin (0.33 g, 3.0 mmol) in Chloroform (4 ml) hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (195 mg, 0.58 mmol, 46%).

$C_{20}H_{17}ClN_2O$ (M = 336.82 g/mol), Smp. 91-93°C, **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 - 8.41 (m, 2H), 7.67 - 7.61 (m, 1H), 7.36 - 7.18 (m, 5H), 7.17 - 7.09 (m, 2H), 6.91 - 6.82 (m, 1H), 6.35 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.87 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.56 (s, 1H), 3.85 - 3.54 (m, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 155.96 (C_{quat}), 149.65 (+, Ar-CH), 148.54 (+, Ar-CH), 138.75 (C_{quat}), 135.87 (+, Ar-CH), 135.56 (C_{quat}), 135.22 (C_{quat}), 130.90 (+, Ar-CH), 129.69 (C_{quat}), 129.61 (+, Ar-CH), 129.45 (+, Ar-CH), 128.85 (+, Ar-CH), 128.61 (+, Ar-CH), 128.38 (+, Ar-CH), 126.28 (C_{quat}), 123.43 (+, Ar-CH), 122.35 (+, Ar-CH), 71.14 (-, CH_2), 67.15 (+, CH), 49.22 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{20}H_{18}ClN_2O^+$ $[M+H]^+$ 337.1107; gefunden: 337.1102. **CHN** ($C_{20}H_{17}ClN_2O \cdot 0.14$ DCM): C, 69.37; H, 5.00; N, 8.03 gefunden: C 69.77, H 5.20, N 7.64.

6.5 Synthese der dimeren Ligand-Verbindungen

1-(3,8-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin (40)

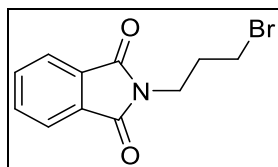


$C_{18}H_{18}Cl_2N_2O$ (M = 348.26 g/mol)

40 wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus dem Chlorid-Zwischenprodukt **37e** (2.14 g, 7.11 mmol) in 9ml Chloroform mit einer Lösung von Piperazin (1.53 g, 17.80 mmol) in 19 ml Chloroform hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.89 g, 2.56 mmol, 36%).

$C_{18}H_{18}Cl_2N_2O$ (M = 348.26g/mol), Smp. 153.3-155.4°C, **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.43 - 7.38 (m, 1H), 7.35 (dd, J = 8.0, 2.2 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.97 - 6.86 (m, 3H), 4.77 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 3.96 (s, 1H), 2.90 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 2.65 - 2.21 (m, 4H), 1.83 (s, 1H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 156.89 (C_{quat}), 138.71 (C_{quat}), 135.58 (C_{quat}), 135.19 (C_{quat}), 134.38 (+, Ar-CH), 134.13 (C_{quat}), 130.37 (+, Ar-CH), 129.97 (+, Ar-CH), 128.62 (+, Ar-CH), 121.54 (C_{quat}), 120.43 (+, Ar-CH), 120.18 (+, Ar-CH), 75.20 (+, CH), 68.84 (-, CH_2), 52.31 (-, 2 CH_2), 46.03 (-, 2 CH_2). **ESI-MS** m/z 349.09 [$M+H$]⁺ (100), 265.00 [$M+H$]⁺ (43). **CHN** ($C_{18}H_{18}Cl_2N_2O \cdot 0.1$ EtOAc) berechnet: C, 61.72; H, 5.29; N, 7.82 gefunden: C 61.44, H 5.16, N 7.88.

2-(3-Bromopropyl)isoindolin-1,3-dion (43) [147]



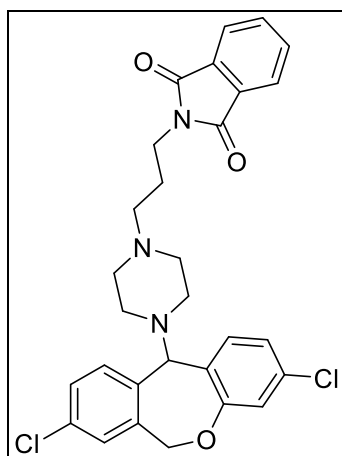
$C_{11}H_{10}BrNO_2$ (M = 268.11 g/mol)

3-Bromopropylaminhydrobromid (2.80 g, 12.8 mmol), Phthalsäureanhydrid (1.95 g, 13.4 mmol) und TEA (1.25 g, 12.8 mmol) wurden in Chloroform (50 ml) 15 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Mischung in

kaltes Wasser gegossen und das Produkt mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer Lösung von Na₂CO₃ (5%) gewaschen. Nach dem Trocknen mit MgSO₄ und Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (Lösungsmittel EtOAc/7 M NH₃ in MeOH 9/1 v/v) gereinigt. **43** wurde als weißer Feststoff erhalten (1.15 g, 4.29 mmol, 34%).

C₁₁H₁₀BrNO₂ (M = 268.11 g/mol), Smp. 82.7-83.4°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.88 - 7.81 (m, 2H), 7.75 - 7.68 (m, 2H), 3.84 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.41 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.32 - 2.18 (m, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 167.08 (2 C_{quat}), 132.89 (+, 2 Ar-CH), 130.77 (2 C_{quat}), 122.16 (+, 2 Ar-CH), 37.44 (-, CH₂), 31.36 (-, CH₂), -0.01 (-, CH₂). **EI-MS** *m/z* 268.99 M⁺ (4), 266.99 M⁺ (4), 188.07 (47), 160.04 (100). **CHN** (C₁₁H₁₀BrNO₂ · 0.6 DCM) berechnet: C, 43.67; H, 3.54; N, 4.39 gefunden: C 43.48, H 3.54, N 4.39.

2-(3-(4-(3,8-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin-1-yl)propyl)isoindolin-1,3-dion (44**)**

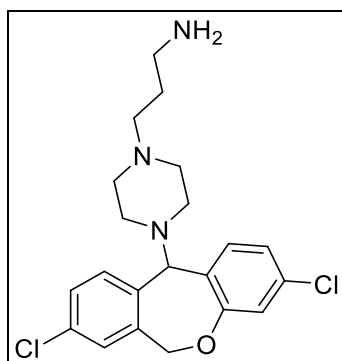


C₂₉H₂₇Cl₂N₃O₃ (M = 536.45 g/mol)

40 (0.65 g, 1.86 mol), **43** (0.50 g, 1.86 mmol), DIPEA (0.56 g, 7.44 mmol) und NaI (0.27 g, 1.86 mol) wurden 2 h in MeCN unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt, die Mischung in Wasser gegossen und das Produkt mit DCM extrahiert. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ wurde das Produkt durch Säulenchromatographie (DCM/MeOH 9/1 v/v) gereinigt und **44** als weißer Feststoff erhalten (0.50 g, 0.93 mmol, 50%).

$C_{29}H_{27}Cl_2N_3O_3$ (M = 536.45 g/mol), Smp. 98-100°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.91 - 7.79 (m, 2H), 7.78 - 7.66 (m, 2H), 7.30 - 7.16 (m, 2H), 7.13 - 7.01 (m, 1H), 6.95 - 6.89 (m, 1H), 6.83 - 6.74 (m, 2H), 6.70 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 4.60 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 3.81 - 3.62 (m, 3H), 2.94 - 1.90 (m, 10H), 1.90 - 1.79 (m, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 168.46 (2 C_{quat}), 156.87 (C_{quat}), 138.80 (C_{quat}), 135.61 (C_{quat}), 135.11 (C_{quat}), 134.28 (+, Ar-CH), 134.06 (C_{quat}), 133.86 (+, 2 Ar-CH), 132.33 (2 C_{quat}), 130.24 (+, Ar-CH), 129.89 (+, Ar-CH), 128.58 (+, Ar-CH), 123.23 (+, 2 Ar-CH), 121.71 (C_{quat}), 120.35 (+, Ar-CH), 120.14 (+, Ar-CH), 74.91 (+, CH), 68.80 (-, CH_2), 55.71 (-, CH_2), 53.18 (-, CH_2), 51.27 (-, 2 CH_2), 36.50 (-, 2 CH_2), 25.16 (-, CH_2). **ESI-MS** m/z 538.15 $[M+H]^+$ (65), 536.15 $[M+H]^+$ (100).

3-(4-(3,8-Dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin-1-yl)propan-1-amin (45)



$C_{21}H_{25}Cl_2N_3O$ (M = 406.35 g/mol)

44 (0.50 g, 0.93 mmol) wurde in Ethanol (10 ml) gelöst. Nach Kühlung auf 0 ° C wurde Hydrazin (0.18 g, 3.6 mmol) zugetropft. Das Gemisch wurde 30 min gerührt, dann wurde das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde in DCM gelöst und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. **45** wurde durch Säulenchromatographie (DCM/MeOH 9/1 v/v) gereinigt und als weißer Feststoff erhalten (0.34 g, 0.84 mmol, 90%).

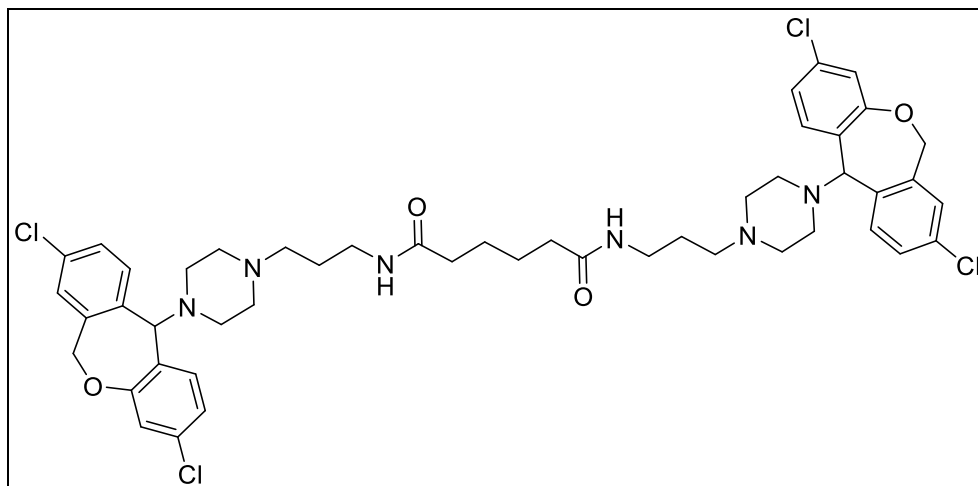
$C_{21}H_{25}Cl_2N_3O$ (M = 406.35 g/mol), Smp. 100.3-103.4°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.31-7.27 (m, 1H), 7.25 - 7.20 (m, 1H), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.82 - 6.76 (m, 3H), 4.63 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 3.84 (s, 1H), 2.76 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.52 - 2.23 (m, 6H), 2.16 - 2.01 (m, 4H), 1.69 - 1.53 (m, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 156.91 (C_{quat}), 138.92 (C_{quat}), 135.63 (C_{quat}), 135.11 (C_{quat}), 134.33 (+, Ar-

CH), 130.28 (+, Ar-CH), 129.91 (+, Ar-CH), 128.61 (+, Ar-CH), 121.83 (C_{quat}), 120.36 (+, Ar-CH), 120.17 (+, Ar-CH), 118.22 (C_{quat}), 74.95 (+, CH), 68.85 (-, CH₂), 56.49 (-, CH₂), 53.49 (-, 2 CH₂), 51.58 (-, CH₂), 40.89 (-, 2 CH₂), 29.86 (-, CH₂). **ESI-MS** *m/z* 406.15 [M+H]⁺ (100). **CHN** (C₂₁H₂₅Cl₂N₃O · 0.4 EtOAc) berechnet: C, 57.32; H, 6.08; N, 8.68 gefunden: C 57.31, H 6.25, N 8.63.

Allgemeine Versuchsvorschrift H für die Verbindungen 46a-c

45 (2 Äquivalente) wurden in trockenem THF unter Argon-Atmosphäre gelöst. TEA (4 Äquivalente) und das entsprechende Säurechlorid (1 Äquivalent) wurden zugegeben und das Gemisch 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach dieser Zeit wurde das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und Wasser zu der Mischung gegeben. Das Produkt wurde mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet und die Produkte **46a-c** wurden durch Säulenchromatographie (EtOAc/7 M NH₃ in MeOH 10/1 v/v) gereinigt.

N,N-Bis(3-(4-(3,8-dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin-1-yl)propyl)adipoyldiamid (**46a**)



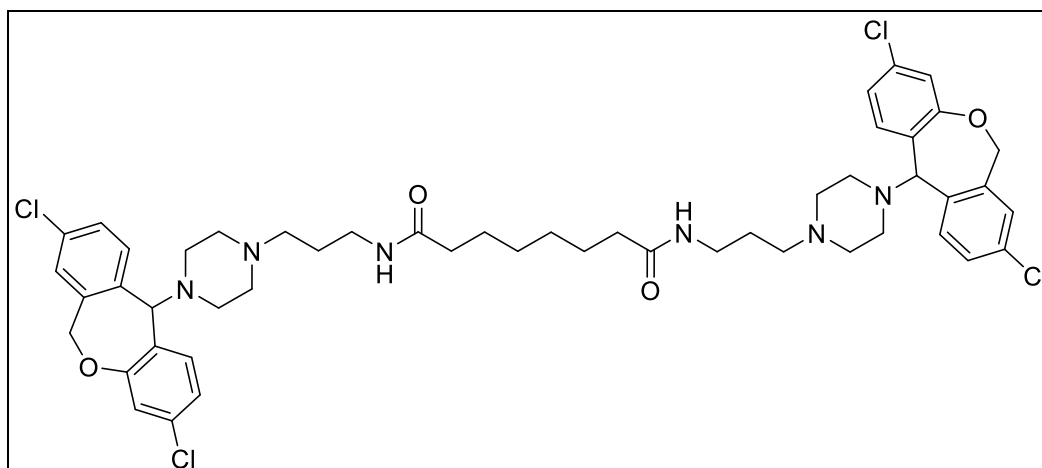
C₄₈H₅₆Cl₄N₆O₄ (M = 922.81 g/mol)

46a wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift H aus **45** (0.50 g, 1.23 mmol), TEA (0.24 g, 2.47 mmol) und Adipoyldichlorid (0.11 g, 0.62 mmol) hergestellt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten (0.17 g, 0.18 mmol, 30%).

C₄₈H₅₆Cl₄N₆O₄ (M = 922.81 g/mol), Smp. 107-109°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.30 - 7.20 (m, 4H), 7.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.12 - 7.04 (m, 2H), 7.02 (d, *J* = 8.0 Hz,

2H), 6.82 - 6.76 (m, 2H), 6.73 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H), 4.64 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.29 (dd, $J = 11.7, 5.9$ Hz, 4H), 2.70 - 2.07 (m, 24H), 1.71 - 1.55 (m, 8H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ 172.66 (2 C_{quat}), 156.91 (2 C_{quat}), 138.75 (2 C_{quat}), 135.60 (2 C_{quat}), 135.18 (2 C_{quat}), 134.34 (+, 2 Ar-CH), 134.14 (2 C_{quat}), 130.36 (+, 2 Ar-CH), 129.94 (+, 2 Ar-CH), 128.68 (+, 2 Ar-CH), 121.73 (2 C_{quat}), 120.41 (+, 2 Ar-CH), 120.25 (+, 2 Ar-CH), 74.77 (+, 2 CH), 68.86 (-, 2 CH_2), 57.16 (-, 4 CH_2), 53.40 (-, 4 CH_2), 51.64 (-, 2 CH_2), 39.32 (-, 2 CH_2), 36.45 (-, 2 CH_2), 25.24 (-, 2 CH_2), 22.66 (-, 2 CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $\text{C}_{48}\text{H}_{57}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_4^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 921.3189, gefunden: 921.3190. **CHN** ($\text{C}_{48}\text{H}_{56}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_4 \cdot 0.8$ DCM) berechnet: C, 59.16; H, 5.86; N, 8.48 gefunden: C 58.77, H 6.10, N 8.85.

***N,N*-Bis(3-(4-(3,8-dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin-1-yl)propyl)octanoyldiamid (46b)**



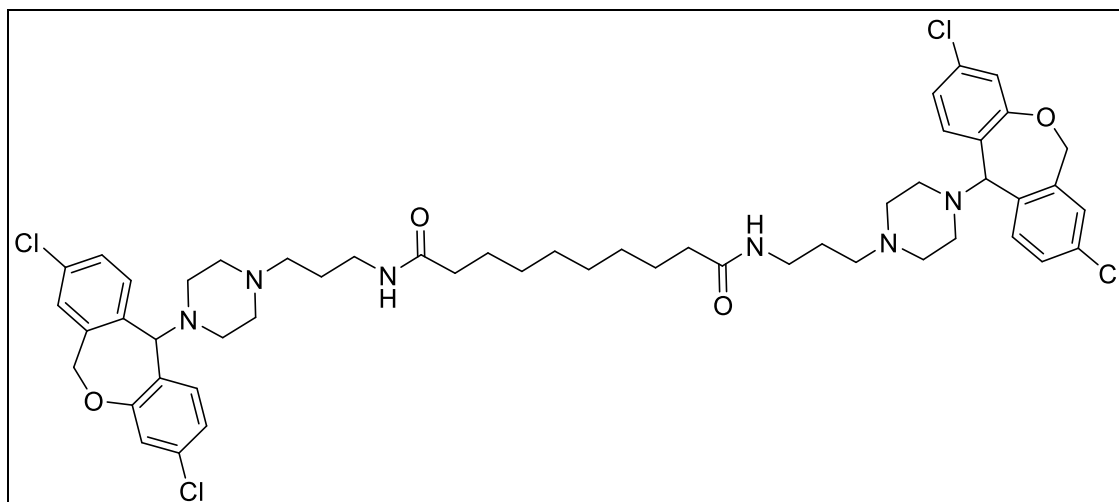
$\text{C}_{50}\text{H}_{60}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_4$ ($M = 948.34$ g/mol)

46b wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift H aus **45** (0.50 g, 1.23 mmol), TEA (0.24 g, 2.47 mmol) und Octanoyldichlorid (0.96 g, 0.62 mmol) hergestellt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten (170 mg, 0.18 mmol, 29%).

$\text{C}_{50}\text{H}_{60}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_4$ ($M = 948.34$ g/mol), Smp. 84 - 86°C, **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ 7.29 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 7.27 - 7.20 (m, 4H), 7.13 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.98 - 6.76 (m, 4H), 6.71 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H), 4.62 (d, $J = 11.7$ Hz, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.62 (d, $J = 1.7$ Hz, 2H), 3.26 (dd, $J = 11.7, 6.0$ Hz, 4H), 2.53 - 2.23 (m, 10.0 Hz, 18H), 2.16 - 2.06 (m, 4H), 1.68 - 1.52 (m, 8H), 1.38 - 1.29 (m, 4H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ 173.05 (2 C_{quat}), 156.91 (2 C_{quat}), 138.72 (2 C_{quat}), 135.60 (2 C_{quat}), 135.17 (2 C_{quat}), 134.27 (2 C_{quat}), 134.14 (+, 2 Ar-CH), 130.30 (+, 2 Ar-CH), 129.95 (+, 2 Ar-CH), 128.66 (+, 2 Ar-CH),

121.72 (2 C_{quat}), 120.42 (+, 2 Ar-CH), 120.22 (+, 2 Ar-CH), 74.83 (+, 2 CH), 68.86 (-, 2 CH₂), 56.94 (-, 4 CH₂), 53.35 (-, 4 CH₂), 51.58 (-, 2 CH₂), 39.09 (-, 2 CH₂), 36.73 (-, 2 CH₂), 28.95 (-, 2 CH₂), 25.61 (-, 2 CH₂), 25.33 (-, 2 CH₂). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₄₆H₅₃Cl₄N₆O₄⁺ [M+H]⁺ 949.3487, gefunden: 949.3503. **CHN** (C₄₆H₅₂Cl₄N₆O₄ · 3 H₂O, Acetamid) berechnet: C, 58.70; H, 6.73; N, 9.22, gefunden: C 57.88, H 6.70, N 9.25.

***N,N*-Bis(3-(4-(3,8-dichloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)piperazin-1-yl)propyl)sebacoyldiamid (46c)**



C₅₂H₂₅Cl₄N₆O₄ (M = 978.92 g/mol)

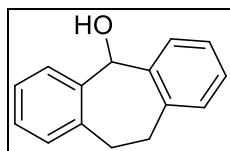
46c wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift H aus **45** (0.60 g, 1.48 mmol), TEA (0.18g, 0.74 mmol) und Sebacoyldichlorid (0.18 g, 0.74 mmol) hergestellt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten (0.21 g, 0.21 mmol, 29%).

C₅₂H₂₅Cl₄N₆O₄ (M = 978.92 g/mol), Smp. 166-168°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.30 - 7.18 (m, 4H), 7.13 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.86 - 6.67 (m, 6H), 4.65 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.30 (dd, *J* = 11.7, 5.9 Hz, 4H), 2.81 - 2.19 (m, 20H), 2.20 - 2.07 (m, 4H), 1.75 - 1.51 (m, 8H), 1.39 - 1.19 (m, 8H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 172.89 (2 C_{quat}), 156.92 (2 C_{quat}), 138.66 (2 C_{quat}), 135.60 (2 C_{quat}), 135.23 (2 C_{quat}), 134.24 (+, 2 Ar-CH), 134.18 (2 C_{quat}), 130.27 (+, 2 Ar-CH), 129.99 (+, 2 Ar-CH), 128.68 (+, 2 Ar-CH), 121.64 (2 C_{quat}), 120.47 (+, 2 Ar-CH), 120.22 (+, 2 Ar-CH), 74.90 (+, 2 CH), 68.85 (-, 2 CH₂), 57.13 (-, 4 CH₂), 53.37 (-, 4 CH₂), 51.61 (- 2 CH₂), 39.18 (-, 2 CH₂), 37.02 (-, 2 CH₂), 29.39 (-, 2 CH₂), 29.33 (-, 2 CH₂), 25.88 (-, 2 CH₂), 25.24 (-, 2 CH₂). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₁₈H₂₆N₃O⁺ [M+H]⁺ 979.3809,

gefunden: 977.3816. **CHN** ($C_{52}H_{25}Cl_4N_6O_4 \cdot 1.2 \text{ Acetamid} \cdot 1 \text{ H}_2O$) berechnet: C, 61.19; H, 6.80; N, 9.44, gefunden: C 61.40, H 6.74, N 9.09.

6.6 Synthese der Imidazol-Doxepin-Liganden

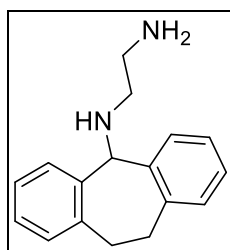
10,11-Dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-ol (**36q**) [108]



$C_{15}H_{14}O$ ($M = 210.28 \text{ g/mol}$)

36q [207] wurde nach den allgemeinen Vorschriften F aus Dibenzosuberone hergestellt. Die NMR- Daten entsprachen der Literatur.

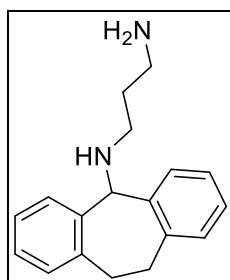
N'-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)ethane-1,2-diamin (**47a**) [150]



$C_{17}H_{20}N_2$ ($M = 352.36 \text{ g/mol}$)

Das Zwischenprodukt **37q** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36q** (5.00 g, 20.3 mmol) hergestellt. Aus dem Zwischenprodukt (5.38 g, 20.52 mmol) in 30 ml Chloroform wurde nach der allgemeinen Vorschrift G mit einer Lösung von Ethylendiamin (8.58 g, 142.8 mmol) in 15 ml Chloroform das Produkt **47a** hergestellt und als weißer Feststoff (4.09 g, 11.6 mmol, 57%) erhalten.

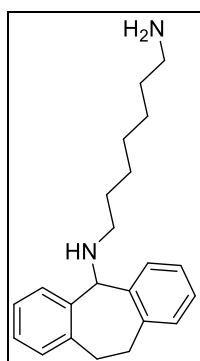
$C_{17}H_{20}N_2$ ($M = 352.36 \text{ g/mol}$), Smp. 111.7-112.8°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37 - 7.00 (m, 8H), 4.81 (s, 1H), 3.83 - 3.57 (m, 2H), 3.12 - 2.86 (m, 2H), 2.68 (dt, $J = 11.3, 5.4 \text{ Hz}$, 4H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 140.33 (2 C_{quat}), 139.95 (2 C_{quat}), 130.44 (+, 2 Ar-CH), 129.17 (+, 2 Ar-CH), 127.47 (+, 2 Ar-CH), 125.88 (+, 2 Ar-CH), 51.26 (-, CH_2), 42.14 (-, CH_2), 32.43 (-, 2 CH_2). (CH-Singal fehlt). **ESI-EIC-MS** m/z 253.17 $[M+H]^+$ (18), 193.10 (100).

***N*-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)propane-1,3-diamin (47b) [148]**

$C_{18}H_{22}N_2$ ($M = 266.39$ g/mol)

Das Zwischenprodukt **37q** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36q** (5.0 g, 23.8 mmol) hergestellt. Aus dem Zwischenprodukt (2.27 g, 10.0 mmol) in 30 ml Chloroform wurde nach der allgemeinen Vorschrift G mit einer Lösung von Diaminopropan (4.45 g, 60.0 mmol) in 15 ml Chloroform das Produkt **47b** hergestellt und als weißer Feststoff (2.56 g, 9.61 mmol, 40%) erhalten.

$C_{18}H_{22}N_2$ ($M = 266.39$ g/mol), Smp. 133.1-134.2°C, **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.30 - 7.22 (m, 2H), 7.21 - 7.06 (m, 6H), 4.78 (s, 1H), 3.85 - 3.51 (m, 2H), 3.07 - 2.85 (m, 2H), 2.73 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.60 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.67 - 1.49 (m, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 140.45 (2 C_{quat}), 139.93 (2 C_{quat}), 130.43 (+, 2 Ar-CH), 129.06 (+, 2 Ar-CH), 127.43 (+, 2 Ar-CH), 125.86 (+, 2 Ar-CH), 46.29 (-, CH_2), 40.50 (-, CH_2), 34.06 (-, CH_2), 32.38 (-, 2 CH_2). (CH-Signal fehlt). **ESI-EIC-MS** m/z 267.19 [$M+H$]⁺ (16), 193.10 (199).

***N*-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)heptane-1,7-diamin (47c)**

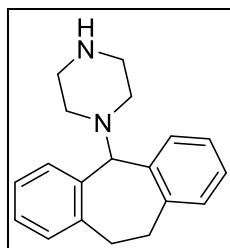
$C_{22}H_{30}N_2$ ($M = 322.50$ g/mol)

Das Zwischenprodukt **37q** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36q** (5.0 g, 23.8 mmol) hergestellt. Aus dem Zwischenprodukt (2.27 g, 10.0 mmol) in 30 ml

Chloroform wurde nach der allgemeinen Vorschrift G mit einer Lösung von Diaminoheptan (7.81 g, 60.0 mmol) in 60 ml Chloroform das Produkt **47c** hergestellt und als weißer Feststoff (3.47, 10.76 mmol, 45%) erhalten.

$C_{22}H_{30}N_2$ (M = 322.50 g/mol), **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32 - 7.22 (m, 2H), 7.20 - 7.07 (m, 6H), 4.81 (s, 1H), 3.84 - 3.59 (m, 2H), 3.11 - 2.86 (m, 2H), 2.65 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.52 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 1.47 - 1.19 (m, 10H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 140.64 (2 C_{quat}), 139.86 (2 C_{quat}), 130.38 (+, 2 Ar-CH), 128.90 (+, 2 Ar-CH), 127.33 (+, 2 Ar-CH), 125.82 (+, 2 Ar-CH), 48.53 (-, CH_2), 42.13 (-, CH_2), 33.56 (-, CH_2), 32.37 (-, 2 CH_2), 30.23 (-, CH_2), 29.36 (-, CH_2), 27.34 (-, CH_2), 26.84 (-, CH_2). (CH-Signal fehlt). **ESI-EIC-MS** m/z 323.25 $[M+H]^+$ (15), 193.10 (100). **CHN** ($C_{22}H_{30}N_2 \cdot 0.24 SOCl_2 \cdot 0.2$ Toluol) berechnet: C, 76.07; H, 8.62; N, 7.58; gefunden: C 76.38, H 8.27, N 7.77.

1-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)piperazin (**47d**) [149]



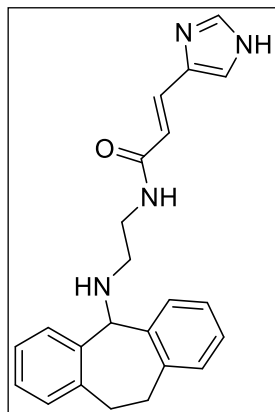
$C_{19}H_{22}N_2$ (M = 278.40 g/mol)

Das Zwischenprodukt **47q** wurde nach der allgemeinen Vorschrift G aus **36q** (5.0 g, 23.8 mmol) hergestellt. Aus dem Zwischenprodukt (2.27 g, 10.0 mmol) in 30 ml Chloroform wurde nach der allgemeinen Vorschrift G mit einer Lösung von Piperazin (5.16 g, 60.0 mmol) in 60 ml Chloroform das Produkt **47d** hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (1.98 g, 7.10 mmol, 30%).

$C_{19}H_{22}N_2$ (M = 278.40 g/mol), Smp. 112-113°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.20 - 7.01 (m, 8H), 4.07 - 3.90 (m, 3H), 2.87 - 2.80 (m, 4H), 2.79 - 2.72 (dd, J = 9.9, 5.3 Hz, 2H), 2.41 - 2.20 (m, 4H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 139.66 (2 C_{quat}), 139.05 (2 C_{quat}), 130.84 (+, 2 Ar-CH), 130.76 (+, 2 Ar-CH), 127.70 (+, 2 Ar-CH), 125.44 (+, 2 Ar-CH), 79.40 (+, CH), 52.74 (-, CH_2), 46.15 (-, 2 CH_2), 31.71 (-, 2 CH_2). **ESI-EIC-MS** m/z 279.19 $[M+H]^+$ (68), 193.10 (100). **CHN** ($C_{19}H_{22}N_2$) berechnet: C, 81.97; H, 7.97; N, 10.06; gefunden: C 81.78, H 7.83, N 9.97.

Allgemeine Versuchsvorschrift I für die Verbindungen 48 a –d

Die entsprechende Verbindung **47a-d** (2 Äquivalente), Urocaninsäure (1 Äquivalent), BOP (Benzotriazolylxytris(dimethylamino)phosphoniumhexafluoridphosphat) (1.2 Äquivalente) und DIPEA (3 Äquivalente) wurden in THF gelöst und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde Wasser hinzugegeben und der pH-Wert wurde mit 25% NH₃ alkalisch eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (DCM/7 M NH₃ in MeOH 10/1 v/v) wurde das Produkt erhalten.

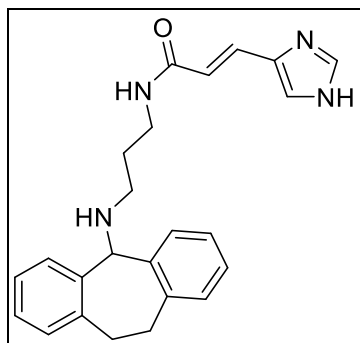
***N*-(2-((10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)amino)ethyl)-3-(1*H*-imidazol-5-yl)acrylamid (**48a**)**

C₂₃H₂₄N₄O (M = 372.47 g/mol)

48a wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift I aus **47a** (1.0 g, 3.96 mmol), Urocaninsäure (0.27 g, 1.98 mmol), BOP (1.05 g, 2.38 mmol) und DIPEA (0.77 g, 5.94 mmol) hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.54 g, 1.4 mmol, 71%).

C₂₃H₂₄N₄O (M = 372.47 g/mol), Smp. 180-182°C, **¹H-NMR** (300 MHz, MeOD) δ 7.74 (s, 1H), 7.46 - 7.26 (m, 4H), 7.17 - 7.05 (m, 6H), 6.46 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 3.71 - 3.55 (m, 2H), 3.37 (t, 6.2 Hz, 2H), 2.98 - 2.86 (m, 2H), 2.69 - 2.64 (m, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz, MeOD) δ 167.92 (2 C_{quat}), 139.70 (2 C_{quat}), 136.98 (+, Ar-CH), 130.06 (+, 2 Ar-CH), 128.96 (+, Ar-CH), 127.30 (+, 2 Ar-CH), 125.60 (+, 2 Ar-CH), 117.84 (+, 2 Ar-CH), 47.89 (+, CH), 47.02 (-, CH₂), 38.95 (-, CH₂), 32.07 (-, 2 CH₂). (2 C_{quat}-, 2 CH-Signale fehlen). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₂₃H₂₅N₄O⁺ [M+H]⁺ 373.2026, gefunden: 373.2023 (100). **CHN** (C₂₃H₂₄N₄O · 0.2 DCM) berechnet: C, 71.55; H, 6.32N, 14.39; gefunden: C 71.94, H 6.06, N 14.62.

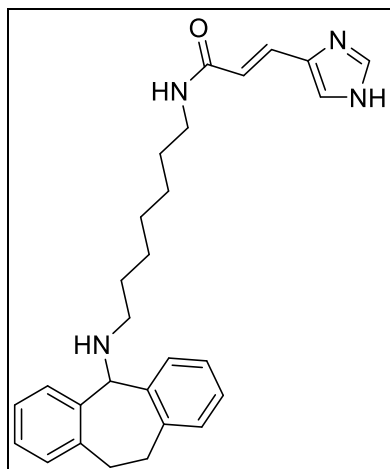
***N*-3-((10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)amino)propyl)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)acrylamid (**48b**)**



$C_{24}H_{26}N_4O$ (M = 386.50 g/mol)

48b wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift I aus **47b** (0.58 g, 2.18 mmol), Urocaninsäure (0.15 g, 1.09 mmol), BOP (0.75 g, 1.70 mmol) und DIPEA (0.42 g, 3.27 mmol) hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (0.44 g, 1.13 mmol, quantitativ).

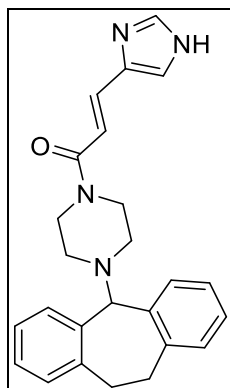
$C_{24}H_{26}N_4O$ (M = 386.50 g/mol), Smp. 88-90°C, **¹H-NMR** (300 MHz, MeOD) δ 7.74 (s, 1H), 7.39 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.30 - 7.25 (m, 2H), 7.14 - 7.08 (m, 6H), 6.42 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 3.66 - 3.52 (m, 2H), 3.36 - 3.23 (m, 2H), 3.03 - 2.89 (m, 2H), 2.62 - 2.53 (m, 2H), 1.79 - 1.59 (m, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, MeOD) δ 169.09 (C_{quat}), 148.92 (C_{quat}), 141.64 (2 C_{quat}), 140.89 (2 C_{quat}), 138.40 (+, Ar-CH), 131.40 (+, 2 Ar-CH), 130.01 (+, Ar-CH), 128.50 (+, 2 Ar-CH), 126.97 (+, 2 Ar-CH), 119.38 (+, 2 Ar-CH), 46.53 (-, CH₂), 38.66 (-, CH₂), 36.80 (+, CH), 33.52 (-, 2 CH₂), 30.52 (CH₂). (2 CH-Signale fehlen). **CHN** ($C_{24}H_{26}N_4O \cdot 0.08$ DCM $\cdot 0.1$ Acetamid) berechnet: C, 72.99; H, 6.75; N, 14.42; gefunden: C 72.67, H 6.46, N 14.58. **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für $C_{24}H_{27}N_4O^+$ [M+H]⁺ 387.2184, gefunden: 387.2179 (100).

***N*-7-((10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)amino)heptyl)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)acrylamid (**48c**)**

$C_{28}H_{34}N_4O$ ($M = 442.61$ g/mol)

48c wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift I aus **47c** (1.29 g, 4.17 mmol), Urocaninsäure (0.29 g, 2.10 mmol), BOP (1.10 g, 2.45 mmol) und DIPEA (0.81 g, 6.26 mmol) hergestellt und als weißer zäh-klebriger Feststoff erhalten (0.30 g, 0.68 mmol, 32%).

$C_{28}H_{34}N_4O$ ($M = 442.61$ g/mol), **1H -NMR** (300 MHz, DMSO) δ 12.22 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.48 - 7.21 (m, 4H), 7.16 - 7.04 (m, 6H), 6.52 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 3.72 - 3.36 (m, 2H), 3.10 (dd, $J = 12.7, 6.6$ Hz, 2H), 3.04 - 2.84 (m, 2H), 2.42 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 1.50 - 1.32 (m, 4H), 1.31 - 1.16 (m, 6H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 166.70 (C_{quat}), 139.88 (2 C_{quat}), 139.81 (2 C_{quat}), 136.80 (C_{quat}), 130.45 (+, 2 Ar-CH), 129.16 (+, Ar-CH), 127.57 (+, 2 Ar-CH), 125.93 (+, 2 Ar-CH), 121.62 (CH), 118.50 (+, 2 Ar-CH), 77.24 (+, CH). 48.37 (-, CH_2), 39.67 (-, 2 CH_2), 36.86 (-, CH_2), 29.77 (-, CH_2), 29.50 (-, CH_2), 29.05 (-, CH_2), 27.13 (-, CH_2), 26.75 (-, CH_2). (2 CH-Signale fehlen). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{28}H_{35}N_4O^+$ $[M+H]^+$ 443.2809, gefunden: 444.2836 (32), 443.2805 (100).

1-(4-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)piperazin-1-yl)-3-(1H-imidazol-4-yl)prop-2-en-1-on (48d)

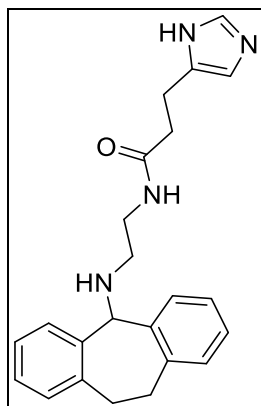
C₂₅H₂₆N₄O (M = 398.51 g/mol)

48d wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift I aus **47d** (1.16 g, 4.17 mmol), Urocaninsäure (0.29 g, 2.10 mmol), BOP (1.10 g, 2.45 mmol) und DIPEA (0.81 g, 6.26 mmol) hergestellt und als weißer zäh-klebriger Feststoff erhalten (0.46 g, 1.13 mmol, 54%).

C₂₅H₂₆N₄O (M = 398.51 g/mol), Smp. 202.8-204 °C, **¹H-NMR** (300 MHz, MeOD) δ 7.75 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.27 - 6.90 (m, 9H), 4.06 (s, 1H), 4.04 - 3.81 (m, 2H), 3.61 - 3.44 (m, 4H), 2.91 - 2.72 (m, 2H), 2.32 - 2.09 (m, 4H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 165.94 (C_{quat}), 139.68 (2 C_{quat}), 138.60 (C_{quat}), 138.55 (2 C_{quat}), 136.80 (+, Ar-CH), 133.31 (+, Ar-CH), 130.90 (+, 2 Ar-CH), 127.98 (+, 2 Ar-CH), 125.65 (+, 2 Ar-CH), 114.59 (+, 2 Ar-CH), 78.88 (+, CH), 52.24 (-, 2 CH₂), 45.98 (-, 2 CH₂), 42.55 (-, 2 CH₂), 31.80. (2 CH-Signale fehlen). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₂₅H₂₆N₄O⁺ [M+H]⁺ 399.2182, gefunden: 399.2182 (100).

Allgemeine Versuchsvorschrift J für die Verbindungen 49 a-d

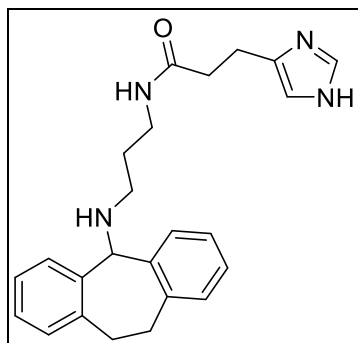
Die entsprechende Verbindung **48a-d** wurde in Methanol gelöst, Pd/C wurde in einem Verhältnis von 5% w/w zugegeben und der Ansatz wurde 19 h bei Raumtemperatur in einem Autoklaven unter H₂-Atmosphäre (5 bar) gerührt. Danach wurde der Feststoff abfiltriert, das Lösungsmittel abrotiert und das Produkt mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (DCM/7 M NH₃ in MeOH 20/1 v/v). Die Verbindungen **49a-d** wurden als weißer Feststoff erhalten.

***N*-(2-((10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)amino)ethyl)-3-(1*H*-imidazol-5-yl)propanamid (49a)**

$C_{23}H_{26}N_4O$ (M = 374.49 g/mol)

49a wurde aus **48a** (0.18 g, 0.46 mmol) und Pd/C (18 mg) in 5 ml MeOH hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (90 mg, 0.24 mmol, 50%).

$C_{23}H_{26}N_4O$ (M = 374.49 g/mol), Smp. 121.5-123.5°C, **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37 - 7.27 (m, 3H), 7.23 - 7.07 (m, 6H), 6.68 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 3.70 - 3.58 (m, 2H), 3.32 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.02 - 2.91 (m, 2H), 2.88 - 2.82 (m, 2H), 2.73 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.48 - 2.38 (m, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz, $CDCl_3$) δ 173.19 (C_{quat}), 172.84 (C_{quat}), 139.94 (2 C_{quat}), 139.57 (2 C_{quat}), 134.58 (+, 2 Ar-CH), 130.56 (+, 2 Ar-CH), 129.55 (+, Ar-CH), 127.78 (+, 2 Ar-CH), 126.03 (+, 2 Ar-CH), 118.84 (+, Ar-CH), 77.27 (+, CH), 47.13 (-, CH_2), 39.36 (-, CH_2), 36.10 (-, CH_2), 32.42 (-, 2 CH_2), 22.64 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{23}H_{27}N_4O^+$ $[M+H]^+$ 375.2185, gefunden: 375.2179 (100).

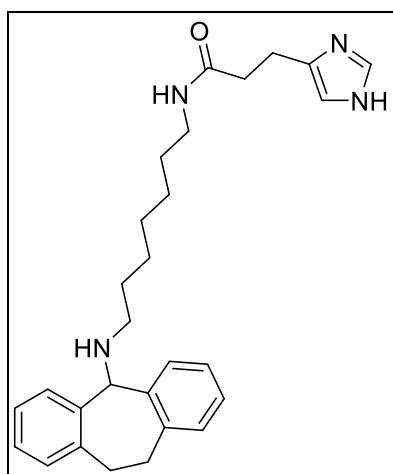
***N*-(3-((10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)amino)propyl)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propanamid (49b)**

$C_{24}H_{28}N_4O$ (M = 388.52 g/mol)

49b wurde aus **48b** (0.24 g, 0.62 mmol) und Pd/C (24 mg) in 5 ml MeOH hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (120 mg, 0.31 mmol, 50%).

$C_{24}H_{28}N_4O$ (M = 388.52 g/mol), Smp. 87-89°C, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.59 (s, 1H), 7.39 - 7.35 (m, 2H), 7.32 - 7.20 (m, 6H), 6.83 (s, 1H), 4.89 (s, 1H), 3.95 - 3.67 (m, 2H), 3.37 (dd, J = 12.2, 6.2 Hz, 2H), 3.14 - 3.00 (m, 2H), 2.96 - 2.89 (m, 2H), 2.72 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 2.47 (dd, J = 13.4, 7.0 Hz, 2H), 1.76 - 1.68 (m, 2H). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 172.96 (C_{quat}), 139.88 (2 C_{quat}), 139.48 (2 C_{quat}), 134.44 (+, 2 Ar-CH), 133.79 (C_{quat}), 130.55 (+, 2 Ar-CH), 129.49 (+, Ar-CH), 127.79 (+, 2 Ar-CH), 126.05 (+, 2 Ar-CH), 126.05 (+, Ar-CH), 77.25 (+, CH), 46.16 (-, CH_2), 38.27 (-, CH_2), 35.87 (-, CH_2), 32.51 (-, 2 CH_2), 28.94 (-, CH_2), 21.67 (-, CH_2). HR (ESI-MS) m/z berechnet für $C_{24}H_{26}N_4O^+$ $[M+H]^+$ 389.2340, gefunden: 389.2336 (100).

***N*-(7-((10,11-Dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*] [7]annulen-5-yl)amino)heptyl)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propanamid (49c)**



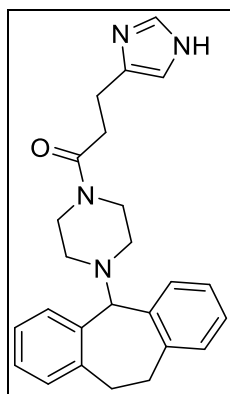
$C_{28}H_{36}N_4O$ (M = 444.62 g/mol)

49c wurde aus **48c** (0.20 g, 0.45 mmol) und Pd/C (20 mg) in 5 ml MeOH hergestellt und als weißer zäh-klebriger Feststoff erhalten (130 mg, 0.29 mmol, 64%).

$C_{28}H_{36}N_4O$ (M = 444.62 g/mol), 1H -NMR (300 MHz, MeOD) δ 7.53 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.32 - 7.20 (m, 2H), 7.19 - 7.01 (m, 6H), 6.77 (s, 1H), 4.85 (s, 1H), 3.66 - 3.46 (m, 2H), 3.10 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.05 - 2.91 (m, 2H), 2.85 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.57 - 2.34 (m, 4H), 1.60 - 1.33 (m, 4H), 1.32 - 1.12 (m, 6H). ^{13}C -NMR (75 MHz, MeOD) δ 175.00 (C_{quat}), 141.48 (2 C_{quat}), 140.80 (2 C_{quat}), 135.91 (C_{quat}), 131.43 (+, 2 Ar-CH), 130.02 (+, 2 Ar-CH), 128.57 (+, 2 Ar-CH), 127.01 (+, 2 Ar-CH), 49.32 (+, CH), 49.14 (-, CH_2),

40.35 (-, CH₂), 36.89 (-, CH₂), 33.52 (-, 2 CH₂), 30.55 (-, CH₂), 30.34 (-, CH₂), 30.19 (-, CH₂), 28.40 (-, CH₂), 27.86 (-, CH₂), 26.70 (-, CH₂). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₂₈H₃₇N₄O⁺ [M+H]⁺ 445.2962, gefunden: 445.2965 (100), 446.2993 (32).

1-(4-(10,11-Dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)piperazin-1-yl)-3-(1H-imidazol-4-yl)propan-1-on (49d)



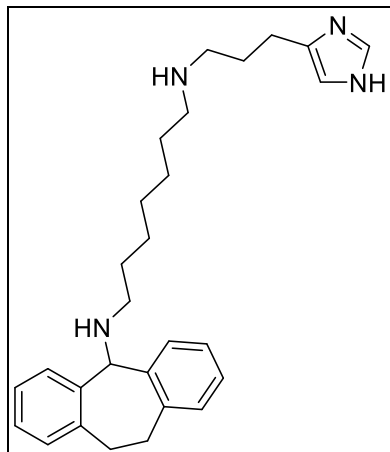
C₂₅H₂₈N₄O (M = 400.53 g/mol)

49d wurde aus **48d** (0.12 g, 0.30 mmol) und Pd/C (12 mg) in 5 ml MeOH hergestellt und als weißer Feststoff erhalten (70 mg, 0.17 mmol, 58%).

C₂₅H₂₈N₄O (M = 400.53 g/mol), Smp. 110-112°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 6.83 - 6.55 (m, 1H), 6.55 - 5.95 (m, 8H), 5.95 - 5.79 (m, 1H), 3.38 - 2.97 (m, 3H), 2.93 - 2.20 (m, 4H), 2.08 - 1.63 (m, 6H), 1.45 - 1.09 (m, 4H), 0.73 - 0.30 (m, 1H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 171.12 (C_{quat}), 141.57 (C_{quat}), 139.66 (2 C_{quat}), 138.51 (2 C_{quat}), 134.53 (+, 2 Ar-CH), 133.73 (+, Ar-CH), 130.90 (+, 2 Ar-CH), 127.99 (+, 2 Ar-CH), 125.64 (+, 2 Ar-CH), 120.59 (+, Ar-CH), 78.85 (+, CH), 51.87 (-, CH₂), 51.52 (-, CH₂), 45.64 (-, CH₂), 42.02 (-, CH₂), 33.25 (-, CH₂), 31.77 (-, 2 CH₂), 21.18 (-, CH₂). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₂₅H₂₈N₄O⁺ [M+H]⁺ 401.2341, gefunden: 401.2340 (100). **CHN** (C₂₅H₂₈N₄O · 1.0 DCM) berechnet: C 64.33; H, 6.23; N, 11.54, gefunden: C 63.61, H 5.98, N 11.71.

6.7 Synthese der Imidazol-verbrückten Verbindungen ohne Amid

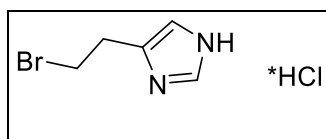
N'-(3-(1*H*-imidazol-4-yl)propyl)-*N*'-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)heptane-1,7-diamin (**50**)



$C_{28}H_{38}N_4$ ($M = 430.64$ g/mol)

49c (100 mg, 0.22 mmol) wurde in THF gelöst, unter Eisbadkühlung wurde portionsweise $LiAlH_4$ zugegeben. Nach 1 h Rühren wurde die Lösung filtriert und durch Zugabe von einigen Tropfen Wasser wurde die Reaktion gestoppt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (DCM/7 M NH_3 in MeOH 30/1 v/v) und als weißer Feststoff erhalten (10 mg, 11%).

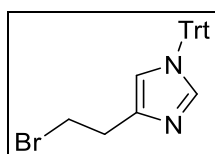
$C_{28}H_{38}N_4$ ($M = 430.64$) **1H -NMR** (300 MHz, MeOD) δ 7.55 (s, 1H), 7.38 - 7.26 (m, 2H), 7.26 - 7.03 (m, 6H), 6.78 (s, 1H), 5.04 (s, 1H), 3.59 - 3.38 (m, 2H), 3.15 - 3.05 (m, 2H), 3.05 - 2.92 (m, 2H), 2.89 - 2.74 (m, 2H), 2.72 - 2.52 (m, 4H), 2.52 - 2.38 (m, 2H), 1.75 - 1.48 (m, 4H), 1.35 - 1.16 (m, 6H). **^{13}C NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 141.56 (+, Ar-CH), 139.93 (C_{quat}), 139.72 (C_{quat}), 134.52 (+, 2 Ar-CH), 130.48 (+, 2 Ar-CH), 127.59 (+, 2 Ar-CH), 125.96 (+, 2 Ar-CH), 77.26 (+, CH), 62.58 (-, 2 CH_2), 61.76 (-, 2 CH_2), 48.37 (-, CH_2), 36.14 (-, CH_2), 34.07 (-, CH_2), 32.43 (-, CH_2), 29.99 (-, 2 CH_2), 28.96 (-, CH_2), 27.08 (-, CH_2) (CH- und C_{quat} -Signal fehlen). **HR (ESI-MS)** m/z $[M]^+$ berechnet für $C_{28}H_{39}N_4^+$ $[M+H]^+$ 431.1375, gefunden: 431.1241 (100).

4-(2-Bromoethyl)imidazol Hydrochlorid (51) [109]

$C_5H_7BrN_2$ (M = 175.03 g/mol)

Histamin-Dihydrochlorid (5.34 g, 28.9 mmol) und Kaliumbromid (11.52 g, 96.0 mmol) wurden in 42.4 ml 1,5 M Schwefelsäure gelöst. Unter Kühlung auf $-15^\circ C$ wurde eine gesättigte Lösung von Natriumnitrit (2.58 g, 37.2 mmol) in 3.8 ml Wasser zugetropft. Dabei konnte ein Farbumschlag von farblos nach orange-braun und eine Gasentwicklung beobachtet werden. Nach 30 min wurde die Mischung auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 2 h gerührt. Dann wurde sie erneut auf $-15^\circ C$ gekühlt und der pH-Wert wurde durch Zutropfen einer 5 M NaOH-Lösung auf 10 eingestellt. Das Produkt wurde mit Chloroform aus der wässrigen Phase extrahiert. Zu der farblosen Chloroform-Phase wurden 26.7 ml 5 M HCl in Isopropanol gegeben. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurden bräunliche Kristalle erhalten, die nach Umkristallisation aus Acetonitril **51** als weißen Feststoff ergaben (2.79 g, 13.1 mmol, 45%).

$C_5H_7BrN_2$ (M = 175.03), 1H -NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.06 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 4.00 - 3.69 (m, 2H), 3.22 - 3.06 (m, 2H). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 135.39 (C_{quat}), 134.65 (+, Ar-CH), 116.54 (+, Ar-CH), 31.94 (-, CH_2), 30.79 (-, CH_2). **ESI-MS** m/z 176.98 $[M+H]^+$ (99), 174.99 $[M+H]^+$ (100).

4-(2-Bromoethyl)-1-trityl-1H-imidazol (52) [109]

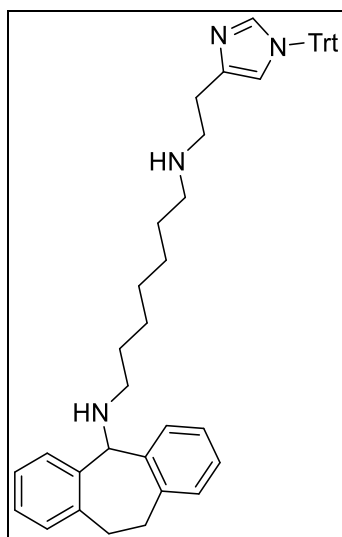
$C_{24}H_{21}BrN_2$ (M = 417.35 g/mol)

Eine Mischung von 4-(2-Bromoethyl)imidazolhydrochlorid **51** (0.9 g, 4.8 mmol), Triphenylmethylchlorid (1.97 g, 7.15 mmol) und TEA (1.46 g, 14.4 mmol) in DMF (8 ml) wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde in NaCl-Lösung gegossen, mit DCM (90 ml) extrahiert und, nachdem das Lösungsmittel entfernt wurde,

mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2/1 v/v) aufgereinigt. **52** wurde als weißer Feststoff erhalten (0.46 g, 1.11 mmol, 23%).

$C_{24}H_{21}BrN_2$ (M = 417.35), Smp. 143°C. **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.37 - 7.30 (m, 9H), 7.18 - 7.10 (m, 6H), 6.65 (s, 1H), 3.87 - 3.53 (m, 2H), 3.17 - 2.89 (m, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 142.36 (2 C_{quat}), 138.53 (+, Ar-CH), 138.33 (C_{quat}), 137.58 (C_{quat}), 129.80 (+, 6 Ar-CH), 128.07 (+, 9 Ar-CH), 119.40 (+, Ar-CH), 75.30 (C_{quat}), 44.06 (-, CH_2), 32.11 (-, CH_2).

***N*-(10,11-Dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)-*N'*-(2-(1-trityl-1*H*-imidazol-2-yl)ethyl)heptan-1,7-diamin (**53**)**



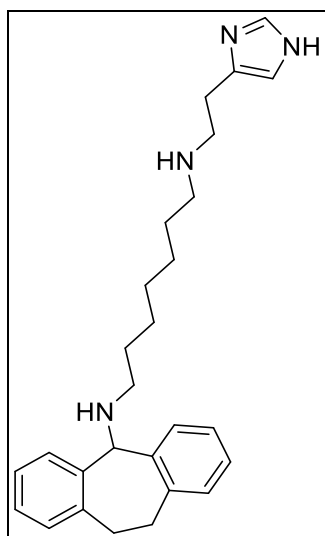
$C_{46}H_{50}N_4$ (M = 658.39 g/mol)

47c (0.30 g, 0.94 mmol), **52** (0.39 g, 0.94 mmol), K_2CO_3 (0.39 g, 0.94 mmol) wurden 3 h bei 50-60°C in 20 ml Acetonitril refluxiert. Nach dem Abkühlen wurde die organische Phase mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. **53** wurde mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (DCM/7 M NH_3 in MeOH 30/1 v/v) und als weißer Feststoff erhalten (0.18 g, 0.28 mmol, 30%).

$C_{46}H_{50}N_4$ (M = 658.39g/mol), Smp. 92-96°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39 - 7.22 (m, 12H), 7.19 - 7.03 (m, 12H), 6.58 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 4.80 (s, 1H), 3.82 - 3.59 (m, 2H), 3.10 - 2.81 (m, 4H), 2.73 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.63 - 2.54 (m, 2H), 2.50 (t, 7.0 Hz, 4H), 1.50 - 1.36 (m, 4H), 1.29 - 1.21 (m, 6H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 142.51 (3 C_{quat}), 140.65 (2 C_{quat}), 139.86 (C_{quat}), 139.58 (C_{quat}), 138.55 (2 C_{quat}), 130.37 (+, 2 Ar-

CH), 129.77 (+, 6 Ar-CH), 128.89 (+, Ar-CH), 128.02 (+, 6 Ar-CH), 127.31 (+, 2 Ar-CH), 125.81 (+, 3 Ar-CH), 118.52 (Ar-CH), 77.26 (+, CH), 75.11 (-, CH₂), 60.43 (-, CH₂), 49.67 (-, CH₂), 49.21 (-, CH₂), 48.53 (-, CH₂), 32.37 (-, 2 CH₂), 30.24 (-, CH₂), 29.92 (-, CH₂), 29.45 (-, CH₂), 27.32 (-, CH₂). **ESI-MS** m/z berechnet für C₄₆H₅₁N₄⁺ [M+H]⁺ 659.41, gefunden: 659.41 (9), 467.32 (81), 243.12 (92), 193.10 (100).

***N*'-(2-(1*H*-imidazol-2-yl)ethyl)-*N*'-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)heptan-1,7-diamine (54)**

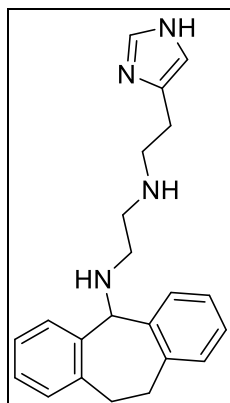


C₂₇H₃₆N₄ (M = 416.61 g/mol)

53 (0.15g, 0.23 mmol) wurde in 2 ml DCM gelöst, 2 ml HCl_{konz.} wurden dazu getropft. Die Mischung wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt, dann wurde das Lösungsmittel entfernt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (DCM/7 M NH₃ in MeOH 10/1 v/v). **54** wurde als grauer Feststoff erhalten (20 mg, 0.05 mmol, 22%).

C₂₇H₃₆N₄ (M = 416.61 g/mol), **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.63 - 7.35 (m, 1H), 7.33 - 7.21 (m, 3H), 7.20 - 7.06 (m, 5H), 6.85 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 3.84 - 3.54 (m, 4H), 3.14 - 2.88 (m, 4H), 2.73 - 2.39 (m, 4H), 1.57 - 1.36 (m, 4H), 1.34 - 1.06 (m, 6H). **¹³C-NMR** (75 MHz, MeOD) δ 139.47 (C_{quat}), 139.47 (2 C_{quat}), 139.23 (2 C_{quat}), 134.76 (+, 2 Ar-CH), 130.10 (+, 2 Ar-CH), 128.71 (+, Ar-CH), 127.44 (+, 2 Ar-CH), 125.68 (+, 2 Ar-CH), 68.31 (+, CH), 47.62 (-, CH₂), 39.37 (-, CH₂), 32.08 (-, CH₂), 30.98 (-, CH₂), 28.71 (-, CH₂), 28.52 (-, CH₂), 27.25 (-, CH₂), 26.71 (-, CH₂), 25.94 (-, CH₂). (CH-Signal fehlt). **HR (ESI-MS)** m/z [M]⁺ berechnet für C₂₇H₃₇N₄⁺ [M+H]⁺ 417.3010, gefunden: 417.3013 (100), 418.3044 (31).

***N*¹-(2-(1*H*-imidazol-5-yl)ethyl)-*N*²-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)ethan-1,2-diamin (**55**)**

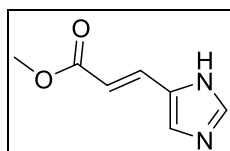


$C_{22}H_{26}N_4$ (M = 346.48 g/mol)

47a (330 mg, 0.94 mmol) wurde in Ethanol gelöst und mit K_2CO_3 (0.13 g, 0.94 mmol) 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde **52** zugesetzt und der Ansatz 48 h bei 40°C gerührt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (DCM/7 M NH_3 in MeOH 9/0.5 v/v) wurde **55** als weißer Feststoff erhalten (0.08 g, 0.23 mmol, 24%).

$C_{22}H_{26}N_4$ (M = 346.48 g/mol) **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.35 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.20 - 7.08 (m, 7H), 6.74 (s, 1H), 4.78 (s, 1H), 3.74 - 3.53 (m, 6H), 3.00 - 2.87 (m, 2H), 2.82 - 2.65 (m, 4H). **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 140.03 (2 C_{quat}), 139.89 (2 C_{quat}), 134.51 (+, Ar-CH), 130.53 (+, 2 Ar-CH), 129.89 (+, Ar-CH), 127.65 (+, 2 Ar-CH), 126.00 (+, 2 Ar-CH), 121.99 (C_{quat}), 77.26 (+, CH), 48.89 (-, CH_2), 48.68 (-, CH_2), 47.38 (-, CH_2), 32.44 (-, 2 CH_2), 25.39 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{22}H_{27}N_4^+$ $[M+H]^+$ 347.2230, gefunden: 347.2238 (100). **CHN** ($C_{25}H_{28}N_4O \cdot 0.8 H_2O$) berechnet: C 73.22; H, 7.71; N, 15.52, gefunden: C 73.02, H 7.34, N 15.89.

Methyl-3-(1*H*-imidazol-5-yl)acrylat (56**) [208]**



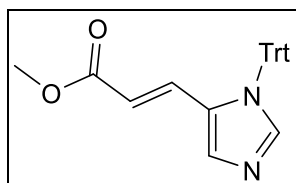
$C_7H_8N_2O$ (M = 152.15 g/mol)

Urocaninsäure (4.0 g, 28.96 mmol) wurde in Methanol gelöst. Dazu wurden 2 ml Thionylchlorid zugetropft und die Mischung wurde 16 h refluxiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurden zum festen Rückstand 300 ml Ethylacetat gegeben. Der

Reaktionsansatz wurde durch die Zugabe gesättigter Na₂CO₃-Lösung (200 ml) neutralisiert. Die wässrige Phase wurde mit 3 x 100 ml Ethylacetat extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase über Na₂SO₄ wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und **56** wurde als weißer Feststoff erhalten (1.30 g, 8.54 mmol, 29%).

C₇H₈N₂O (M = 152.15 g/mol), Smp. 91-93°C, **¹H-NMR** (400 MHz, MeOD) δ 7.76 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.41 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H). **¹³C-NMR** (101 MHz, MeOD) δ 168.13 (C_{quat}), 137.46 (+, Ar-CH), 135.13 (+, Ar-CH), 134.55 (C_{quat}), 122.61 (+, Ar-CH), 114.46 (+, Ar-CH), 50.63 (+, CH₃). **ESI-MS** *m/z* 153.08 [M+H]⁺ (100).

Methyl-3-(1-trityl-1*H*-imidazol-5-yl)acrylat (**57**) [208]



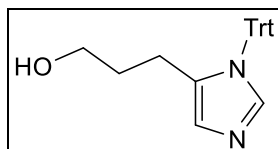
C₂₆H₂₂N₂O₂ (M = 394.47 g/mol)

56 (1.25 g, 6.63 mmol) wurde in THF suspendiert (50 ml). Der Ansatz wurde auf 0°C im Eisbad gekühlt und Triethylamin (2.3 ml, 16.6 mmol) wurde zugetropft. Triphenylmethylchlorid (2.1 g, 7.53 mmol) wurde in 50 ml THF gelöst und über einen Tropftrichter zu der vorgelegten Mischung zugetropft. Der Ansatz wurde 1 h bei 0°C, 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die erhaltene Lösung wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt und der Rückstand wurde in DCM gelöst (50 ml). Die Lösung wurde mit Wasser gewaschen (3 x 50 ml) und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert. **57** wurde aus EtOAc umkristallisiert und als weißer Feststoff erhalten (1.30 g, 3.30 mmol, 50%).

C₂₆H₂₂N₂O₂ (M = 394.47 g/mol), Smp. 166.1 °C, **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44 (s, 1H), 7.39 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.31 - 7.11 (m, 9H), 7.04 - 6.99 (m, 6H), 6.92 (s, 1H), 6.52 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 3.63 (d, *J* = 9.4 Hz, 3H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 167.82 (C_{quat}), 146.89 (C_{quat}), 141.64 (3 C_{quat}), 139.93 (C_{quat}), 129.67 (+, 6 Ar-CH), 128.52 (+, Ar-CH), 128.47 (+, Ar-CH), 128.33 (+, 6 Ar-CH), 127.94 (+, 3 Ar-CH), 127.26 (+, Ar-

CH), 123.97 (+, Ar-CH), 51.55 (+, CH₃). **ESI-MS** m/z 395.18 [M+H]⁺ (100). **CHN** (C₂₆H₂₂N₂O₂) berechnet: C 73.22; H, 7.71; N, 15.52, gefunden: C 73.02, H 7.34, N 15.89

3-(1-Trityl-1H-imidazol-5-yl)propan-1-ol (**58**) [208]

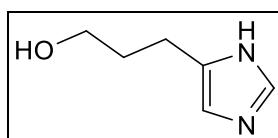


C₂₅H₂₄N₂O (M = 368.48 g/mol)

LiAlH₄ (0.38g, 10 mmol) wurde in THF (25 ml) suspendiert. **57** (1.25 g, 3.16 mmol) wurde unter Eisbadkühlung vorsichtig dazugegeben. Der Ansatz wurde für 6 h refluxiert. Nach dem Abkühlen wurde langsam gesättigte Natriumcarbonat-Lösung zugegeben (5 ml) bis alles LiAlH₄ abreagiert war. Der Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wurde in 25 ml DCM gelöst und die Lösung wurde mit gesättigter Natriumcarbonat-Lösung gewaschen (3 x 50 ml) und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittels wurde **58** als weißer Feststoff erhalten (0.5 g, 1.36 mmol, 43%).

C₂₅H₂₄N₂O (M = 368.48 g/mol), Smp. 110.3-113°C, **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO) δ 7.40-7.15 (m, 12H), 7.16 - 6.98 (m, 5H), 3.60 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.49 - 2.35 (m, 2H), 1.82 - 1.71 (m, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 142.40 (3 C_{quat}), 140.87 (C_{quat}), 138.12 (+, Ar-CH), 129.79 (+, 9 Ar-CH), 128.05 (+, 6 Ar-CH), 117.96 (+, Ar-CH), 75.22 (C_{quat}), 62.85 (-, CH₂), 31.88 (-, CH₂), 26.01 (-, CH₂). **ESI-MS** m/z berechnet für C₂₅H₂₄N₂O⁺ [M+H]⁺ 369.19, gefunden: 169.20 (74), 243.12 (100).

3-(1H-Imidazol-5-yl)propan-1-ol (**59**) [208]



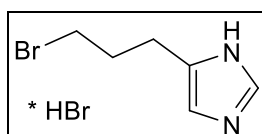
C₆H₁₀N₂O (M = 126.16 g/mol)

58 (0.5 g, 1.36 mmol) wurde in 1 M HCl (5 ml) gelöst und 5 h refluxiert. Anschließend wurde die Mischung mit Ether (3 x 25 ml) gewaschen und die wässrige Phase unter

vermindertem Druck einrotiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus EtOH/Ether umkristallisiert. **59** wurde als gelber Feststoff erhalten (0.17g, 1.36 mmol, quantitativ).

$C_6H_{10}N_2O$ (M = 126.16 g/mol), Smp. 67-70.9°C, **1H -NMR** (300 MHz, D_2O) δ 8.43 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 3.55 - 3.42 (m, 2H), 2.74 - 2.54 (m, 2H), 1.83 - 1.65 (m, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, D_2O) δ 133.31 (C_{quat}), 132.73 (+, Ar-CH), 115.24 (+, Ar-CH), 60.42 (-, CH_2), 30.12 (-, CH_2), 20.37 (-, CH_2). **ESI-MS** m/z 127.09 $[M+H]^+$ (100).

5-(3-Bromopropyl)-1H-imidazolhydrobromid (**60**) [153]

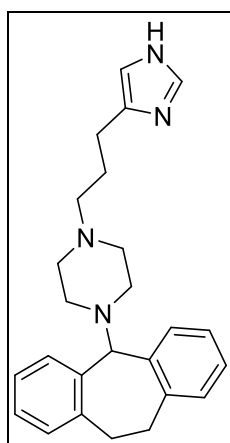


$C_6H_9BrN_2 \cdot HBr$ (M = 189.06 g/mol)

Ein Gemisch aus **59** (2.29 g, 18.2 mmol) und wässriger HBr (48%, 30.9 ml) wurde über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Nach der Aufkonzentration am Rotationsverdampfer wurde **60** als braunes Öl erhalten (1.95 g, 10.4 mmol, 57%). Das Produkt wurde als solches in die nächste Reaktion überführt.

1H -NMR (300 MHz, D_2O) δ 8.48 - 8.36 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 3.40 - 3.19 (m, 2H), 2.83 - 2.64 (m, 2H), 2.04 (m, 2H).

1-(3-(1H-Imidazol-5-yl)propyl)-4-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)piperazin (**61**)

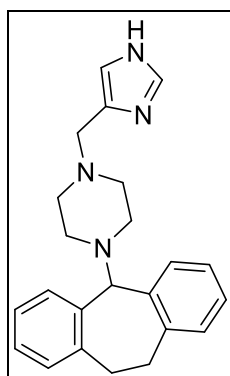


$C_{25}H_{30}N_4$ (M = 386.54 g/mol)

K_2CO_3 (0.61 g, 4.4 mmol) wurde zu einer Lösung von **47d** (1.11 g, 4.0 mmol) in MeCN (20 ml) gegeben. Nach 10-minütigem Rühren wurde **60** (0.76 g, 4.0 mmol) hinzugegeben. Der Ansatz wurde 4 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in EtOAc (25 ml). Die organische Phase wurde 3mal mit 10 ml Wasser, einmal mit 15 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. **61** [154] wurde nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie und präparative DC (DCM/7 M NH_3 in MeOH 9/1 v/v) als weißer zäh-klebriger Feststoff erhalten (15 mg, 0.04 mmol, 1%).

$C_{25}H_{30}N_4$ (M = 386.54 g/mol), 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.53 (s, 1H), 7.22 - 6.98 (m, 8H), 6.73 (s, 1H), 4.08 - 3.90 (m, 3H), 2.90 - 2.45 (m, 6H), 2.45 - 2.16 (m, 8H), 1.87 - 1.71 (m, 2H). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 139.65 (2 C_{quat}), 139.05 (2 C_{quat}), 134.20 (+, 2 Ar-CH), 130.77 (+, 2 Ar-CH), 127.77 (+, 2 Ar-CH), 125.53 (+, 2 Ar-CH), 120.04 (C_{quat}), 79.05 (+, CH), 58.34 (-, 2 CH_2), 53.47 (-, 2 CH_2), 51.77 (-, CH_2), 31.73 (-, 2 CH_2), 25.54 (-, CH_2), 24.80 (-, CH_2). (2 CH-Signale fehlen) HR (ESI-MS) m/z berechnet für $C_{25}H_{31}N_4^+$ $[M+H]^+$ 387.2547, gefunden: 387.2543 (100).

1-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)-4-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-yl)piperazin (**62**)



$C_{23}H_{26}N_4$ (M = 358.49 g/mol)

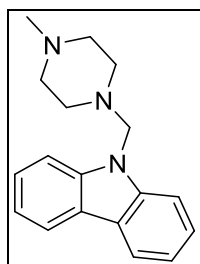
47d (0.5 g, 1.8 mmol) und 1*H*-Imidazol-4-carboxaldehyd (0.18 mg, 1.8 mmol) wurden in Methanol (9 ml) gelöst, $MgSO_4$ (0.44 mg) wurde zugegeben und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde $NaBH_3CN$ (0.63 mg) nach literaturbekannter Vorschrift zugegeben [155]. Nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur wurden weitere 0.06 g 1*H*-Imidazol-Carboxaldehyd zugegeben und die Mischung 16 h gerührt. Dann wurde mit MeOH verdünnt, abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand

wurde in DCM/MeOH (175/30 v/v) gelöst und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. **62** wurde nach der Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (DMC/7 M NH₃ in MeOH 9/1 v/v) als weißer Feststoff erhalten (0.23 mg, 0.63 mmol, 35%).

C₂₃H₂₆N₄ (M = 358.49 g/mol), Smp. 158-159°C, **¹H-NMR** (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (s, 1H), 7.41 - 7.15 (m, 8H), 7.02 (s, 1H), 4.20 - 4.06 (m, 3H), 3.64 (s, 2H), 3.01 - 2.84 (m, 2H), 2.52 (m, 8H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 139.65 (2 C_{quat}), 139.09 (2 C_{quat}), 135.08 (C_{quat}), 130.75 (+, 2 Ar-CH), 130.73 (+, Ar-CH), 127.73 (+, 2 Ar-CH), 127.68 (+, 2 Ar-CH), 125.47 (+, 2 Ar-CH), 78.99 (+, CH), 53.73 (-, CH), 53.27 (-, 2 CH₂), 51.55 (-, 2 CH₂), 31.72 (-, 2 CH₂) (1 CH-Signal fehlt). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₂₃H₂₇N₄⁺ [M+H]⁺, 359.2231, gefunden: 359.2230. **CHN** (C₂₃H₂₆N₄ · 0.4 DCM) berechnet: C, 71.61; H, 6.88; N, 14.28; gefunden: C 71.67, H 7.27, N 14.16.

6.8 Synthese der Carbazol-Liganden

9-((4-Methylpiperazin-1-yl)methyl)-9*H*-carbazol (**65**)



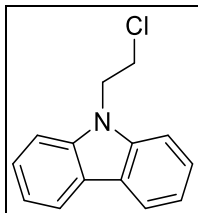
C₁₈H₂₁N₃ (M = 279.46 g/mol)

Carbazol (3.0 g, 17.9 mmol) und N-Methylpiperazin (3.87 g, 38.6 mmol) wurden in Ethanol (10 ml) gelöst. 3 ml 37%ige Formaldehydlösung wurden zugegeben und das Gemisch 12 h unter Rückfluss erhitzt [156]. Das Lösungsmittel wurde entfernt, das Rohprodukt in EtOAc gelöst und mit Wasser gewaschen. Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie (DCM/MeOH 10/1 v/v). **65** wurde als weißer Feststoff erhalten (1.23 g, 4.4 mmol, 25%).

C₁₈H₂₁N₃ (M = 279.46 g/mol), Smp. 144-146°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 8.14 - 8.03 (m, 2H), 7.58 - 7.41 (m, 4H), 7.31 - 7.18 (m, 2H), 4.92 (s, 2H), 2.90 - 2.31 (m, 8H), 2.27 (s, 3H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 141.15 (2 C_{quat}), 125.75 (+, 2 Ar-CH), 123.12 (2 C_{quat}), 120.20 (+, 2 Ar-CH), 119.40 (+, 2 Ar-CH), 109.68 (+, 2 Ar-CH), 65.28 (-, CH₂),

54.77 (-, 2 CH₂), 50.80 (-, 2 CH₂), 45.96 (+, CH₃). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₁₈H₂₂N₃⁺ [M+H]⁺ 380.1808, gefunden: 380.1800. **CHN** (C₁₈H₂₁N₃ · 0.023 DCM) berechnet: C 76.94; H 7.54, N 14.97, gefunden: C 77.24, H 7.14, N 14.83.

9-(2-Chloroethyl)-9*H*-carbazol (**66**) [157]

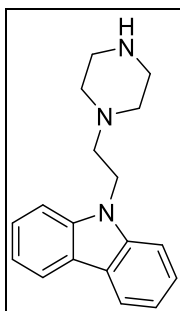


C₁₄H₁₂ClN (M = 229.71 g/mol)

Carbazol (0.50 g, 3.0 mmol) KOH (1.68 g, 29.9 mmol), K₂CO₃ (4.13 g, 29.9 mmol), Tetrabutylammoniumbromid (93 mg, 0.3 mmol) und 1- Brom-2-chlorethan (0.82 g, 5.7 mmol) wurden über Nacht bei 60°C in Benzol (25 ml) gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser zugegeben und das Produkt mit EtOAc extrahiert. **66** wurde mit Säulenchromatographie (PE/DCM 3/1 v/v) gereinigt und als weißer Feststoff erhalten (0.54 mg, 2.3 mmol, 77%)

C₁₄H₁₂ClN (M = 229.71 g/mol), Smp. 127.7-129.6°C. **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 8.11 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.60 - 7.37 (m, 4H), 7.34 - 7.21 (m, 2H), 4.65 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 140.14 (2 C_{quat}), 125.95 (+, 2 Ar-CH), 123.14 (2 C_{quat}), 120.54 (+, 2 Ar-CH), 119.55 (+, 2 Ar-CH), 108.46 (+, 2 Ar-CH), 44.74 (-, CH₂), 41.00 (-, CH₂). **EIC-MS** *m/z* 229.07 M⁺ (23), 180.08 (100). **CHN** (C₁₄H₁₂ClN · 0.1 Hexan) berechnet: C 73.58; H 5.67, N 5.88, gefunden: C 73.85, H 5.26, N 5.85.

9-(2-(Piperazin-1-yl)ethyl)-9*H*-carbazol (**67**) [158]

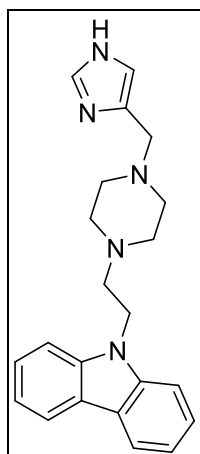


C₁₈H₂₁N₃ (M = 279.39 g/mol)

66 (1.0 g, 4.35 mmol), Piperazin (0.38 g, 4.35 mmol) und DIPEA (1.13 g, 8.71 mmol) wurden in MeCN gelöst und in der Mikrowelle (120°C, 10 min) zur Reaktion gebracht. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM/7 M NH₃ in MeOH 10/1 v/v) aufgereinigt. **67** wurde als weißer Feststoff erhalten (0.10 g, 0.36 mmol, 8%).

C₁₈H₂₁N₃ (M = 279.39 g/mol), Smp. 200-206°C, **¹H-NMR** (400 MHz, MeOD) δ 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.46 - 7.36 (m, 2H), 7.46 - 7.36 (m, 2H), 7.19 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.51 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.01 - 2.96 (m, 4H), 2.84 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.66 - 2.61 (m, 4H). **¹³C-NMR** (101 MHz, MeOD) δ 140.42 (2 C_{quat}), 125.34 (+, 2 Ar-CH), 122.81 (2 C_{quat}), 119.76 (+, 2 Ar-CH), 118.68 (+, 2 Ar-CH), 108.58 (+, CH), 55.55 (-, 2 CH₂), 50.43 (-, 2 CH₂), 43.78 (CH₂), 40.49 (CH₂). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₁₈H₂₂N₃⁺ [M+H]⁺ 280.1808, gefunden: 280.1808 (100).

9-(2-(4-((1*H*-Imidazol-4-yl)methyl)piperazin-1-yl)ethyl)-9*H*-carbazol (**68**)

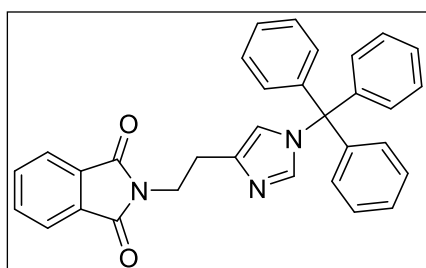


C₂₂H₂₅N₅ (M = 359.48 g/mol)

67 (0.10 g, 0.35 mmol) und 1*H*-Imidazol-4-carboxaldehyd (45 mg, 0.35 mmol) wurden in Methanol (2 ml) gelöst, MgSO₄ (0.28 g) wurde zugegeben und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde NaBH₃CN (71mg, 1.13 mmol) nach literaturbekannter Vorschrift zugegeben [155]. Nach 20 h Rühren bei Raumtemperatur wurde mit MeOH verdünnt, abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde in DCM/MeOH (175/30 v/v) gelöst und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DMC/7 M NH₃ in MeOH 9/1 v/v) aufgereinigt. **68** wurde als weißer, zäh-klebriger Feststoff erhalten (20 mg, 0.06 mmol, 17%).

$C_{22}H_{25}N_5$ ($M = 359.48$ g/mol), Smp. 192-196°C. **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.09 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), (d, $J = 0.9$ Hz, 1H), 7.53 - 7.37 (m, 5H), 7.25 - 7.18 (m, 2H), 7.04 (s, 1H), 4.54 - 4.32 (m, 2H), 3.68 (s, 2H), 2.89 - 2.76 (m, 2H), 2.69 - 2.44 (m, 8H). **^{13}C -NMR** (101 MHz, $CDCl_3$) δ 140.29 (2 C_{quat}), 135.29 (+, Ar-CH), 125.75 (+, Ar-CH), 125.71 (+, 2 Ar-CH), 122.93 (2 C_{quat}), 120.43 (+, 2 Ar-CH), 119.02 (+, 2 Ar-CH), 108.53 (+, 2 Ar-CH), 56.01 (-, CH_2), 53.75 (-, CH_2), 53.19 (-, 2 CH_2), 52.73 (-, 2 CH_2), 41.04 (-, CH_2). (1 C_{quat} -Signal fehlt). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{22}H_{25}N_5^+$ $[M+H]^+$ 360.2183, gefunden: 360.2185.

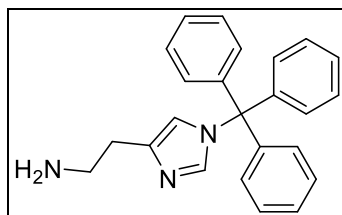
***N*-[2-(1-Triphenylmethylimidazol-4-yl)ethyl]phthalimid (69)** [109]



$C_{32}H_{25}N_3O_2$ ($M = 483.57$ g/mol)

Ethylphthalimid-*N*-carboxylat (2.40 g, 11.0 mmol) wurde portionsweise zu einer gerührten Lösung von Histaminhydrochlorid (1.84 g, 10 mmol) und Natriumcarbonat (2.12 g, 10.0 mmol) in destilliertes Wasser (50 ml) gegeben. Die weiße Suspension wurde 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser (20 ml) gewaschen und der weiße Feststoff in DMF (20 ml) gelöst. TEA (1.47 g, 14.6 mmol) und Ph_3CCl (3.0 g, 11.0 mmol) wurden zugegeben und die Mischung über Nacht gerührt. Dann wurde der Ansatz in eine NaCl-Lösung gegossen und mit DCM extrahiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1/1 v/v) wurde **69** als weißer Feststoff erhalten (4.33 g, 9 mmol, 82%).

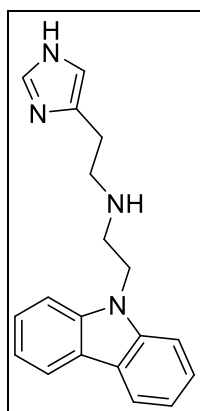
$C_{32}H_{25}N_3O_2$ ($M = 483.57$ g/mol), Smp. 248.5 - 252°C, **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.83 - 7.75 (m, 2H), 7.72 - 7.62 (m, 2H), 7.31 (t, $J = 4.2$ Hz, 1H), 7.28 - 7.18 (m, 9H), 7.05 (td, $J = 8.4, 3.6$ Hz, 6H), 6.52 (s, 1H), 3.96 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.97 - 2.91 (m, 2H). **ESI-MS** m/z 485.20 $[M+H]^+$ (35), 484.20 $[M+H]^+$ (99).

2-(1-Trityl-1*H*-imidazol-4-yl)ethan-1-amin (70)

$C_{24}H_{23}N_3$ ($M = 353.47$ g/mol)

69 (4.27, 8.83 mmol) wurde in EtOH gelöst. Hydrazinhydrat (2.65 g, 53.00 mmol) wurde zugegeben. Das Gemisch wurde 2 h gerührt. Dann wurde vom Filtrat das Lösungsmittel entfernt und **70** als gelbes Öl erhalten [109] (2.10 g, 5.94 mmol, 67.3 %).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.35 - 7.27 (m, 9H), 7.20 - 7.08 (m, 6H), 6.62 - 6.54 (m, 1H), 2.95 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.65 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.74 - 1.38 (m, 2H). **ESI-MS** m/z 354.20 [$M+H$] $^+$ (19), 243.12 (100).

***N*-(2-(1*H*-imidazol-4-yl)ethyl)-2-(9*H*-carbazol-9-yl)ethan-1-amin (72)**

$C_{19}H_{20}N_4$ ($M = 304.40$ g/mol)

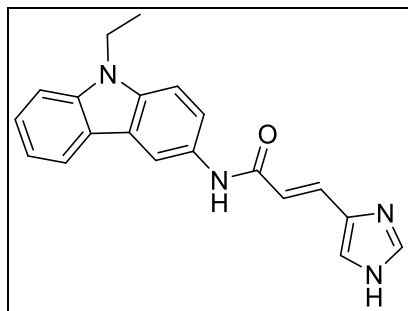
66 (69 mg, 0.3 mmol), **70** (318 mg, 0.9 mmol) und DIPEA (39 mg, 0.3 mmol) wurden in DMF (5 ml) gelöst und in die Mikrowelle (160°C, 10 min) zur Reaktion gebracht. Dann wurde EtOAc zugegeben und die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen mit $MgSO_4$ und Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand **71** in ca. 2 ml THF gelöst und TFA (2 ml) wurde zugegeben. Das Gemisch wurde 2 h gerührt, das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt wurde mittels präparativer Chromatographie (DCM/7 M NH_3 in MeOH 10/1 v/v)

aufgereinigt **72** wurde als weißer zäh-klebriger Feststoff erhalten (20 mg, 0.07 mmol, 23%).

$C_{19}H_{20}N_4$ (M = 304.40 g/mol), **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.12 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.47 (dd, J = 7.8, 4.2 Hz, 4H), 7.29 - 7.22 (m, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.56 (s, 1H), 4.62 - 4.46 (m, 2H), 3.19 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.93 - 2.79 (m, 2H), 2.62 (t, J = 5.9 Hz, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 140.33 (2 C_{quat}), 126.00 (+, 2Ar-CH), 123.02 (2 C_{quat}), 120.48 (+, 2Ar-CH), 119.35 (+, 2Ar-CH), 108.70 (+, 2Ar-CH), 48.90 (-, CH_2), 47.75 (-, CH_2), 42.23 (-, CH_2), 24.77 (-, CH_2). (2 CH-Signale, 1 C_{quat} -Signal fehlen). **HR (ESI-MS) m/z** berechnet für $C_{19}H_{21}N_4^+$ $[M+H]^+$ 305.1761, gefunden: 305.1766.

6.9 Synthese eines Carbazol-Liganden mit einer Seitenkette am Aromaten

N-(9-Ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)acrylamid (**73**)



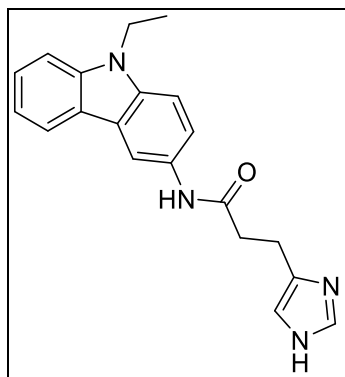
$C_{20}H_{18}N_4O$ (M = 330.39 g/mol)

3-Amino-9-ethylcarbazol (1.0 g, 4.8 mmol), Urocaninsäure (331 mg, 2.4 mmol), BOP (1.17 g, 2.6 mmol) und DIPEA (464 mg, 3.6 mmol) wurden in THF (3 ml) 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Mischung in Wasser gegossen und das Produkt mit DCM extrahiert, über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH 10/1 v/v) gereinigt und **73** wurde als grüngelber Feststoff erhalten (1.26 g, 3.8 mmol, 79%).

$C_{20}H_{18}N_4O$ (M = 330.39 g/mol), Smp. 251.6-252.9°C. **1H -NMR** (300 MHz, MeOD) δ 8.47 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.66 - 7.53 (m, 2H), 7.52 - 7.35 (m, 4H), 7.22 - 7.12 (m, 1H), 6.74 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 4.43 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.40 (t, J = 7.2 Hz, 3H). **^{13}C -NMR** (101 MHz, MeOD) δ 165.66 (C_{quat}), 140.47 (C_{quat}), 137.12 (C_{quat}), 137.06 (+, Ar-CH), 131.32 (+, Ar-CH), 130.35 (C_{quat}), 125.59 (+, Ar-CH), 122.75 (C_{quat}), 122.67 (C_{quat}), 119.86 (+, Ar-CH), 119.18 (+, Ar-CH), 118.68 (+, Ar-CH),

118.44 (+, Ar-CH), 112.11 (+, Ar-CH), 108.44 (+, Ar-CH), 108.33 (+, Ar-CH), 36.97 (+, CH₃), 12.67 (-, CH₂). (1 CH-Signal fehlt). **ESI-MS** m/z 332.16 [M+H]⁺ (31), 331.16 [M+H]⁺ (100).

***N*-(9-Ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propanamid (74)**



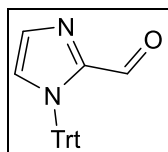
C₂₀H₂₀N₄O (M = 332.41 g/mol)

73 (5.0 g, 15.0 mmol) wurde in Methanol (250 ml) gelöst. Pd/C (250 mg, 5% w/w) und Ammoniumformiat in hohem Überschuss wurden zugegeben. Nach 3 h Rückfluss wurde die Mischung filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in DCM gelöst und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. **74** wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH 10/1 v/v) aufgereinigt und ergab einen rosafarbenen Feststoff (0.56 g, 1.68 mmol, 11%).

C₂₀H₂₀N₄O (M = 332.41 g/mol), Smp. 212-214°C. **¹H-NMR** (300 MHz, MeOD) δ 8.29 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.52 - 7.35 (m, 4H), 7.22 - 7.10 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.41 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.02 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.74 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.38 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **¹³C-NMR** (75 MHz, MeOD) δ 171.92 (C_{quat}), 140.41 (C_{quat}), 137.09 (C_{quat}), 134.50 (+, Ar-CH), 129.99 (C_{quat}), 125.52 (+, Ar-CH), 122.65 (C_{quat}), 122.61 (C_{quat}), 119.80 (+, Ar-CH), 119.43 (+, Ar-CH), 118.36 (+, Ar-CH), 112.42 (+, Ar-CH), 108.38 (+, Ar-CH), 108.18 (+, Ar-CH), 36.90 (-, CH₂), 36.20 (-, CH₂), 22.55 (-, CH₂), 12.62 (+, CH₃) (1 CH-Signal fehlt). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für C₂₀H₂₀N₄O⁺ [M+H]⁺ 333.1710, gefunden: 333.1716.

6.10 Synthese der Alcaftadin-Derivate: Offenkettige Derivate

1-Trityl-1*H*-imidazol-2-carbaldehyd (**77**) [164]

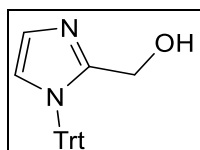


$C_{23}H_{18}N_2O$ (M = 338.41 g/mol)

2-Imidazolcarboxaldehyd (5.0 g, 52 mmol), TEA (9.5 g, 94.0 mmol) und Trt-Cl (17.0 g, 62.0 mmol) wurden 27 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Suspension in 100 ml Wasser gegossen und eine weitere Stunde gerührt. Das Produkt wurde mit Chloroform extrahiert, die organische Phase über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. **77** wurde mit Säulenchromatographie (DCM/MeOH 10/1 v/v) gereinigt und ergab einen weißen Feststoff (3.94 g, 11.6 mmol, 22%).

$C_{23}H_{18}N_2O$ (M = 338.41 g/mol), Smp. 165-168°C, **¹H-NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.22 (s, 1H), 7.36 - 7.29 (m, 10H), 7.19 - 7.07 (m, 6H), 7.02 (s, 1H). **¹³C-NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 178.70 (+, CHO), 142.11 (3 C_{quat}), 129.69 (+, Ar-CH), 129.56 (+, 6 Ar-CH), 128.23 (+, 3 Ar-CH), 128.11 (+, 6 Ar-CH), 127.94 (C_{quat}), 126.96 (+, Ar-CH), 76.94 (C_{quat}). **ESI-MS**: m/z 339.15 $[M+H]^+$ (4%), 243.11 (100).

1-Trityl-1*H*-imidazol-2-ylmethanol (**78**) [165]

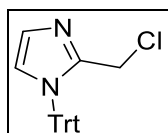


$C_{23}H_{18}N_2O$ (M = 340.43 g/mol)

77 (2.0 g, 5.9 mmol) wurde in Methanol (30 ml) gelöst. Nach Kühlung im Eisbad wurde langsam $NaBH_4$ (329 mg, 8.7 mmol) zugegeben. Nach einstündigem Rühren wurden 50 ml Wasser zugegeben und ein weißer Feststoff ausgefällt. Dieser Feststoff wurde in 50 ml DCM gelöst und mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über $MgSO_4$ wurde das Lösungsmittel abgedampft und das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/7 M NH_3 in MeOH 10/1 v/v) aufgereinigt. **78** wurde als weißer Feststoff erhalten (0.30 g, 0.88 mmol, 15%).

$C_{23}H_{18}N_2O$ ($M = 340.43$ g/mol), Smp. 163.3-164.6°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.38 - 7.29 (m, 10H), 7.13 - 7.09 (m, 5H), 7.04 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 3.68 (s, 2H). **^{13}C -NMR** (101 MHz, $CDCl_3$) δ 145.12 (C_{quat}), 142.06 (3 C_{quat}), 129.68 (+, 6 Ar-CH), 128.33 (+, 6 Ar-CH), 128.24 (+, 3 Ar-CH), 127.24 (+, Ar-CH), 122.02 (+, Ar-CH), 75.32 (C_{quat}), 38.75 (-, CH_2). **ESI-MS** m/z 341.17 [$M+H$]⁺ (0.17), 243.12 (100).

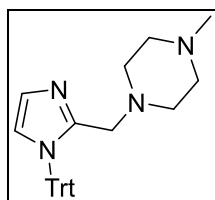
2-Chloromethyl-1-trityl-1H-imidazol (79) [162, 166]



$C_{23}H_{19}ClN_2$ ($M = 358.87$ g/mol)

78 (0.3 g, 0.83 mmol) wurde in 5 ml Toluol gelöst und in einem Eisbad gekühlt. TEA wurde zugegeben (0.24 ml) und Thionylchlorid wurde langsam (0.01 ml) zugetropft. Nach einstündigem Rühren wurde kaltes Wasser (50 ml) zugegeben und das Produkt mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das reaktive Produkt **79** wurde direkt für den nächsten Schritt verwendet.

1-Methyl-4-((1-trityl-1H-imidazol-2-yl)methyl)piperazin (80) [163]

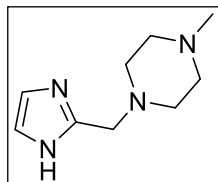


$C_{28}H_{30}N_4$ ($M = 422.58$ g/mol)

79 (0.30 g, 0.83 mmol) wurde bei Raumtemperatur in MeCN (7 ml) gelöst. DIPEA (0.34 ml, 2.0 mmol) und 1-Methylpiperazin (1.5 ml) in DCM (2.6 ml) wurden zugegeben und das Gemisch wurde 3 h bei 50° C gerührt. Dann wurde es mit EtOAc verdünnt und mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der erhaltene Feststoff wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/7 M NH_3 in MeOH 10/1 v/v) aufgereinigt und **80** wurde als weißer Feststoff erhalten (0.14 g, 0.33 mmol, 40%).

$C_{28}H_{30}N_4$ ($M = 422.58$ g/mol), Smp. 119-123°C. **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39 - 7.32 (m, 9H), 7.15 - 7.08 (m, 7H), 6.73 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.51 - 3.32 (m, 4H), 2.07 (s, 3H), 1.41 - 1.09 (m, 4H). **ESI-EIC-MS** m/z 423.25 $[M+H]^+$ (13), 243 (100).

1-((1*H*-imidazol-2-yl)methyl)-4-methylpiperazin (**81**) [166]



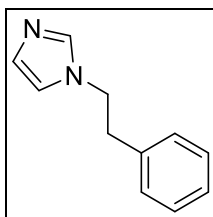
$C_9H_{16}N_4$ ($M = 180.26$ g/mol)

TFA in DCM (50%) wurde unter Eisbadkühlung zu **80** (130 mg, 0.31 mmol) gegeben. Nach 1h wurde das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde in Wasser aufgenommen und mit DCM gewaschen. Das zäh-klebrige, weiße Produkt **81** wurde nach Lyophilisierung des Wassers erhalten (55 mg, 0.31 mmol, quantitativ).

$C_9H_{16}N_4$ ($M = 180.26$ g/mol), **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.59 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 3.54 (s, 2H), 2.41 (m, 8H), 2.29 (s, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) 75.03 (-, CH_2), 69.33 (+, CH_3), 59.20 (-, 2 CH_2), 59.17 (-, 2 CH_2). (2 CH -Signale, 1 C_{quat} -Signal fehlen). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_9H_{17}N_4^+$ $[M+H]^+$ 181.1448, gefunden: 181.1451.

Allgemeine Versuchsvorschrift K für 82a,b und 88a-d

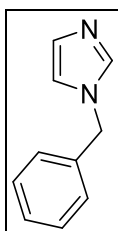
Imidazol bzw. Fluorphenylimidazol (2.14 Äquivalente) und Kaliumcarbonat (0.5 Äquivalente) wurden in THF gerührt. Nach 10 min wurde 2-(Bromethyl)benzol (1 Äquivalent) bzw. Benzylbromid (1 Äquivalent) in THF zugegeben. Nach 14 h Refluxieren wurde das Filtrat unter Vakuum eingeeengt, das verbleibende Öl in DCM gelöst und zweimal mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde die DCM-Phase mit verdünnter HCl-Lösung dreimal extrahiert. Die vereinigten HCl-Phasen wurden mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und das Produkt wurde dreimal mit DCM aus der wässrigen Phase extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt [168].

1-Phenethyl-1H-imidazol (82a) [168]

$C_{11}H_{12}N_2$ (M = 172.23 g/mol)

Imidazol (788 mg, 11.57 mmol) und Kaliumcarbonat (370 mg, 2.68 mmol) wurden in THF (18 ml) gerührt. Nach der allgemeinen Versuchsvorschrift K wurde 2-(Bromethyl)benzol (1.00 g, 5.40 mmol) in THF (1 ml) wurde zugegeben. **82a** wurde als klares Öl erhalten (330 mg, 1.9 mmol, 16%).

$C_{11}H_{12}N_2$ (M = 172.23 g/mol), **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.51 - 7.19 (m, 3H), 7.09-7.01 (m, 4H), 6.87 (s, 1H), 4.17 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.11 (t, J = 7.0 Hz, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 137.27 (C_{quat}), 136.88 (Ar-CH),, 128.82 (+, 2 Ar-CH), 128.61 (+, 2 Ar-CH), 127.07 (Ar-CH), 118.99 (Ar-CH), 48.78 (-, CH_2), 37.76 (-, CH_2). (1 CH-Signal fehlt). **EI-MS** m/z 172.10 M^+ (100), 172.10 M^+ (77), 91.06 (60).

1-Benzyl-1H-imidazole (82b) [169]

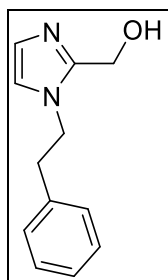
$C_{10}H_{10}N_2$ (M = 158.20 g/mol)

Imidazol (47.2 g, 703.7 mmol) und Kaliumcarbonat (22.2 g, 160.6 mmol) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre 10 min bei Raumtemperatur in THF (1l) gerührt. Nach der allgemeinen Versuchsvorschrift K wurde eine Lösung von 2-(Brommethyl)benzol (57.3 g, 329 mmol) in THF (60 ml) zugegeben. **82b** wurde als weißer Feststoff erhalten (26.66 g, 168.52 mmol, 51%).

$C_{10}H_{10}N_2$ (M = 158.20 g/mol), Smp. 63.9-65.9°C, **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.56 (s, 1H), 7.43 - 7.28 (m, 3H), 7.18 - 7.11 (m, 2H), 7.09 (s, 1H), 6.90 (t, J = 1.2 Hz, 1H), 5.12 (s, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 137.44 (+, Ar-CH), 136.16 (C_{quat}), 129.73 (+, Ar-

CH), 129.00 (+, 2 Ar-CH), 128.29 (+, Ar-CH), 127.29 (+, 2 Ar-CH), 119.32 (+, Ar-CH), 50.82 (CH₂). **EI-MS** *m/z* berechnet für C₁₀H₁₀N₂⁺M⁺ 158.08; gefunden: 158.08 (47), 91.06 (100). **CHN** (C₁₀H₁₀N₂ · 0.1 EtOAc, 0.1 H₂O) berechnet: C 73.99; H 6.57; N 16.59, gefunden: C 73.98; H 6.25; N 16.62.

(1-Phenethyl-1*H*-imidazol-2-yl)methanol (83a) [167]

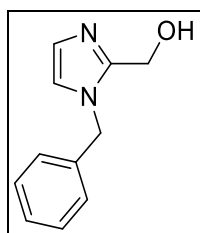


C₁₂H₁₄N₂O (M = 202.26 g/mol)

82a (7.4 g, 43.0 mmol), wässrige Formaldehydlösung (37%, 27,3 ml), Eisessig (3,6 ml) und NaOAc (4,77 g) wurden 12 h auf 140°C erhitzt. Danach wurde die Mischung mit 10 M NaOH auf einen alkalischen pH-Wert eingestellt und das Produkt mit Isopropanol/CHCl₃ 10/1 extrahiert. Das Lösungsmittel wurde nach dem Trocknen über MgSO₄ entfernt und **83a** mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH 10/1 v/v) gereinigt, um ein klares Öl zu erhalten (0.6 g, 2.97 mmol, 7%).

C₁₂H₁₄N₂O (M = 202.26g/mol), **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.32 - 7.18 (m, 3H), 7.10 - 7.02 (m, 2H), 6.81 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 4.41 (s, 2H), 4.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.05 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 147.81 (C_{quat}), 137.73 (C_{quat}), 128.78 (+, 2 Ar-CH), 128.70 (+, 2 Ar-CH), 126.89 (+, Ar-CH), 126.58 (+, Ar-CH), 120.07 (+, Ar-CH), 55.53 (-, CH₂), 47.66 (-, CH₂), 37.68 (-, CH₂). **APCI-EIC-MS** *m/z* 203.12 [M+H]⁺ (100).

(1-Benzyl-1*H*-imidazol-2-yl)methanol (83b) [167]

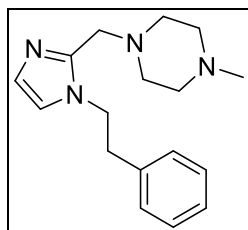


C₁₁H₁₂N₂O (M = 188.23 g/mol)

82b (15.0 g, 94.8 mmol), wässrige Formaldehydlösung (37%, 60 ml), Eisessig (8 ml) und NaOAc (10.5 g) wurden 12 h auf 140°C erhitzt. Danach wurde die Mischung mit 10 M NaOH auf einen alkalischen pH-Wert eingestellt und das Produkt mit Isopropanol/CHCl₃ 10/1 extrahiert. Das Lösungsmittel wurde nach dem Trocknen über MgSO₄ entfernt. **83b** wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH 10/1 v/v) gereinigt und ergab einen weißen Feststoff (0.7 g, 3.71 mmol, 4%).

C₁₁H₁₂N₂O (M = 188.23 g/mol), Smp. 82.1-84.1°C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.29 (m, 3H), 7.19 - 7.09 (m, 2H), 6.92 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 5.23 (s, 2H), 4.65 (s, 2H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 129.04 (C_{quat}), 128.98 (+, 2 Ar-CH), 128.12 (+, Ar-CH), 127.28 (C_{quat}), 127.13 (+, 2 Ar-CH), 126.99 (+, Ar-CH), 120.85 (+, Ar-CH), 56.42 (-, CH₂), 54.45 (-, CH₂), 49.67 (-, CH₂). **APCI-EIC-MS** *m/z* 189.11 [M+H]⁺ (100). **CHN** (C₁₁H₁₂N₂O · 0.05 EtOAc) berechnet: C 69.83, H, 6.49, N, 14.54, gefunden: C 70.01, H 6.52, N 14.23.

1-Methyl-4-((1-phenethyl-1*H*-imidazol-2-yl)methyl)piperazin (**86a**) [170]

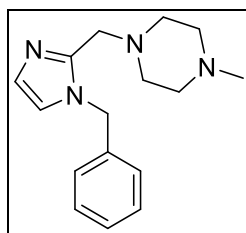


C₁₇H₂₄N₄ (M = 284.41 g/mol)

83a (0.5 g, 2.5 mmol) wurde durch Behandlung mit HCl in Isopropanol in das Hydrochlorid **84a** umgewandelt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Hydrochlorid in DCM gelöst und im Eisbad auf 0°C abgekühlt. Thionylchlorid (5 mmol) in DCM wurde langsam zugegeben und das Gemisch 1 h gerührt. Nicht umgesetztes Thionylchlorid wurde unter Vakuum entfernt (**85a**). Methylpiperazin (1.0 g, 10 mmol) wurde in Chloroform gelöst und auf 0°C abgekühlt. Das zuvor erhaltene Zwischenprodukt **85a** wurde in Chloroform gelöst und langsam zugegeben. Nach 2 h wurde eine gesättigte Lösung von NaHCO₃ zugegeben und das Produkt mit DCM extrahiert. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/7 M NH₃ in MeOH 20/1 v/v) gereinigt. **86a** wurde als klares Öl erhalten (0.58 g, 2.0 mmol, 80%).

$C_{17}H_{24}N_4$ ($M = 284.41$ g/mol), **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.44 - 7.22 (m, 3H), 7.19 - 7.07 (m, 2H), 6.91 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 4.28 - 4.21 (m, 2H), 3.53 - 3.34 (m, 2H), 3.17 - 2.96 (m, 2H), 2.46 (s, 8H), 2.26 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 144.55 (C_{quat}), 138.14 (C_{quat}), 128.80 (+, 2 Ar-CH), 128.73 (+, 2 Ar-CH), 127.30 (+, Ar-CH), 126.87 (+, Ar-CH), 120.27 (+, Ar-CH), 55.11 (-, 2 CH_2), 54.93 (-, CH_2), 52.95 (-, 2 CH_2), 47.65 (-, CH_2), 46.01 +, (CH_3), 37.78 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{17}H_{25}N_4^+$ $[M+H]^+$ 285.2078, gefunden: 285.2074 (100).

1-((1-Benzyl-1*H*-imidazol-2-yl)methyl)-4-methylpiperazin (**86b**)



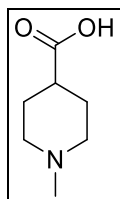
$C_{16}H_{22}N_4$ ($M = 270.38$ g/mol)

83b (0.4 g, 2.1 mmol) wurde wie **84a** durch Behandlung mit HCl in Isopropanol in das Hydrochlorid **84b** umgewandelt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Hydrochlorid in DCM gelöst und im Eisbad auf $0^\circ C$ abgekühlt. Thionylchlorid in DCM wurde langsam zugegeben und die Mischung 1 h gerührt. Nicht umgesetztes Thionylchlorid wurde verdampft (**85b**). Methylpiperazin (841 mg) wurde in Chloroform gelöst und auf $0^\circ C$ abgekühlt. Das Zwischenprodukt **85b** wurde in Chloroform gelöst und langsam zugegeben. Nach 2 h wurde eine gesättigte Lösung von $NaHCO_3$ zugegeben und das Produkt mit DCM extrahiert. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/7 M NH_3 in MeOH 20/1 v/v) gereinigt. **86b** wurde als klares Öl erhalten (0.45 g, 1.7 mmol, 81%).

$C_{16}H_{22}N_4$ ($M = 270.38$ g/mol), **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36 - 7.27 (m, 3H), 7.14 - 7.04 (m, 2H), 6.96 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 3.53 (s, 2H), 2.64 - 2.27 (m, 8H), 2.27 (s, 3H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 144.76 (C_{quat}), 136.99 (C_{quat}), 128.80 (+, 2 Ar-CH), 127.80 (+, Ar-CH), 127.44 (+, Ar-CH), 127.07 (+, 2 Ar-CH), 121.14 (+, Ar-CH), 55.02 (-, 2 CH_2), 54.94 (-, 2 CH_2), 52.77 (-, CH_2), 49.63 (-, CH_2), 45.89 (+, CH_3). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{16}H_{23}N_4^+$ $[M+H]^+$ 271.1922, gefunden: 271.1917 (100).

6.11 Synthese der Alcaftadin-Derivate mit geschlossenem Ringsystem

1-Methylpiperidin-4-carboxylsäure (**87**) [209]

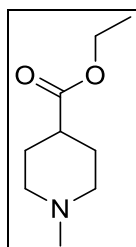


$C_7H_{13}NO_2$ (M = 143.19 g/mol)

Zu einer gerührten Lösung von Isonipecotinsäure (1.0 g 7.6 mmol) in 2.1 ml Ameisensäure wurde bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 30 min 37%ige Formaldehydlösung (1.35 ml) zugetropft. Die Lösung wurde 16 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde eine sirupartige Substanz erhalten. Der Sirup wurde in 50 ml konzentrierter Salzsäure gelöst und die Lösung erneut aufkonzentriert, um eine halb feste weiße Substanz zu ergeben. Diese wurde mit Aceton gewaschen. Man erhielt 1-Methylisonipecotinsäurehydrochlorid **87** als weiße Kristalle (1.1 g, 7.7 mmol, quantitativ).

$C_7H_{13}NO_2$ (M = 143.19/mol), Smp. 232.1-234.6°C, **¹H-NMR** (300 MHz, MeOD) δ 3.52 (m, 2H), 3.05 (m, 2H), 2.86 (m, 3H), 2.62 (m, 1H), 2.20 (m, 2H), 1.88 (m, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz, MeOD) δ 174.86 (C_{quat}), 53.49 (+, CH), 42.53 (-, 2 CH), 37.71 (-, 2 CH), 25.82 (+, CH₃). **EI-MS** m/z 143.10 M⁺ (100). **CHN** (C₇H₁₃NO₂ · 0.5 DCM) berechnet: C 46.71; H 7.74; N 7.26, gefunden: C 46.40, H 7.62, N 7.66.

Ethyl-1-methylpiperidin-4-carboxylat (**88**) [209]



$C_9H_{17}NO_2$ (M = 171.24 g/mol)

Eine Mischung von **87** (20.0 g, 139.7 mmol) in EtOH (500 ml) und H₂SO₄ (7 ml) wurde über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 1 M Na₂CO₃-Lösung gelöst. Aus dieser Lösung wurde

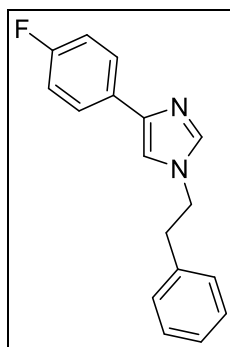
das Produkt mit Diethylether extrahiert. Nach dem Trocknen über MgSO_4 und entfernen des Lösungsmittels wurde das 1-Methylpiperidin-4-carbonsäureethylester **88** als gelbes Öl erhalten (17.7 g, 103.1 mmol, 74%).

$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_2$ ($M = 171.24/\text{mol}$), **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ 4.03 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.79 - 2.63 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.00 - 1.58 (m, 6H), 1.15 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ 175.08 (C_{quat}), 60.29 (-, CH_2), 55.01 (-, 2 CH_2), 46.40 (+, CH_3), 40.56(+, CH), 28.27 (-, 2 CH_2), 14.20 (-, CH_3). **EI-MS** m/z 171.13 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (49), 170.11 (35), 142.09 (94), 126.09 (62), 98.10 (74), 96.08 (74), 71.07 (45), 70.07 (100), 55.05 (45), 44.05 (36), 43.04 (56), 42.03 (52).

Alcaftadin-Derivate mit unterschiedlichen Substituenten

Verbindung 89a: vgl. **82a**.

4-(4-Fluorophenyl)-1-phenethyl-1*H*-imidazol (**89b**)



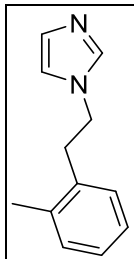
$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{FN}_2$ ($M = 266.32$ g/mol)

89b wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift K aus 4-(4-Fluorophenyl)-1*H*-imidazol (0.71 mg, 4.38 mmol) und 2-Phenethylbromid (0.37 mg, 2.0 mmol) hergestellt und als oranges Öl erhalten (0.66 g, 2.48 mmol, quantitativ).

$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{FN}_2$ ($M = 266.32$), **HCl-Salz:** **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ 9.65 (s, 1H), 7.92 - 7.73 (m, 2H), 7.42 - 7.05 (m, 7H), 6.89 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 4.62 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.35 - 3.25 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H). **Freie Base:** **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ 7.75 - 7.64 (m, 2H), 7.37 - 7.24 (m, 4H), 7.13 - 6.99 (m, 5H), 4.17 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ 163.54 (C_{quat}), 141.39 (C_{quat}), 137.38 (+, Ar-CH), 137.33 (C_{quat}), 130.46 (C_{quat}), 128.86 (+, 2 CH), 128.66 (+, 2 Ar-CH), 127.11 (+,

2 CH), 126.37 (+, Ar-CH), 115.58 (+, 2 Ar-CH), 115.29 (+, Ar-CH), 48.78 (-, CH₂), 37.82 (-, CH₂). **ESI-EIC-MS** m/z 267.13 [M+H]⁺ (100).

1-(2-Methylphenethyl)-1*H*-imidazol (89c)

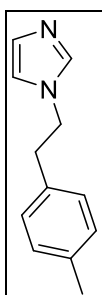


C₁₂H₁₄N₂ (M = 186.26 g/mol)

89c [171] wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift K aus Imidazol (3.35 g, 50 mmol, 2-Methylphenethylbromid (5.0 g, 25 mmol) und K₂CO₃ (3.46 g, 25 mmol) in 100 ml THF hergestellt und als gelbes Öl erhalten (3.64 g, 19.5 mmol, 78%).

C₁₂H₁₄N₂ (M = 186.26), **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (s, 1H), 7.18 - 7.09 (m, 3H), 7.05 - 6.96 (m, 2H), 6.82 (s, 1H), 4.23 - 4.02 (m, 2H), 3.05 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.21 (s, 3H). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ 137.07 (+, Ar-CH), 136.13 (C_{quat}), 135.72 (C_{quat}), 130.56 (+, Ar-CH), 129.48 (+, Ar-CH), 129.25 (+, Ar-CH), 127.15 (+, Ar-CH), 126.39 (+, Ar-CH), 118.89 (Ar-CH), 47.53 (-, CH₂), 35.18 (-, CH₂), 19.14 (+, CH₃). **ESI-MS** m/z 187.12 [M+H]⁺ (100).

1-(4-Methylphenethyl)-1*H*-imidazol (89d)



C₁₂H₁₄N₂ (M = 186.26 g/mol)

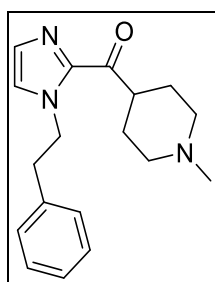
89d [160] wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift K aus Imidazol (3.35 g, 50 mmol, 4-Methylphenethylbromid (5.0 g, 25 mmol) und K₂CO₃ (3.46 g, 25 mmol) in 100 ml THF hergestellt und als gelbes Öl erhalten (3.3 g, 17.7 mmol, 71%).

$C_{12}H_{14}N_2$ ($M = 186.26$), 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.27 (s, 1H), 7.09 - 7.03 (m, 2H), 7.02 - 6.97 (m, 1H), 6.92 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 6.81 (t, $J = 1.1$ Hz, 1H), 4.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.97 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.29 (s, 3H). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 137.13 (+, Ar-CH), 136.53 (C_{quat}), 134.37 (C_{quat}), 129.42 (2 Ar-CH), 129.38 (+, Ar-CH), 128.47 (2- Ar-CH), 118.79 (+, Ar-CH), 48.61 (-, CH_2), 37.41 (-, CH_2), 21.04 (+, CH_3). **ESI-MS** m/z 187.12 $[M+H]^+$ (100).

Allgemeine Versuchsvorschrift L für 90a-d

89a-d (1 Äquivalent)) wurde in einem Gemisch aus Toluol (15 ml) und THF (10 ml) gelöst. Die Lösung wurde auf $-50^\circ C$ abgekühlt und dann mit einer Lösung von LDA 2 M in THF (2.2 Äquivalente) versetzt. Die Temperatur wurde 15 min bei $-50^\circ C$ gehalten, dann wurde eine Lösung von *N*-Methylethylisonipecotat (**88**) (2.3 Äquivalente) in Toluol (7 ml) zugegeben. Nach 1 h bei $-50^\circ C$ wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser gestoppt. Nach dem Erwärmen auf Raumtemperatur wurden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Toluol extrahiert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Eine 5-6 M Lösung von HCl in Isopropanol (12 ml) wurde zugegeben, gefolgt von Aceton (190 ml). Der gebildete Feststoff wurde abfiltriert, mit kaltem Aceton gewaschen und getrocknet. Das Hydrochloridsalz wurde als weiße Kristalle erhalten. Dieses wurde mittels Säulenchromatographie (EtOAc/7 M NH_3 in MeOH 10/1 v/v) aufgereinigt und ergab ein klares Öl [210].

(1-Methylpiperidin-4-yl)(1-phenethyl-1*H*-imidazol-2-yl)methanon (**90a**) [210]

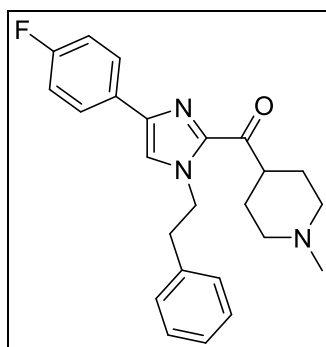


$C_{18}H_{23}N_3O$ ($M = 297.40$ g/mol)

N-(2-Phenyl)ethylimidazol **89a** (3.12 g, 18.1 mmol) wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift L in einem Gemisch aus Toluol (15 ml) und THF (10 ml) gelöst. Nach der Reaktion mit LDA 2M in THF (20 ml, 40 mmol) und **88** (7,2 g, 42,2 mmol) in Toluol (7 ml) wurde **90a** als klares Öl erhalten (3.31 g, 11.1 mmol, 61%).

HCl-Salz: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ 10.3 (1H, bs), 7.52 (s, 1H), 7.33 - 7.18 (m, 5H), 7.14 (s, 1H), 4.59 (m, 2H), 4.18 - 3.64 (m, 1H), 3.42 d, $J = 12.8$ Hz, 2H), 3.16 - 2.81 (m, 4H), 2.72 (d, 5.4 Hz, 3H), 2.03-1.69 (m, 4H). **Freie Base:** $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD) δ 7.26 - 7.15 (m, 4H), 7.13 - 7.03 (m, 3H), 4.65 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.57 - 3.40 (m, 1H), 3.09 - 2.85 (m, 4H), 2.29 (s, 3H), 2.15 (td, $J = 11.9, 2.8$ Hz, 2H), 1.93 (s, 1H), 1.88 - 1.78 (m, 2H), 1.78 - 1.65 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, MeOD) δ 193.82 (C_{quat}), 141.19 (C_{quat}), 137.60 (C_{quat}), 128.54 (+, 2 Ar-CH), 128.14 (+, 2 Ar-CH), 128.09 (+, Ar-CH), 126.84 (+, Ar-CH), 126.33 (+, Ar-CH), 54.49 (-, 2 CH_2), 49.56 (-, CH_2), 44.93 (+, CH_3), 43.29(+, CH), 37.04 (-, CH_2), 27.69 (-, 2 CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.1914, gefunden: 298.1918.

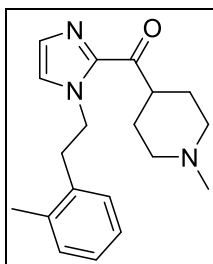
(4-(4-Fluorophenyl)-1-phenethyl-1H-imidazol-2-yl)(1-methylpiperidin-4-yl)methanon (90b)



$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{O}$ ($M = 391.49$ g/mol)

90b wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift L aus **89b** (0.10 g, 0.38 mmol) und **88** (152 mg, 0.89 mmol) hergestellt und als klares Öl erhalten (0.08 g, 0.2 mmol, 54%).

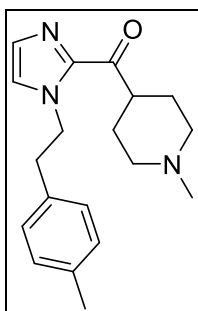
$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{FN}_3\text{O}$ ($M = 391.49$), $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.76 - 7.60 (m, 2H), 7.32 - 7.18 (m, 3H), 7.16 - 7.00 (m, 5H), 4.62 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.95 - 3.75 (m, 1H), 3.30 - 3.14 (m, 2H), 3.13 - 2.86 (m, 3H), 2.80 - 2.51 (m, 5H), 2.48 (s, 3H). **ESI-EIC-MS** m/z 393.22 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (38), 392.22 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

(1-(2-Methylphenethyl)-1H-imidazol-2-yl)(1-methylpiperidin-4-yl)methanon (90c)

C₁₉H₂₅N₃O (M = 311.43 g/mol)

90c wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift L aus **89c** (2.08 g, 11.17 mmol) und **88** (4.49 g, 26.16 mmol) hergestellt und wurde als orange-braunes Öl erhalten (2.67 g, 8.6 mmol, 77%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.16 - 7.03 (m, 4H), 6.97 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H), 4.58 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.04 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.97 - 2.85 (m, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.09 (td, *J* = 11.8, 2.5 Hz, 2H), 2.03 - 1.70 (m, 4H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 195.03 (C_{quat}), 141.77 (C_{quat}), 136.42 (C_{quat}), 135.76 (C_{quat}), 130.38 (+, Ar-CH), 129.54 (+, Ar-CH), 128.92 (+, Ar-CH), 126.95 (+, Ar-CH), 126.20 (+, Ar-CH), 126.16 (+, Ar-CH), 60.30 (-, CH₂), 55.26 (-, 2 CH₂), 49.12 (+, CH), 34.80 (-, CH₂), 28.51 (-, 2 CH₂), 19.04 (+, CH₃), 14.22 (+, CH₃). **ESI-MS** *m/z* 313.21 (31), 312.21 [M+H]⁺ (100).

(1-(4-Methylphenethyl)-1H-imidazol-2-yl)(1-methylpiperidin-4-yl)methanon (90d)

C₁₉H₂₅N₃O (M = 311.43 g/mol)

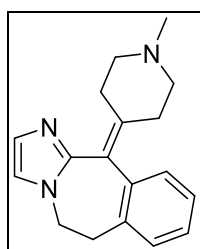
90d wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift L aus **89d** (1.83 g, 9.82 mmol) und **88** (3.95 g, 23.00 mmol) hergestellt und wurde als orange-braunes Öl erhalten (3.0 g, 9.6 mmol, 98%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31 - 7.21 (m, 3H), 7.15 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.02 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H), 4.77 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.35 - 2.24 (m, 3H), 2.23 - 2.13 (m, 2H), 2.12 - 2.06 (m, 4H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 194.99 (C_{quat}), 141.71 (C_{quat}), 136.31 (C_{quat}), 134.39 (C_{quat}), 129.26 (+, 2- Ar-CH), 128.82 (+, Ar-CH), 128.70 (+, 2 Ar-CH), 126.19 (+, Ar-CH), 60.28 (-, CH₂), 55.26(-, 2 CH₂), 50.22 (-, CH₂), 46.47 (CH), 28.51 (-, 2 CH₂), 21.02 (+, CH₃), 14.21 (+, CH₃). **ESI-MS** *m/z* 312.21 [M+H]⁺ (100).

Allgemeine Versuchsvorschrift M für 91a-d [210]

Ein Gemisch aus Trifluormethansulfonsäure und **90a-d** wurde 6 h auf 95°C erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung in eiskaltes Wasser (125 ml) gegossen. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von wässriger NaOH (50%) auf 9-10 eingestellt und das Produkt mit DCM extrahiert. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Der Rückstand wurde in Aceton (50 ml) verdünnt, Fumarsäure wurde zugegeben und das Gemisch wurde 1 h auf 50-55°C erwärmt. Das Lösungsmittel wurde auf 25 ml konzentriert. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das erhaltene Fumaratsalz abfiltriert, mit kaltem Aceton gewaschen und getrocknet. Anschließend wurde eine Reinigung über Säulenchromatographie (DCM/7 M NH₃ in MeOH 10/1 v/v) durchgeführt.

6,11-Dihydro-11-(1-methylpiperidin-4-yliden)-5-imidazo[2,1-*b*][3]-benzazepin (**91a**) [210]



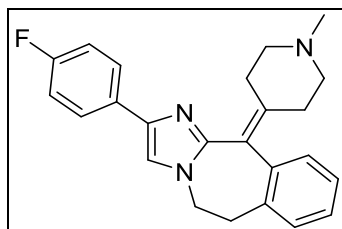
C₁₈H₂₁N₃ (M = 279.39 g/mol)

Aus Trifluormethansulfonsäure (50 ml) und **90a** (6.1 g Hydrochloridsalz, 18.3 mmol) wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift M **91a** hergestellt. Dieses wurde als weißer Feststoff erhalten (2.84 g, 10 mmol, 55%).

C₁₈H₂₁N₃ (M = 279.39), Smp. 190.4-192.6 °C, **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO) δ 7.41 - 7.32 (m, 1H), 7.30 - 7.18 (m, 2H), 7.11 - 7.04 (m, 1H), 7.01 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* =

1.1 Hz, 1H), 4.45 - 4.33 (m, 1H), 4.00 - 3.84 (m, 1H), 3.25-3.34 (m, 1H), 3.06 - 2.86 (m, 1H), 2.85 - 2.53 (m, 4H), 2.39 - 2.25 (m, 1H), 2.22 - 1.94 (m, 3H), 2.24 - 1.90 (m, 3H). **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO) δ 167.00 (C_{quat}), 142.48 (C_{quat}), 139.04 (C_{quat}), 137.00 (C_{quat}), 134.50 (+, Ar-CH), 128.28 (+, Ar-CH), 127.71 (+, Ar-CH), 126.99 (+, Ar-CH), 126.51 (+, Ar-CH), 125.20 (C_{quat}), 121.09 (+, Ar-CH), 54.59 (-, CH₂), 54.40 (-, CH₂), 48.12 (-, CH₂), 43.36 (+, CH₃), 30.16 (-, CH₂), 28.83 (-, CH₂), 28.77 (-, CH₂). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₁₈H₂₃N₃O⁺ [M+H]⁺ 280.1808, gefunden: 298.1911 (100). **CHN** (C₁₈H₂₁N₃ · 0.8 DCM) berechnet: C, 71.92; H, 7.60; N, 13.90 gefunden: C 72.09, H 7.38, N 13.63.

2-(4-Fluorophenyl)-11-(1-methylpiperidin-4-yliden)-6,11-dihydro-5H-benzo[d]imidazo[1,2-a]azepin (91b)

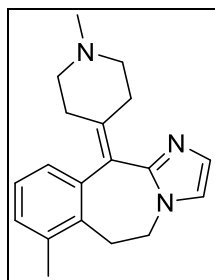


C₂₄H₂₄FN₃ (M = 373.48 g/mol)

Aus **90b** (0.35 g, 0.89 mmol) wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift **M 91b** mit 2.44 ml Trifluormethansulfonsäure hergestellt. Die Aufreinigung erfolgte zusätzlich über HPLC. **91b** wurde als weißes TFA-Salz erhalten (86 mg, 0.18 mmol, 20%).

C₂₄H₂₄FN₃ (M = 373.48), Smp. 161-162 °C, **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 12.73 (s, 1H), 7.77 (dd, *J* = 8.7, 5.0 Hz, 2H), 7.54 - 7.30 (m, 4H), 7.22 - 7.01 (m, 2H), 4.57 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 4.15 (dd, *J* = 13.6, 10.6 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.64 (d, *J* = 10.6 Hz, 2H), 3.52 - 2.28 (m, 8H). **¹³C-NMR** (151 MHz, CDCl₃) δ 164.39 (C_{quat}), 162.73 (TFA-C_{quat}), 142.69 (C_{quat}), 141.95 (C_{quat}), 136.36 (C_{quat}), 134.65 (C_{quat}), 134.31 (C_{quat}), 129.76, 128.87, 128.62, 128.08, 128.02, 122.41, 120.35 (C_{quat}), 116.93, 116.67, 116.52, 53.59, 53.17, 49.78, 43.11, 29.88, 28.63, 28.12. **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für C₂₄H₂₅FN₃⁺ [M+H]⁺ 374.2027; gefunden: 374.2029.

7-Methyl-11-(1-methylpiperidin-4-yliden)-6,11-dihydro-5H-benzo[d]imidazo[1,2-a]zepin (91c) [160]

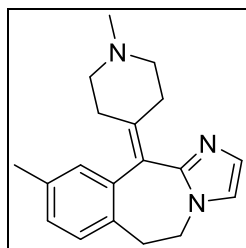


$C_{19}H_{23}N_3O$ (M = 293.41 g/mol)

Aus **90c** (2.67 g, 8.6 mmol) wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift M **91c** hergestellt. Die Aufreinigung erfolgte zusätzlich über HPLC. **91c** wurde als weißes TFA-Salz erhalten (63 mg, 0.15 mmol, 2%).

$C_{19}H_{23}N_3O$ (M = 293.41), **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ 13.11 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.26 - 7.09 (m, 2H), 7.00 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 4.55 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 4.20 - 3.99 (m, 1H), 3.84 - 3.53 (m, 3H), 3.51 - 3.34 (m, 1H), 3.35 - 3.06 (m, 2H), 3.04 - 2.77 (m, 6H), 2.76 - 2.55 (m, 1H), 2.40 (s, 3H). **^{13}C -NMR** (151 MHz, $CDCl_3$) δ 162.08 (TFA- C_{quat}), 142.05 (C_{quat}), 141.56 (C_{quat}), 136.85 (C_{quat}), 136.17 (C_{quat}), 132.51 (C_{quat}), 131.45 (+, Ar-CH), 128.12 (+, Ar-CH), 126.62 (+, Ar-CH), 121.81 (+, Ar-CH), 120.96 (C_{quat}), 120.49 (+, Ar-CH), 53.89 (-, CH_2), 53.35 (-, CH_2), 48.78 (-, CH_2), 43.14 (+, CH_3), 28.52 (-, CH_2), 28.22 (-, CH_2), 25.43 (-, CH_2), 19.61 (+, CH_3). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{19}H_{24}N_3^+$ $[M+H]^+$ 294.1965; gefunden:294.1964.

9-Methyl-11-(1-methylpiperidin-4-yliden)-6,11-dihydro-5H-benzo[d]imidazo[1,2-a]zepin (91d) [160]

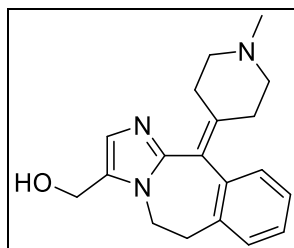


$C_{19}H_{23}N_3O$ (M = 293.41 g/mol)

Aus **90d** (3.0 g, 9.7 mmol) wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift M **91d** (3.0 g, 9.66 mmol) hergestellt. Die Aufreinigung erfolgte zusätzlich über HPLC. **91d** wurde als weißes TFA-Salz erhalten (72 mg, 0.18 mmol, 2%).

$C_{19}H_{23}N_3O$ (M = 293.41), Smp. 133.3-135.6°C **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37 (s, 1H), 7.18 (7.24 - 7.13 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 4.52 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 4.20 - 3.98 (m, 1H), 3.86 - 3.42 (m, 4H), 3.28 - 3.06 (m, 1H), 3.07 - 2.78 (m, 7H), 2.73 - 2.56 (m, 1H), 2.35 (s, 3H). **^{13}C -NMR** (101 MHz, $CDCl_3$) δ 162.02 (TFA- C_{quat}), 142.40 (C_{quat}), 141.37 (C_{quat}), 138.53 (C_{quat}), 136.15 (C_{quat}), 131.42 (C_{quat}), 130.49 (+, Ar-CH), 129.02 (+, Ar-CH), 128.88 (+, Ar-CH), 122.08 (+, Ar-CH), 120.61 (C_{quat}), 120.44 (+, Ar-CH), 53.96 (-, CH_2), 53.36 (-, CH_2), 49.91 (-, CH_2), 43.14 (+, CH_3), 29.49 (-, CH_2), 28.55 (-, CH_2), 28.20 (-, CH_2), 21.16 (+, CH_3). **HR (EI-MS)** m/z berechnet für $C_{19}H_{23}N_3^+M^+$ 293.1887; gefunden: 293.1890.

(11-(1-methylpiperidin-4-yliden)-6,11-dihydro-5H-benzo[d]imidazo[1,2-a]azepin-3-yl)methanol (91e)



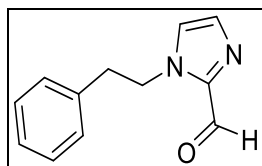
$C_{19}H_{23}N_3O$ (M = 309.41 g/mol)

Ein Gemisch aus **91a** (1.4 g der freien Base, 5.0 mmol), 40%igem wässrigem Formaldehyd (9.2 ml) und Natriumacetat (0.65 g) wurde 20 h auf 95°C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der pH-Wert durch Zugabe von 50%iger wässriger NaOH auf 9-10 eingestellt und das Produkt mit DCM extrahiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und auf ein Volumen von 12 ml in Aceton geändert. Fumarsäure wurde zugegeben (0.44 g, 3.8 mmol) und das Gemisch 1 h unter Rückfluss erhitzt. Die Suspension wurde auf 0°C abgekühlt, filtriert und gewaschen, um das Fumaratsalz zu erhalten. Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie unter Verwendung von DCM/7 M NH_3 in MeOH (10/1 v/v) als Lösungsmittel. **91e** wurde als weiße Kristalle erhalten [210] (1.23 g, 4.0 mmol, 80%).

$C_{19}H_{23}N_3O$ ($M = 309.41$), Smp. 188.4-190°C, **1H -NMR** (300 MHz, DMSO) δ 7.48 - 7.31 (m, 1H), 7.30 - 7.18 (m, 2H), 7.12 - 7.01 (m, 1H), 6.79 (s, 1H), 4.98 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.35 (s, 2H), 4.15 (q, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.00 - 3.80 (m, 1H), 3.17 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 3.01 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 2.85 - 2.52 (m, 4H), 2.41 - 2.24 (m, 1H), 2.22 - 2.11 (m, 3H), 2.08 (m, 1H), 2.00 (m, 1H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO) δ 143.58 (C_{quat}), 140.21 (C_{quat}), 139.66 (C_{quat}), 136.89 (C_{quat}), 136.89 (C_{quat}), 128.25 (+, Ar-CH), 128.16 (+, Ar-CH), 127.42 (+, Ar-CH), 126.38 (+, Ar-CH), 125.81 (+, Ar-CH), 124.07 (C_{quat}), 56.36 (-, CH_2), 56.22 (-, CH_2), 52.83 (-, CH_2), 48.48 (-, CH_2), 45.97 (-, CH_2), 45.53 (-, CH_2), 39.61 (+, CH_3), 30.69 (-, CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z berechnet für $C_{19}H_{24}N_3^+$ $[M+H]^+$ 310.1914; gefunden: 310.1921 (100).

6.12 Synthese eines Alcaftadin-Derivats mit Sauerstoff-Verbrückung

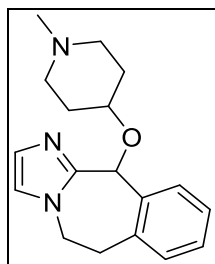
1-Phenethyl-1*H*-imidazol-2-carbaldehyd (**94**) [211]



$C_{12}H_{12}N_2O$ ($M = 200.24$ g/mol)

Imidazol-2-carbaldehyd (3.33 g, 34.7 mmol) und K_2CO_3 (1.11 g) wurden 10 min bei Raumtemperatur in DMF gerührt. 2-Phenylethylbromid (3.0 g) wurde zugetropft. Das Gemisch wurde 14 h unter Rückfluss erhitzt. Ungelöstes Material wurde abfiltriert und das Lösungsmittel abgedampft. Das erhaltene gelbe Öl wurde in DCM gelöst und mit Wasser gewaschen. Das Produkt wurde mit 1 M HCl (3x) extrahiert. Nach Neutralisation der wässrigen Phase mit $NaHCO_3$ wurde das Produkt mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. **94** wurde als klares Öl erhalten (1.80 g, 9 mmol, 26%).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 9.76 (s, 1H), 7.34 - 7.10 (m, 3H), 7.08 - 6.99 (m, 3H), 6.83 - 6.79 (m, 1H), 4.64 - 4.47 (m, 2H), 2.99 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 181.90 (carbonyl-C), 143.09 (C_{quat}), 137.14 (C_{quat}), 131.31(+, Ar-CH), 128.78 (+, 2 Ar-CH), 128.67 (+, 2 Ar-CH), 126.93 (+, Ar-CH), 126.61 (+, Ar-CH), 49.26 (-, CH_2), 37.43 (-, CH_2). **EI-MS** m/z 200.09 $[M+H]^+$ (3), 104.06 (100).

11-((1-Methylpiperidin-4-yl)oxy)-6,11-dihydro-5H-benzo[d]imidazo[1,2-a]azepin (95) [115]

$C_{18}H_{23}N_3O$ (M = 297.40 g/mol)

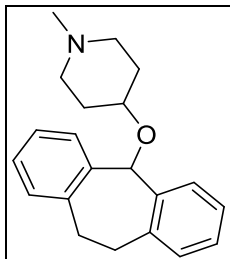
94 (1.75 g, 8.74 mmol) wurde in Chloroform gelöst und 4-Hydroxy-*N*-methyl-piperidin (1.00 g, 8.74 mmol) wurde zugegeben. Anschließend wurde Methansulfonsäure bis zur violett-Färbung der Lösung zugetropft. Die Reaktion wurde bis zum vollständigen Umsatz refluxiert. Danach wurde der pH-Wert mit gesättigter Natriumcarbonat-Lösung auf 10 eingestellt. Das Produkt wurde mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch (DCM/MeOH/NH₄OH 92.5/7.5/0.75 v/v/v). **95** wurde als klares Öl erhalten (0.70 g, 2.35 mmol, 27%).

$C_{18}H_{23}N_3O$ (M = 297.40), **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ 7.40 - 7.19 (m, 4H), 6.99 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 5.54 (s, 1H), 4.52 - 4.31 (m, 1H), 4.19 - 3.91 (m, 2H), 3.83 - 3.65 (m, 1H) 3.14 - 2.81 (m, 4H), 2.62 (s, 3H), 2.39 - 2.10 (m, 2H), 2.09 - 1.80 (m, 2H). **¹³C-NMR** (101 MHz, CDCl₃) δ 145.19 (C_{quat}), 138.26 (C_{quat}), 137.43 (C_{quat}), 129.95 (+, Ar-CH), 129.68 (+, Ar-CH), 128.96 (+, Ar-CH), 127.85 (+, Ar-CH), 127.12 (+, Ar-CH), 121.61 (+, Ar-CH), 76.84 (+, CH), 53.42 (-, 2 CH₂), 48.00 (-, 2 CH₂), 46.10 (+, CH₃), 31.41 (+, CH), 31.10 (-, 2 CH₂). **HR (ESI-MS)** *m/z* berechnet für $C_{18}H_{23}N_3O$ [M+H]⁺ 298.1921, gefunden: 298.1914 (100).

6.13 Synthese des Dibenzosuberonderivats mit Sauerstoff-Linker

4-((10,11-Dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yl)oxy)-1-methylpiperidin

(96) [173]



$C_{21}H_{25}NO$ ($M = 307.44$ g/mol)

96 wurde nach der allgemeinen Versuchsvorschrift H aus 4-Hydroxy-1-methylpiperidin (0.55 g, 4.8 mmol) und **37q** (4.8 mmol) hergestellt. **96** wurde als weißer Feststoff erhalten (1.15 g, 3.7 mmol, 78%).

$C_{21}H_{25}NO$ ($M = 307.44$), Smp. 87-89°C, **1H -NMR** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.48 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 7.38 - 7.16 (m, 6H), 5.67 (s, 1H), 3.67 - 3.45 (m, 3H), 3.30 - 3.01 (m, 2H), 2.88 - 2.66 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.25 - 2.12 (m, 2H), 2.04 - 1.90 (m, 2H), 1.91 - 1.75 (m, 2H). **^{13}C -NMR** (101 MHz, $CDCl_3$) δ 130.16 (+, 2 Ar-CH), 127.79 (+, 2 Ar-CH), 125.92 (+, 4 Ar-CH), 77.24 (+, CH_3), 53.25 (-, 2 CH_2), 46.14 (+, CH_3), 32.18 (-, 2 CH_2), 31.38 (-, 2 CH_2). **HR (ESI-MS)** m/z $[M]^+$ berechnet für $C_{21}H_{26}NO^+$ $[M+H]^+$ 308.2009, gefunden: 308.2015 (100). **CHN** ($C_{18}H_{19}ClN_2O \cdot 0.13$ DCM) berechnet: C, 79.47; H, 7.98; N, 4.38; O, 5.01 gefunden: C 79.55, H 7.87, N 4.51.

6.14 HPLC Reinheitsdaten

Die HPLC-Messungen wurden mit folgenden Methoden ausgeführt:

Solvens A: MeCN

Solvens B: H₂O + 0,1% TFA

Methode A: 0-25 min: 10/90 - 95/5 (A/B), 25-35 min: 95/5, 35-36 min: 95/5 - 10/90, 36-45 min: 10/90. Flow = 1.0 ml/min.

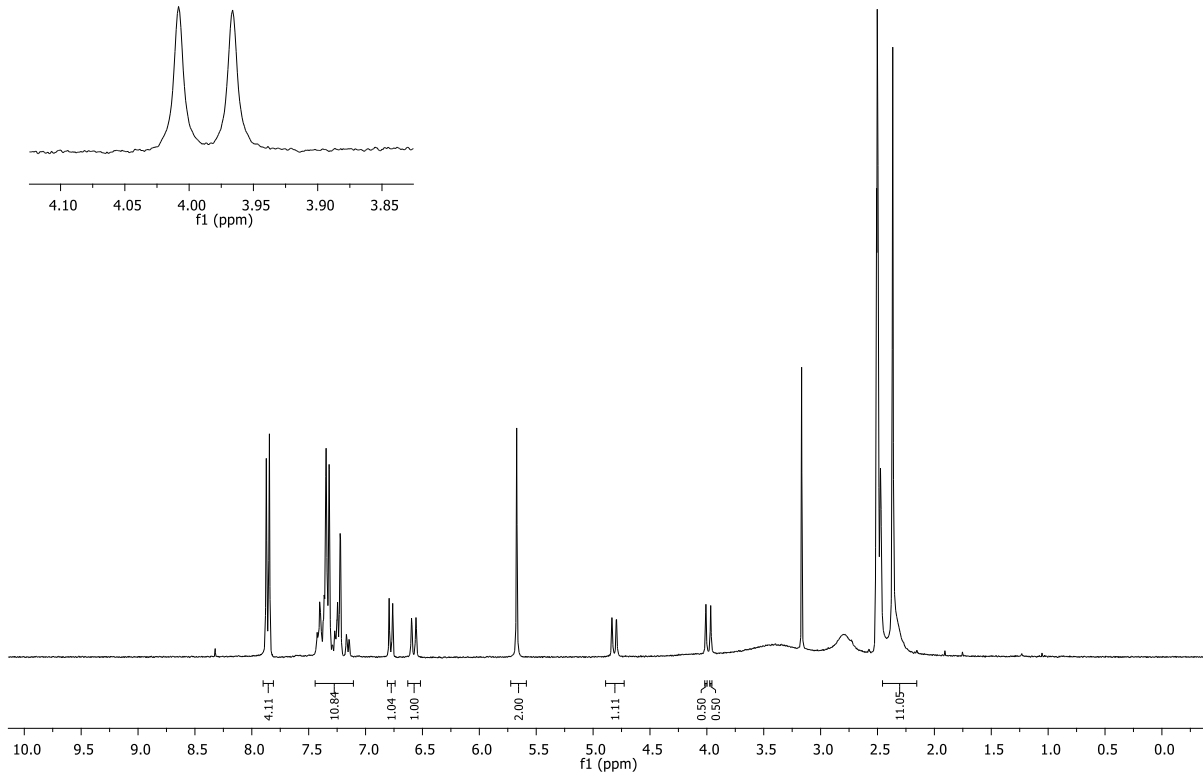
Kapazitätsfaktor $k = (t_R - t_0)/t_0$, t_R = Retentionszeit, t_0 = Totzeit = 2.57 min.

Verbindung	λ	t_R [min]	k	Reinheit [%]
39b	220 nm	11.81	3.42	96.0
39e	220 nm	9.52	2.70	95.5
39f	220 nm	11.49	1.65	98.4
39g	220 nm	11.74	3.57	92.4
39h	220 nm	9.20	2.58	93.3
48d	220 nm	10.91	2.49	97.6
49a	220 nm	9.07	3.54	97.3
49b	220 nm	9.06	3.20	98.5
49c	220 nm	10.97	2.67	90.5
55	220 nm	11.29	1.28	90.0
66	220 nm	11.80	3.39	94.3
68	220 nm	10.69	3.59	100.0
86a	220 nm	6.28	2.95	99.2
86b	220 nm	5.46	1.42	97.4
90a	220 nm	10.26	2.48	98.4
91b	220 nm	9.54	3.16	95.4
91c	220 nm	6.89	1.70	95.4
91d	220 nm	7.02	2.71	99.9
91e	220 nm	5.85	3.27	90.8
95	220 nm	5.91	1.10	96.2

6.15 Analytik des Racemats 38e und der Enantiomere (*R*)-38e and (*S*)-38e [108]

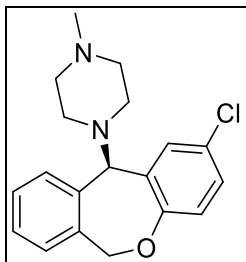
(*R/S*)-1-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methylpiperazine 38e

¹H-NMR Spektrum von (+)-*O,O'*-di-*p*-toluoyl-*D*-Tartrat ohne Racemattrennung

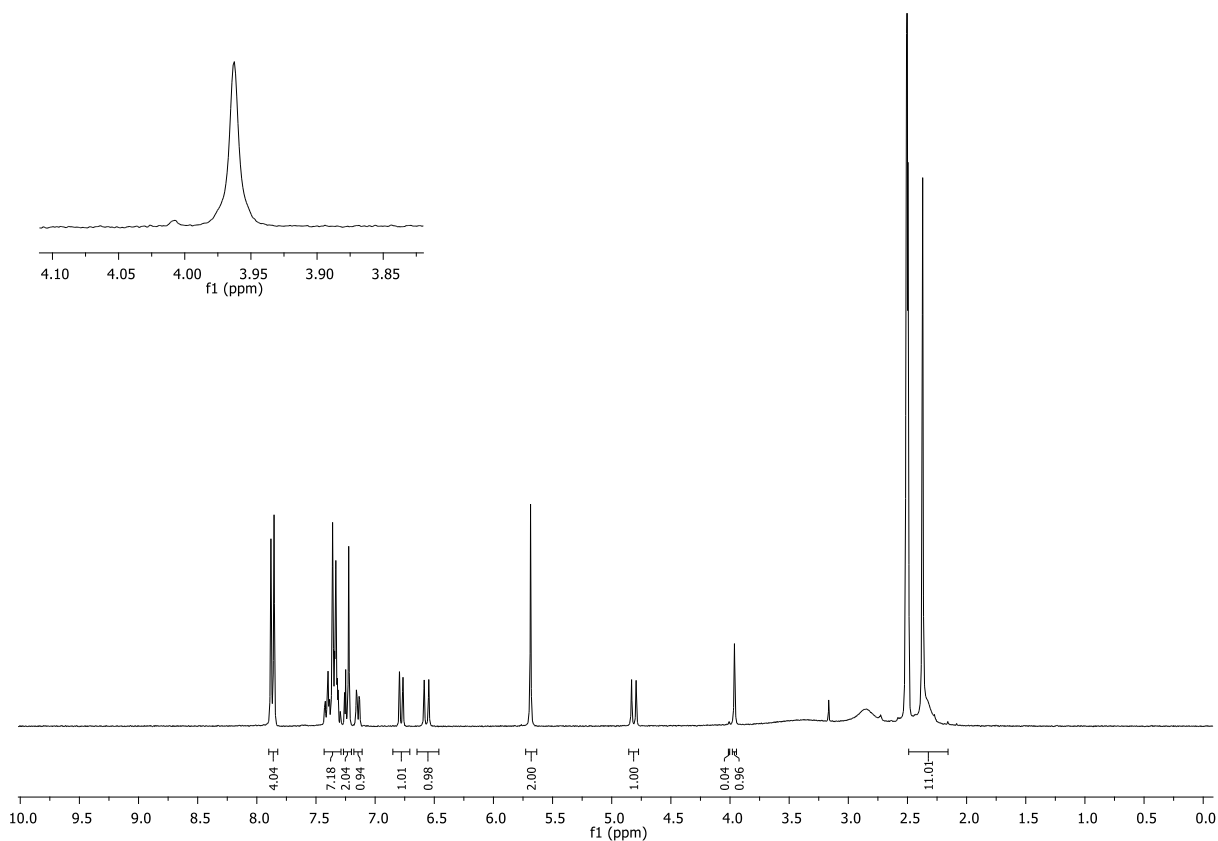


¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.86 (d, *J* = 8.1 Hz, 4H), 7.44 - 7.30 (m, 7H), 7.28 - 7.13 (m, 3H), 6.78 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 5.67 (s, 2H), 4.81 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H), 4.01 (s, 0.5H), 3.97 (s, 0.5H), 2.47 (s, 6H), 2.37 (m, 11H).

**(R)-1-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methylpiperazin (*R*)-
38e**



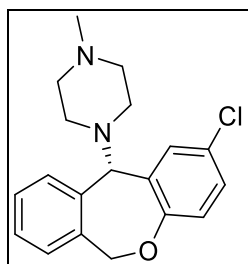
¹H-NMR Spektrum von (-)-*O,O'*-di-*p*-toluoyl-*L*-tartrat nach der zweiten Kristallisation



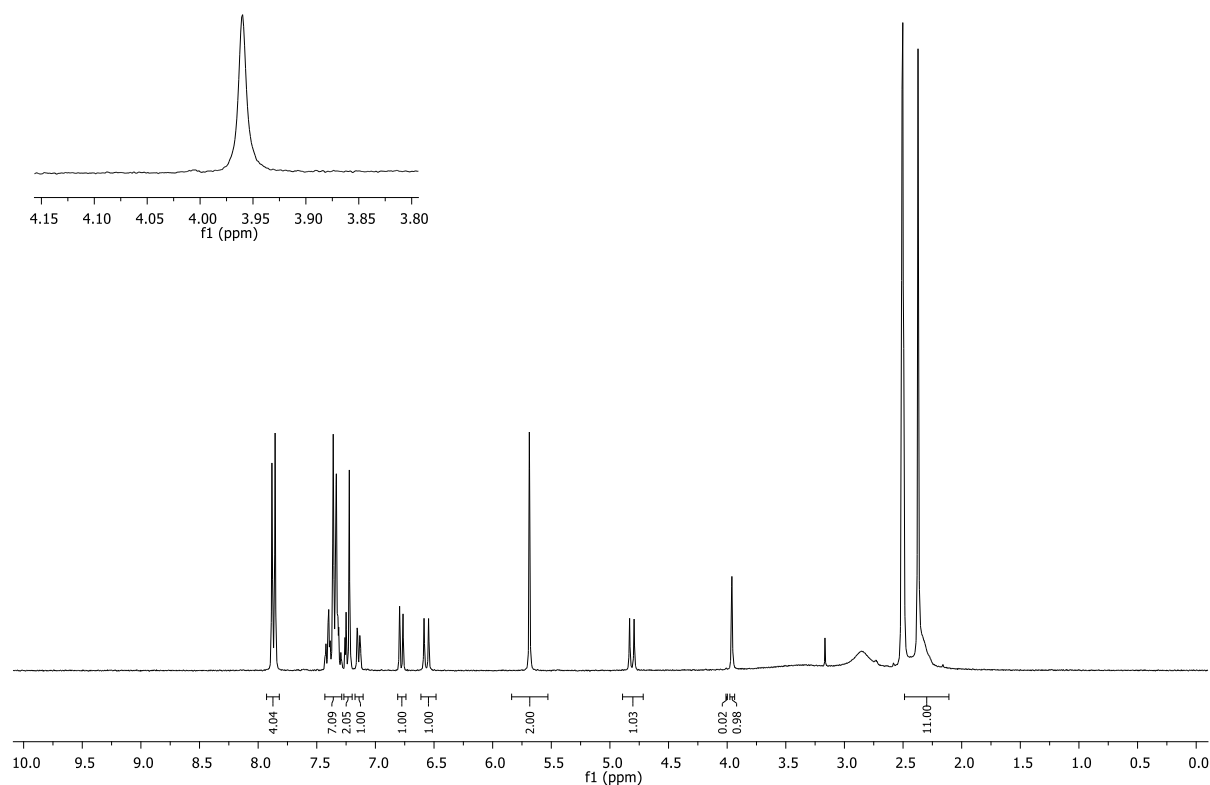
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.46 - 7.28 (m, 7H), 7.26 - 7.20 (m, 2H), 7.15 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 5.69 (s, 2H), 4.81 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.01 (s, 0.04H), 3.96 (s, 0.96H), 2.49 (d, *J* = 1.8 Hz, 6H), 2.37 (m, 11H).

Optische Drehung α von (*R*)-38e (β = 0.01 g/ml (DMSO), *d* = 0.5 dm,): α = 1.001 ± 0.002°, [α]_D²⁰ = 200.2 ± 0.38 ° ml / (g dm)

(S)-1-(2-Chloro-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yl)-4-methylpiperazin (S**)-38e**



$^1\text{H-NMR}$ Spektrum von (+)-*O,O'*-di-*p*-toluoyl-*D*-tartrat nach der dritten Kristallisation:



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 7.86 (d, $J = 8.1$ Hz, 4H), 7.44 - 7.30 (m, 7H), 7.28 - 7.13 (m, 3H), 6.78 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 5.67 (s, 2H), 4.81 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 4.01 (s, 0.02H), 3.97 (s, 0.98H), 2.47 (s, 6H), 2.37 (m, 11H).

Optische Drehung α von (S**)-38e** ($\beta = 0.01$ g/ml (DMSO), $d = 0.5$ dm.): $\alpha = -0.906 \pm 0.001^\circ$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -181.1 \pm 0.29^\circ \text{ ml / (g dm)}$

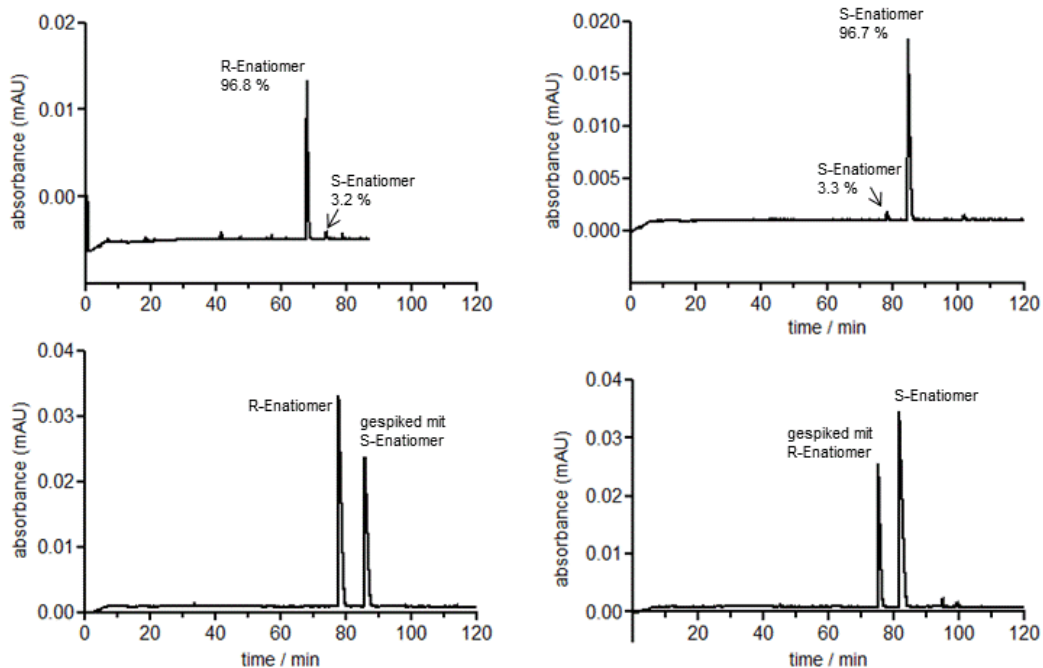
6.16 Kristallstrukturen der Enantiomere (*R*)-38e und (*S*)-38e [108]

Compound	(<i>R</i>)-38e	(<i>S</i>)-38e
CCDC	1477067	1477068
Formula	C ₃₉ H ₃₉ CIN ₂ O ₉	C ₃₉ H ₃₉ CIN ₂ O ₉
$D_{calc.}/g\ cm^{-3}$	1.295	1.297
μ/mm^{-1}	1.402	1.403
Formula Weight	715.17	715.17
Colour	colourless	clear colourless
Shape	prism	plate
Size/mm ³	0.43x0.18x0.12	0.23x0.18x0.04
T/K	123.00(10)	123.01(10)
Crystal System	orthorhombic	orthorhombic
Flack Parameter	-0.020(13)	0.002(8)
Hooft Parameter	-0.037(9)	-0.006(8)
Space Group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
$a/\text{\AA}$	9.9772(2)	9.97273(12)
$b/\text{\AA}$	11.4784(2)	11.46475(14)
$c/\text{\AA}$	32.0187(8)	32.0402(4)
$\alpha/^\circ$	90	90
$\beta/^\circ$	90	90
$\gamma/^\circ$	90	90
$V/\text{\AA}^3$	3666.86(14)	3663.32(8)
Z	4	4
Z'	1	1
Wavelength/ \AA	1.54184	1.54184
Radiation type	CuK α	CuK α
$\Theta_{min}/^\circ$	4.091	4.095
$\Theta_{max}/^\circ$	73.423	73.631
Measured Refl.	20343	26525
Independent Refl.	7185	7265
Reflections Used	6683	6838
R_{int}	0.0442	0.0385
Parameters	484	471
Restraints	6	0
Largest Peak	0.252	0.179
Deepest Hole	-0.188	-0.183
Goof	1.022	1.036
wR_2 (all data)	0.1110	0.0906
wR_2	0.1092	0.0886
R_1 (all data)	0.0450	0.0370
R_1	0.0420	0.0345

6.17 Kapillarelektrophorese der Enantiomere (*R*)-**38e** und (*S*)-**38e** [108]

Die Enantiomerentrennung von **38e** wurde an einem Biofocus 3000-Kapillarelektrophor-System (Bio-Rad, München, Deutschland) durchgeführt [26]. Die Analysen wurden in einer unbeschichteten Quarzglaskapillare (MicroQuartz, München, Deutschland) mit einer Gesamtlänge von 75 cm (effektive Länge: 70.4 cm) und einem Innendurchmesser von 50 μm durchgeführt. Die Kapillare wurde 5 min mit NaOH (0.1 M), dann 2 min mit Wasser und schließlich 10 min mit Laufpuffer gespült. Nach hydrodynamischer Injektion der Proben mit einem konstanten Druck-Zeit-Integral (20 psi s) wurde eine Analyse bei einer Feldstärke von 266.7 V/cm (positive Mode: + \rightarrow -) durchgeführt. Die UV-Detektion wurde bei 210 nm durchgeführt. Zur Herstellung des Laufpuffers wurden NaH_2PO_4 (125 mM) und Harnstoff (5 M) in Wasser gelöst und der pH-Wert durch Zugabe von H_3PO_4 (85%) auf 2.5 eingestellt. In diesem Puffer wurde γ -Cyclodextrin (100 mM) gelöst. Die Verbindungen **38e**, (*R*)-**38e** oder (*S*)-**38e** wurden in MeOH/ HCl (10 mM) (80/20 v/v) in einer Konzentration von 10 mM gelöst. Aus diesen Stammlösungen wurden Probenlösungen in der Konzentration von 500 μM mit einer gepufferten Lösung (NaH_2PO_4 15 mM, H_2O , Harnstoff 0.6 M, pH 2.5) hergestellt.

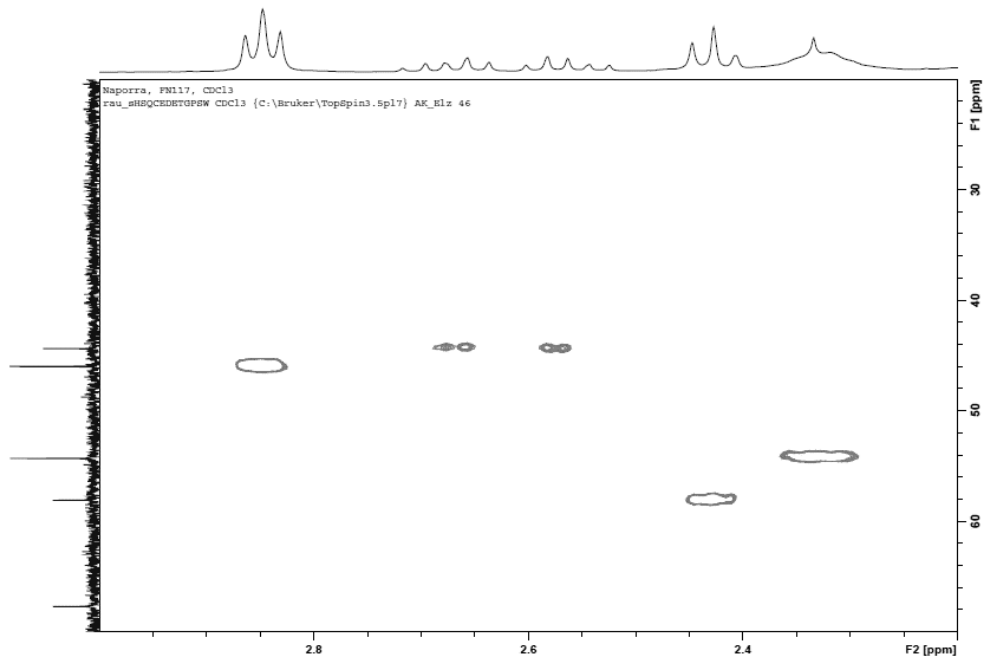
Spiking-Experiment zur Überprüfung der Zuordnung von (*R*)-**38e** und (*S*)-**38e** zu den Peaks in den CE-Läufen:



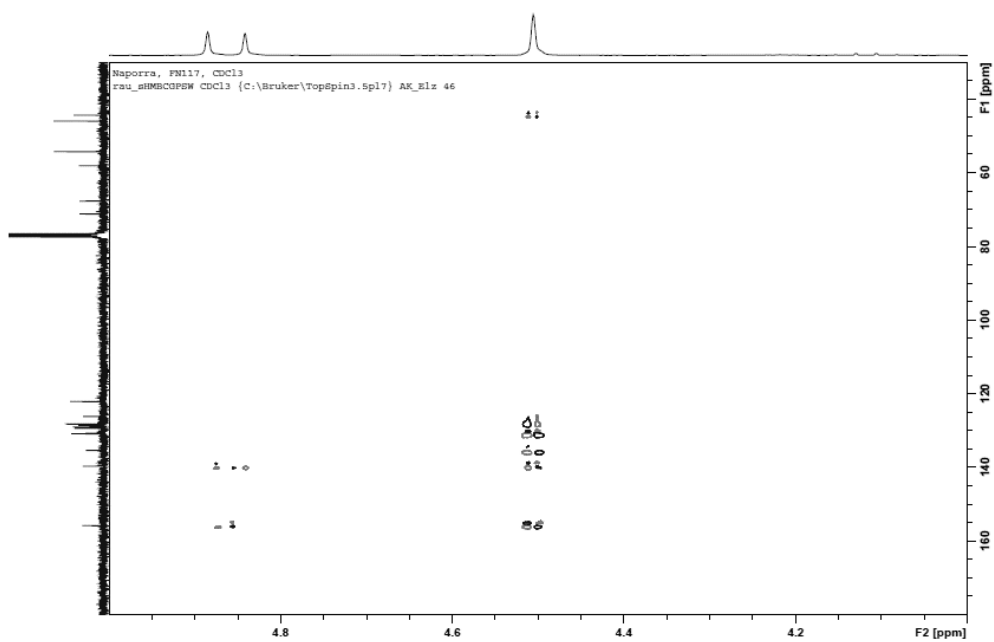
6.18 NMR-Spektren ausgewählter Verbindungen

NMR-Spektren (HSQC, HMBC) von 39e

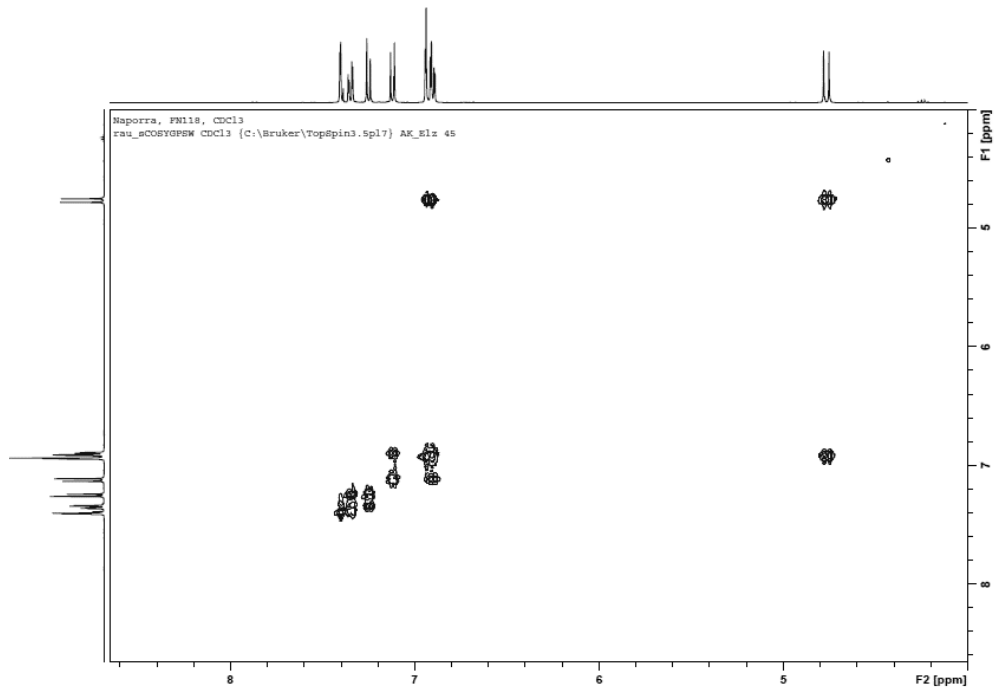
HSQC



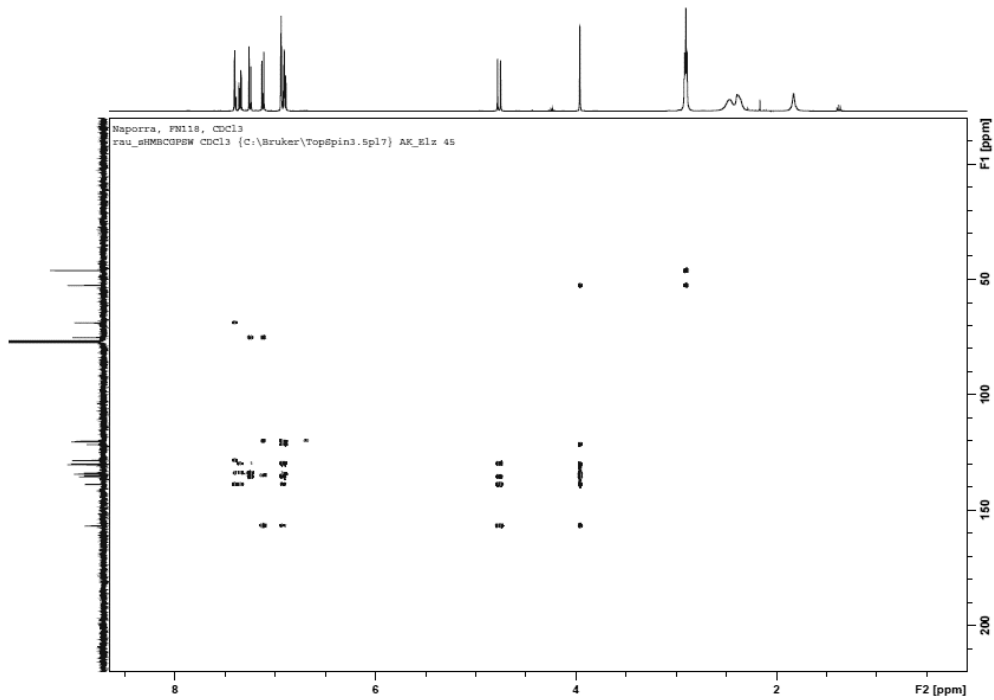
HMBC



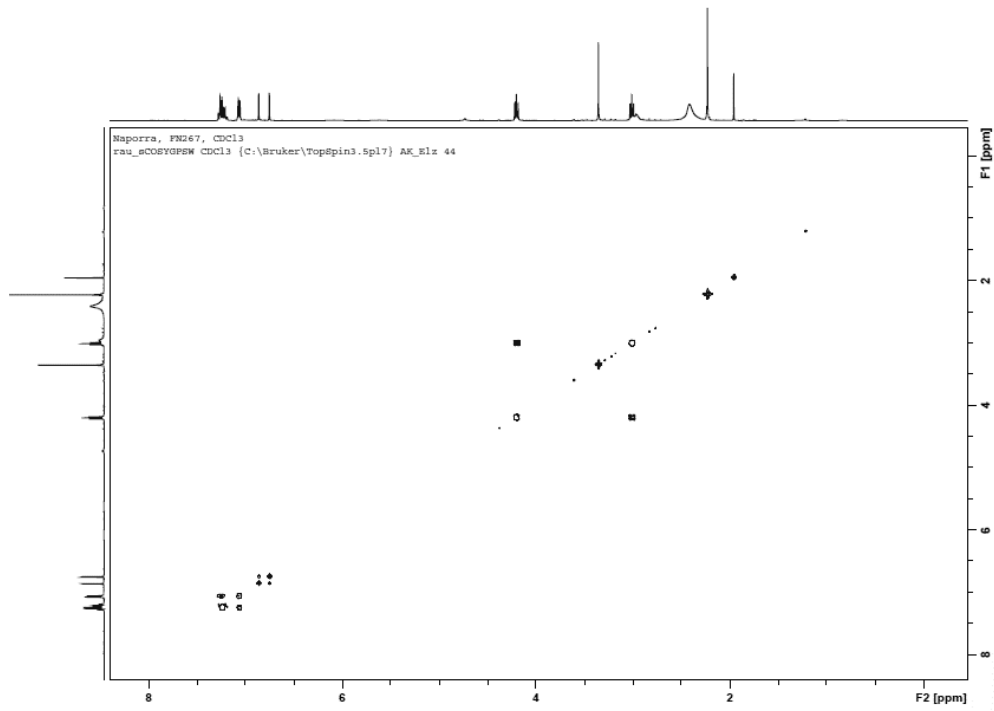
NMR-Spektren (COSY, HMBC) von 40
COSY



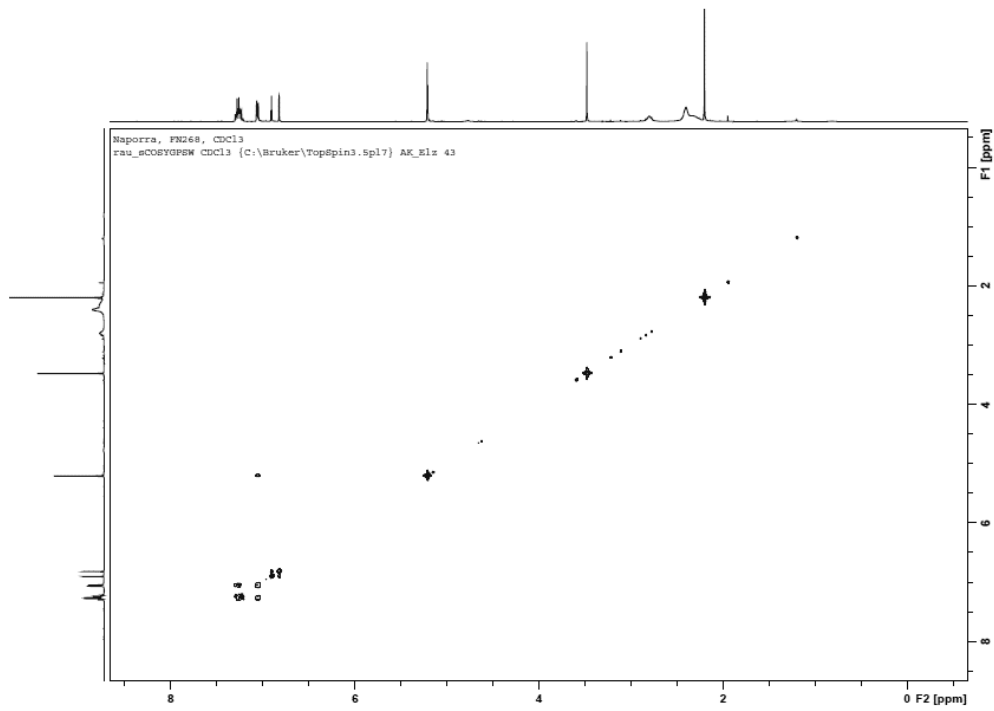
HMBC



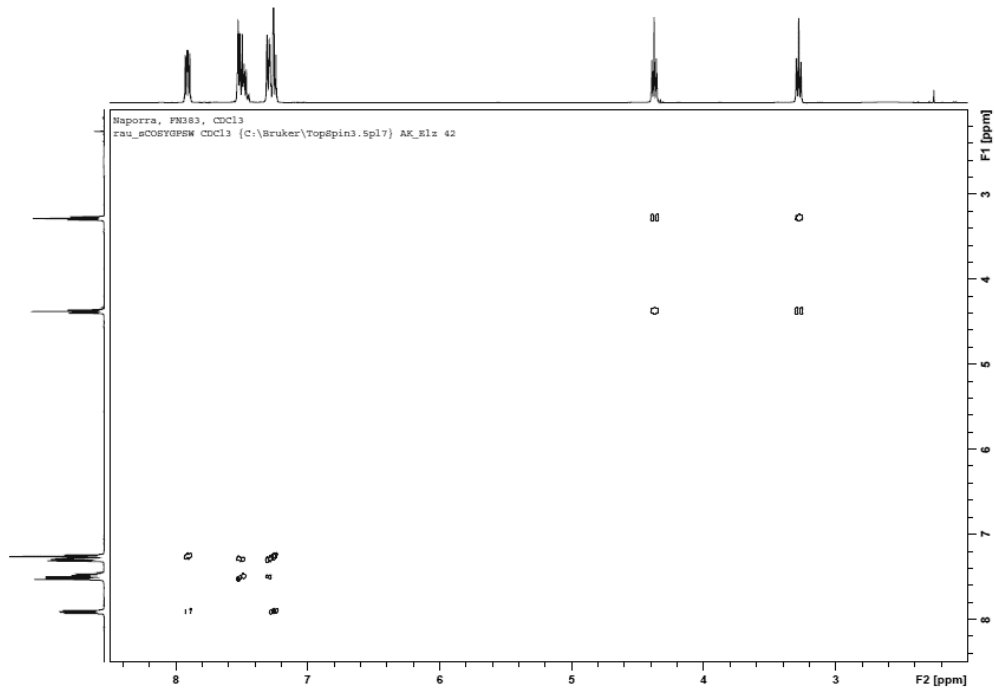
NMR-Spektrum (COSY) von 86a



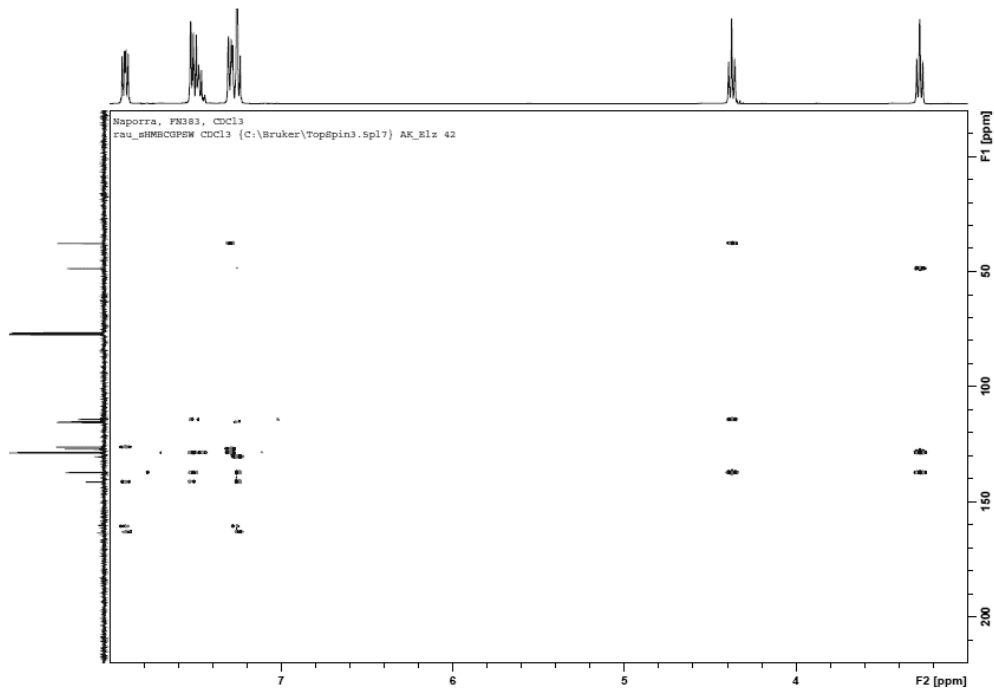
NMR-Spektrum (COSY) von 86b



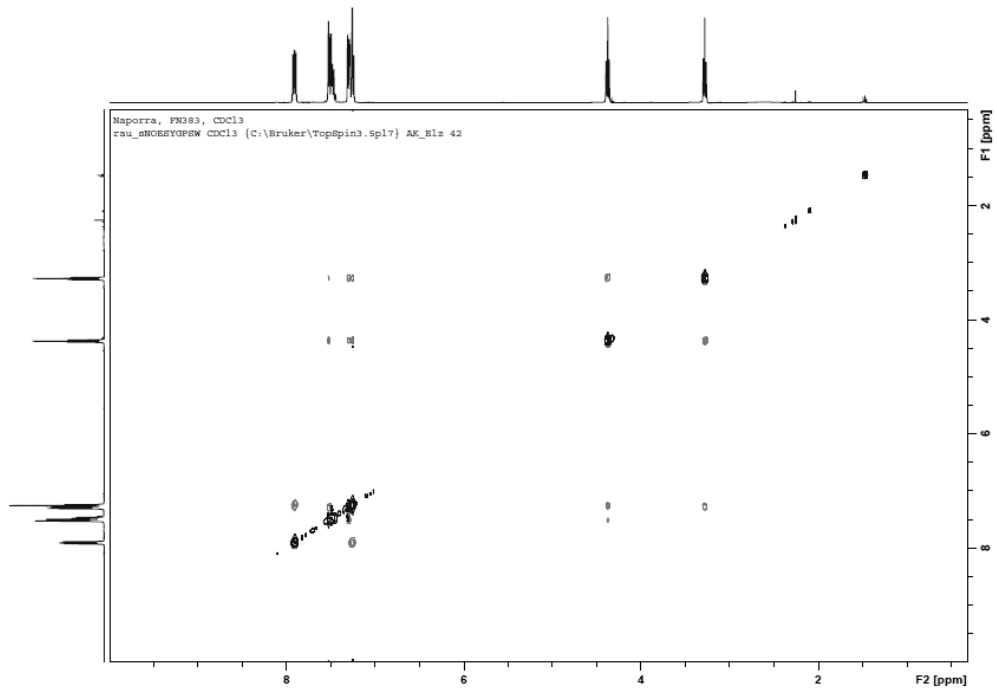
NMR-Spektren (COSY, HMBC, NOESY) von 91b
COSY



HMBC



NOESY



Literaturverzeichnis

1. Windaus, A.; Vogt, W. Synthesis of Imidazolylethylamine. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1907**, *40*, 3685–3691.
2. Barger, G.; Dale, H. H. CCLXV. 4- β -Aminoethylglyoxaline (β -Iminazolylethylamine) and the Other Active Principles of Ergot. *J. Chem. Soc. Trans.* **1910**, *97*, 2592–2595.
3. Dale H. H.; Laidlaw P. P. The physiological action of β -iminazolylethylamine *J. Physiol.* **1910**, *41*, 318–344.
4. Paiva, T. B.; Tominaga, M.; Paiva, A. C. Ionization of Histamine, N-Acetylhistamine, and Their Iodinated Derivatives. *J. Med. Chem.* **1970**, *13* (4), 689–692.
5. Schayer, R. W., The Origin and Fate of Histamine in the Body. *Ciba Found. Symp. on Histamine* **1956**, 183–188.
6. Schwartz, J. C., Arrang J. M., Garbarg M., Pollard H., Ruat M., Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol. Rev.* **1991**, *71*, 1–51.
7. Riley, J. F.; West, G. B. The Presence of Histamine in Tissue Mast Cells. *J. Physiol.* **1953**, *120* (4), 528–537.
8. Jacoby, E.; Bouhelal, R.; Gerspacher, M.; Seuwen, K. The 7 TM G-protein-Coupled Receptor Target Family. *ChemMedChem* **2006**, *1* (8), 760–782.
9. Parsons, M. E.; Ganellin, C. R. Histamine and Its Receptors. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, *147*, 127–135.
10. Overington, J. P.; Al-Lazikani, B.; Hopkins, A. L. How Many Drug Targets Are There? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5* (12), 993–996.
11. Stevens, R. C.; Cherezov, V.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Kuhn, P.; Rosen, H.; Wüthrich, K. The GPCR Network: A Large-Scale Collaboration to Determine Human GPCR Structure and Function. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12* (1), 25–34.
12. Kobilka, B. K. G Protein Coupled Receptor Structure and Activation. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Biomembr.* **2007**, *1768* (4), 794–807.
13. De Lean, A.; Stadel, J. M.; Lefkowitz, R. J. A Ternary Complex Model Explains the Agonist-Specific Binding Properties of the Adenylate Cyclase-Coupled Beta-Adrenergic Receptor. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255* (15), 7108–7117.

14. Samama, P.; Cotecchia, S.; Costa, T.; Lefkowitz, R. J. A Mutation-Induced Activated State of the Beta 2-Adrenergic Receptor. Extending the Ternary Complex Model. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268* (7), 4625–4636.
15. Leff, P. The Two-State Model of Receptor Activation. *Trends Pharmacol. Sci.* **1995**, *16* (3), 89–97.
16. Seifert, R.; Wenzel-Seifert, K. Constitutive activity of G-protein-coupled receptors: cause of disease and common property of wild-type receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2002**, *366*, 381-416.
17. Weiss, J. M.; Morgan, P. H.; Lutz, M. W.; Kenakin, T. P. The Cubic Ternary Complex Receptor–occupancy Model I. Model Description. *J. Theor. Biol.* **1996**, *178* (2), 151–167.
18. Weiss, J. M.; Morgan, P. H.; Lutz, M. W.; Kenakin, T. P. The Cubic Ternary Complex Receptor–occupancy Model II. Understanding Apparent Affinity. *J. Theor. Biol.* **1996**, *178* (2), 169–182.
19. Weiss, J. M.; Morgan, P. H.; Lutz, M. W.; Kenakin, T. P. The Cubic Ternary Complex Receptor–Occupancy Model III. Resurrecting Efficacy. *J. Theor. Biol.* **1996**, *181* (4), 381–397.
20. Kenakin, T., Ligand-selective receptor conformations revisited: the promise and the problem. *Trends Pharmacol. Sci.* **2003**, *24*, 346–354.
21. Perez, D. M; Karnik, S. S., Multiple signaling states of G-protein-coupled receptors. *Pharmacol. Rev.* **2005**, *57*, 147–161.
22. Kristiansen, K. Molecular Mechanisms of Ligand Binding, Signaling, and Regulation within the Superfamily of G-Protein-Coupled Receptors: Molecular Modeling and Mutagenesis Approaches to Receptor Structure and Function. *Pharmacol. Ther.* **2004**, *103* (1), 21–80.
23. Hall, A., GTPases (In: *Frontiers in Molecular Biology*), *Oxford University Press, Oxford* **2000**.
24. Biogene Amine - wichtige Botenstoffe im Nervensystem, *FZ-Juelich*, https://www.fz-juelich.de/ics/ics-4/DE/Forschungsthemen/02Biogene_Amine/artikel_biogene%20amine.html, **2011** (abgerufen am 14.03.2020).
25. Hanoune, J.; Defer, N. Regulation and Role of Adenylyl Cyclase Isoforms. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2001**, *41* (1), 145–174.
26. Pavan, B.; Biondi, C.; Dalpiaz, A. Adenylyl Cyclases as Innovative Therapeutic Goals. *Drug Discov. Today* **2009**, *14* (19), 982–991.

27. Thomsen, W.; Frazer, J.; Unett, D. Functional Assays for Screening GPCR Targets. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2005**, *16* (6), 655–665.
28. Birnbaumer, L. Expansion of Signal Transduction by G Proteins. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* **2007**, *1768* (4), 772–793.
29. Limbird, L. E.; De Meyts, P.; Lefkowitz, R. J., Beta-Adrenergic receptors. Evidence for negative cooperativity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1975**, *64*, 1160–1168.
30. George, S. R.; O'Dowd, B. F.; Lee, S. P. G-Protein-Coupled Receptor Oligomerization and Its Potential for Drug Discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1* (10), 808–820.
31. Nikbin, N.; Edwards, C.; Reynolds, C. A. G-Protein Coupled Receptor Dimerization. *Iran. J. Pharmacol. Ther.* **2003**, *2* (1), 1–11.
32. Szidonya, L.; Cserző, M.; Hunyady, L. Dimerization and Oligomerization of G-Protein-Coupled Receptors: Debated Structures with Established and Emerging Functions. *J. Endocrinol.* **2008**, *196* (3), 435–453.
33. Van Rijn, R. M.; Chazot, P. L.; Shenton, F. C.; Sansuk, K.; Bakker, R. A.; Leurs, R. Oligomerization of Recombinant and Endogenously Expressed Human Histamine H4 Receptors. *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70* (2), 604–615.
34. Moreno, J. L.; Muguruza, C.; Umali, A.; Mortillo, S.; Holloway, T.; Pilar-Cuéllar, F.; Mocci, G.; Seto, J.; Callado, L. F.; Neve, R. L.; Milligan, G.; Sealfon, S. C.; López-Giménez, J. F.; Meana, J. J.; Benson, D.L.; González-Maeso J. Identification of Three Residues Essential for 5-Hydroxytryptamine 2A-Metabotropic Glutamate 2 (5-HT_{2A}-mGlu₂) Receptor Heteromerization and Its Psychoactive Behavioral Function. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287* (53), 44301–44319.
35. Moreno, J. L.; Holloway, T.; Albizu, L.; Sealfon, S. C.; González-Maeso, J. Metabotropic glutamate mGlu₂ receptor is necessary for the pharmacological and behavioral effects induced by hallucinogenic 5-HT_{2A} receptor agonists. *Neurosci Lett.* **2011**, *493* (3), 76–79.
36. Rozenfeld, R.; Devi, L. A. Receptor heterodimerization leads to a switch in signaling: beta-arrestin2-mediated ERK activation by mu-delta opioid receptor heterodimers. *FASEB J.* **2007**, *21*, 2455–2465.
37. González-Maeso, J.; Sealfon, S. C. Functional selectivity in GPCR heterocomplexes. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12* (9), 851–855.

38. Szafran-Pilch, K.; Faron-Górecka, A.; Kolasa, M.; Żurawek, D.; Szlachta, M.; Solich J.; Kuśmider, M.; Dziedzicka-Wasylewska, M. Antidepressant drugs promote the heterodimerization of the dopamine D2 and somatostatin Sst5 receptors, *Brain Res Bull.* **2017**, *135*, 92–97
39. Smith, N. J.; Milligan, G. Allosterism at G Protein-Coupled Receptor Homo- and Heteromers: Uncharted Pharmacological Landscapes. *Pharmacol. Rev.* **2010**, *62*, 701–725.
40. Zheng, Y.; Akgün, E.; Harikumar, K. G.; Hopson, J.; Powers, M. D.; Lunzer, M. M.; Miller, L. J.; Portoghese, P. S. Induced Association of μ Opioid (MOP) and Type 2 Cholecystinin (CCK2) Receptors by Novel Bivalent Ligands. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 247–258.
41. Oswald, C.; Rappas, M.; Kean, J.; Doré, A. S.; Errey, J. C.; Bennett, K.; Deflorian, F.; Christopher, J. A.; Jazayeri, A.; Mason, J. S.; Congreve, M.; Cooke, R. M.; Marshall, F.H. Intracellular allosteric antagonism of the CCR9 receptor. *Nature* **2016**, *540* (7633), 462–465.
42. Jazayeri, A.; Doré, A. S.; Lamb, D.; Krishnamurthy, H.; Southall, S. M.; Baig, A. H.; Bortolato, A.; Koglin, M.; Robertson, N. J.; Errey, J. C.; Andrews, S. P.; Teobald, I.; Brown, A. J.; Cooke, R. M.; Weir, M.; Marshall, F. H. Extra-helical binding site of a glucagon receptor antagonist. *Nature* **2016**, *533* (7602), 274–277.
43. Liu, X.; Ahn, S.; Kahsai, A. W.; Meng, K. C.; Latorraca, N. R.; Pani, B.; Venkatakrishnan, A. J.; Masoudi, A.; Weis, W. I.; Dror, R. O.; Chen, X.; Lefkowitz, R. J.; Kobilka, B.K. Mechanism of intracellular allosteric β 2AR antagonist revealed by X-ray crystal structure. *Nature* **2017**, *548* (7668), 480–484.
44. May, L.T.; Avlani, V.A.; Sexton, P. M.; Christopoulos, A. Allosteric Modulation of G Protein-Coupled Receptors. *Curr Pharm Des.* **2004**, *10* (17), 2003–2013.
45. Kenakin, T., Allosteric drug. Preface. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **2013**, *115*, xi–xiii.
46. Vassilatis, D. K.; Hohmann, J. G.; Zeng, H.; Li, F.; Ranchalis, J. E.; Mortrud, M. T.; Brown, A.; Rodriguez, S. S.; Weller, J. R.; Wright, A. C. The G Protein-Coupled Receptor Repertoires of Human and Mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2003**, *100* (8), 4903–4908.

47. Levoye, A.; Dam, J.; Ayoub, M. A.; Guillaume, J. L.; Jockers, R. Do orphan G-protein-coupled receptors have ligand-independent functions? New insights from receptor heterodimers. *EMBO Rep.* **2006**, *7* (11), 1094–1098.
48. Fredriksson, R.; Lagerström, M. C.; Lundin, L.-G.; Schiöth, H. B. The G-Protein-Coupled Receptors in the Human Genome Form Five Main Families. Phylogenetic Analysis, Paralogon Groups, and Fingerprints. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63* (6), 1256–1272.
49. Schioeth, H.B.; Fredriksson, R., The GRAFS classification system of G-protein coupled receptors in comparative perspective. *Gen. Comp. Endocrinol.* **2005**, *142* (1-2), 94-101.
50. G protein-coupled receptors. IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY, <http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=69> 4. (abgerufen am 01.04.2020)
51. Kolakowski Jr, L. F. GCRDb: A G-Protein-Coupled Receptor Database. *Receptors Channels* **1993**, *2* (1), 1–7.
52. Bovet, D.; Staub, A.M.; Protective action of some phenolic ethers in histamine intoxication. *C. R. Seances Soc. Biol. Ses. Fil.* **1937**, *124*, 547–549.
53. Halpern, B. N. Synthetic antihistamine substances. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **1942**, *68*, 339–408.
54. Feinberg, S. M. The antihistaminic drugs. Pharmacology and therapeutic effects. *Am. J. Med.* **1947**, *3* (5), 560–70.
55. Oda, T.; Morikawa, N.; Saito, Y.; Masuho, Y.; Matsumoto, S. Molecular Cloning and Characterization of a Novel Type of Histamine Receptor Preferentially Expressed in Leukocytes. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275* (47), 36781–36786.
56. Nakamura, T.; Itadani, H.; Hidaka, Y.; Ohta, M.; Tanaka, K. Molecular Cloning and Characterization of a New Human Histamine Receptor, hH4R. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *279* (2), 615–620.
57. Morse, K. L.; Behan, J.; Laz, T. M.; West, R. E.; Greenfeder, S. A.; Anthes, J. C.; Umland, S.; Wan, Y.; Hipkin, R. W.; Gonsiorek, W. Cloning and Characterization of a Novel Human Histamine Receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *296* (3), 1058–1066.
58. Nguyen, T.; Shapiro, D. A.; George, S. R.; Setola, V.; Lee, D. K.; Cheng, R.; Rauser, L.; Lee, S. P.; Lynch, K. R.; Roth, B. L. Discovery of a Novel Member of the Histamine Receptor Family. *Mol. Pharmacol.* **2001**, *59* (3), 427–433.

59. Liu, C.; Ma, X.-J.; Jiang, X.; Wilson, S. J.; Hofstra, C. L.; Blevitt, J.; Pyati, J.; Li, X.; Chai, W.; Carruthers, N. Cloning and Pharmacological Characterization of a Fourth Histamine Receptor (H4) Expressed in Bone Marrow. *Mol. Pharmacol.* **2001**, *59* (3), 420–426.
60. Zhu, Y.; Michalovich, D.; Wu, H.-L.; Tan, K. B.; Dytko, G. M.; Mannan, I. J.; Boyce, R.; Alston, J.; Tierney, L. A.; Li, X.; Herrity, N. C.; Vawter, L.; Sarau, H. M.; Ames, R. S.; Davenport, C. M.; Hieble, J. P.; Wilson, S.; Bergsma, D. J.; Fitzgerald, L. R. Cloning, Expression, and Pharmacological Characterization of a Novel Human Histamine Receptor. *Mol. Pharmacol.* **2001**, *59* (3), 434–441.
61. Shimamura, T.; Shiroishi, M.; Weyand, S.; Tsujimoto, H.; Winter, G.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Cherezov, V.; Liu, W.; Han, G. W. Structure of the Human Histamine H1 Receptor Complex with Doxepin. *Nature* **2011**, *475* (7354), 65–70.
62. Hill, S. J.; Young, J. M.; Marrian, D. H. Specific binding of [3H]-mepyramine to histamine H1 receptors in intestinal smooth muscle. *Nature*, **1977**, *270*, 361–363.
63. Majno, G.; Palade, G. E. Studies on Inflammation I. The Effect of Histamine and Serotonin on Vascular Permeability: An Electron Microscopic Study. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **1961**, *11* (3), 571–605.
64. Leurs, R.; Smit, M. J.; Timmerman, H. Molecular Pharmacological Aspects of Histamine Receptors. *Pharmacol. Ther.* **1995**, *66* (3), 413–463.
65. Van De Voorde, J.; Leusen, I. Role of the Endothelium in the Vasodilator Response of Rat Thoracic Aorta to Histamine. *Eur. J. Pharmacol.* **1983**, *87* (1), 113–120.
66. Hill, S. J. Distribution, Properties, and Functional Characteristics of Three Classes of Histamine Receptor. *Pharmacol. Rev.* **1990**, *42* (1), 45–83.
67. Gantz, I.; Munzert, G.; Tashiro, T.; Schäffer, M.; Wang, L.; DelValle, J.; Yamada, T. Molecular Cloning of the Human Histamine H2 Receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *178* (3), 1386–1392.
68. Hill, S. J.; Ganellin, C. R.; Timmerman, H.; Schwartz, J.-C.; Shankley, N. P.; Young, J. M.; Schunack, W.; Levi, R.; Haas, H. L. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of Histamine Receptors. *Pharmacol. Rev.* **1997**, *49* (3), 253–278.
69. Del Valle, J.; Gantz, I. Novel insights into histamine H2 receptor biology. *Am. J. Physiol.* **1997**, *273* (5), 987–996.

70. Seifert, R.; Hoer, A.; Schwaner, I.; Buschauer, A. Histamine increases cytosolic Ca²⁺ in HL-60 promyelocytes predominantly via H₂ receptors with an unique agonist/antagonist profile and induces functional differentiation. *Mol. Pharmacol.* **1992.**, *42*, 235–241.
71. Martinez-Mir, M. I.; Pollard, H.; Moreau, J.; Arrang, J. M.; Ruat, M.; Traiffort, E.; Schwartz, J. C.; Palacios, J. M. Three histamine receptors (H₁, H₂ and H₃) visualized in the brain of human and non-human primates. *Brain Res.* **1990**, *526*, 322–327.
72. Lovenberg, T. W.; Roland, B. L.; Wilson, S. J.; Jiang, X.; Pyati, J.; Huvar, A.; Jackson, M. R.; Erlander, M. G. Cloning and functional expression of the human histamine H₃ receptor. *Mol. Pharmacol.* **1999**, *55*, 1101–1107.
73. Wiedemann, P.; Bonisch, H.; Oerters, F.; Bruss, M. Structure of the human histamine H₃ receptor gene (HRH₃) and identification of naturally occurring variations. *J. Neur. Trans.* **2002**, *109*, 443–453.
74. Wijtmans, M.; Leurs, R.; de Esch, I. Histamine H₃ receptor ligands break ground in a remarkable plethora of therapeutic areas. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2007**, *16*, 967–985.
75. Leurs, R.; Bakker, R. A.; Timmerman, H.; de Esch, I. J. The Histamine H₃ Receptor: From Gene Cloning to H₃ Receptor Drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4* (2), 107–120.
76. Bongers, G.; Bakker, R. A.; Leurs, R. Molecular Aspects of the Histamine H₃ Receptor. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *73* (8), 1195–1204.
77. Berlin, M.; Boyce, C. W.; de Lera Ruiz, M. Histamine H₃ Receptor as a Drug Discovery Target. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (1), 26–53.
78. Leurs, R.; Chazot, P. L.; Shenton, F. C.; Lim, H. D.; de Esch, I. J. Molecular and Biochemical Pharmacology of the Histamine H₄ Receptor. *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *157* (1), 14–23.
79. Van Rijn, R. M.; Van Marle, A.; Chazot, P. L.; Langemeijer, E.; Qin, Y.; Shenton, F. C.; Lim, H. D.; Zuiderveld, O. P.; Sansuk, K.; Dy, M.; Smit, M. J.; Tensen, C. P.; Bakker, R. A.; Leurs, R. Cloning and characterization of dominant negative splice variants of the human histamine H₄ receptor. *Biochem. J.* **2008**, *414*, 121–131.
80. 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. The First Potent and Selective

- Non-Imidazole Human Histamine H₄ Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2003**, *46* (19), 3957–3960.
81. Thurmond, R. L.; Gelfand, E. W.; Dunford, P. J. The Role of Histamine H₁ and H₄ Receptors in Allergic Inflammation: The Search for New Antihistamines. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, *7* (1), 41–53.
82. Zampeli, E.; Tiligada, E. The role of histamine H₄ receptor in immune and inflammatory disorders. *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *157*, 24–33.
83. Schneider, E. H.; Schnell, D.; Papa, D.; Seifert, R. High constitutive activity and a G-protein-independent high-affinity state of the human histamine H₄-receptor. *Biochemistry* **2009**, *48*, 1424–1438.
84. Wifling, D.; Pfleger, C., Kaindl, J.; Paissante, I.; Kling, R. C.; Buschauer, A.; Gohlke, H.; Clark, T. Basal Histamine H₄ Receptor Activation: Agonist Mimicry by the Diphenylalanine Motif. *Chem. Eur. J.* **2019**, *25*, 14613.
85. Hofstra, C. L.; Desai, P. J.; Thurmond, R. L.; Fung-Leung, W. P. Histamine H₄ receptor mediates chemotaxis and calcium mobilization of mast cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, *305* (3), 1212–1221.
86. Nijmeijer, S.; Vischer, H. F.; Rosethorne, E. M.; Charlton, S. J.; Leurs, R. Analysis of Multiple Histamine H₄ Receptor Compound Classes Uncovers Gai Protein-and β-Arrestin2- Biased Ligands. *Mol. Pharmacol.* **2012**, *82* (6), 1174–1182.
87. Seifert, R.; Schneider, E. H.; Dove, S.; Brunskole, I.; Neumann, D.; Strasser, A.; Buschauer, A. Paradoxical Stimulatory Effects of the “standard” Histamine H₄-Receptor Antagonist JNJ7777120: The H₄ Receptor Joins the Club of 7 Transmembrane Domain Receptors Exhibiting Functional Selectivity. *Mol. Pharmacol.* **2011**, *79* (4), 631–638.
88. Ledvina, I.; Roßmeier, A.; Uhlenbruck, G., Friebel, V.; So arbeitet das Immunsystem, 1. Auflage. *Falken-Verlag GmbH, Niedernhausen* **1992**.
89. Deml, K.-F.; Beermann, S.; Neumann, D.; Strasser, A.; Seifert, R. Interactions of Histamine H₁-Receptor Agonists and Antagonists with the Human Histamine H₄-Receptor. *Mol. Pharmacol.* **2009**, *76* (5), 1019–1030.
90. Ohsawa, Y.; Hirasawa, N. The role of histamine H₁ and H₄ receptors in atopic dermatitis: from basic research to clinical study. *Allergol. Int.* **2014**, *63*, 533–542.
91. Rossbach, K.; Wendorff, S.; Sander, K.; Stark, H.; Gutzmer, R.; Werfel, T.; Kietzmann, M.; Bäumer, W. Histamine H₄ receptor antagonism reduces haptent-

- induced scratching behaviour but not inflammation. *Exp. Dermatol.* **2009**, *18*, 57–63.
92. Wang, M.; Han, J.; Domenico, J.; Shin, Y.S.; Jia, Y.; Gelfand, E. W. Combined blockade of the histamine H1 and H4 receptor suppresses peanut-induced intestinal anaphylaxis by regulating dendritic cell function. *Allergy* **2016**, *71* (11), 1561–1574.
93. Brozek, J. L.; Bousquet, J.; Baena-Cagnani, C. E.; Bonini, S.; Canonica, G. W.; Casale, T. B.; van Wijk, R. G.; Ohta, K.; Zuberbier, T.; Schünemann, H. J. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2010**, *126* (3), 466–76.
94. Durant, G. J.; Ganellin, C. R.; Parsons, M. E. Chemical Differentiation of Histamine H₁- and H₂-Receptor Agonists. *J. Med. Chem.* **1975**, *18* (9), 905–909.
95. Zingel, V.; Elz, S.; Schunack, W. Histamine Analogues, 33rd Communication: 2-Phenylhistamines with High Histamine H₁-Agonistic Activity. *Eur. J. Med. Chem.* **1990**, *25* (8), 673–680.
96. Leschke, C.; Elz, S.; Garbarg, M.; Schunack, W. Synthesis and Histamine H₁ Receptor Agonist Activity of a Series of 2-Phenylhistamines, 2-Heteroarylhistamines, and Analogs. *J. Med. Chem.* **1995**, *38* (8), 1287–1294.
97. Straßer, A.; Striegl, B.; Wittmann, H.-J.; Seifert, R. Pharmacological Profile of Histaprodifens at Four Recombinant Histamine H₁ Receptor Species Isoforms. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, *324* (1), 60–71.
98. Wittmann, H.-J.; Seifert, R.; Strasser, A. Influence of the N-Terminus and the E2-Loop onto the Binding Kinetics of the Antagonist Mepyramine and the Partial Agonist Phenoprodifen to H₁R. *Biochem. Pharmacol.* **2011**, *82* (12), 1910–1918.
99. Lim, H. D.; van Rijn, R. M.; Ling, P.; Bakker, R. A.; Thurmond, R. L.; Leurs, R. Evaluation of Histamine H₁-, H₂-, and H₃-Receptor Ligands at the Human Histamine H₄ Receptor: Identification of 4-Methylhistamine as the First Potent and Selective H₄ Receptor Agonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *314* (3), 1310–1321.
100. Rosethorne, E. M.; Charlton, S. J. Agonist-biased signaling at the histamine H₄ receptor: JNJ7777120 recruits β -arrestin without activating G proteins. *Mol. Pharmacol.* **2011**, *79*, 749–757.
101. Hattori Y.; Seifert R. Histamine and Histamine Receptors in Health and Disease. Handbook of Experimental Pharmacology, *Springer, Berlin* **2017**.

102. Igel, P., *Dissertation. Univ. Regensburg*, **2009**.
103. Edwards, I. R.; Aronson, J. K. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *The Lancet* **2000**, *356*, 1255–1259.
104. Smits, R. A.; de Esch, I. J.; Zuiderveld, O. P.; Broeker, J.; Sansuk, K.; Guaita, E.; Coruzzi, G.; Adami, M.; Haaksma, E.; Leurs, R. Discovery of quinazolines as histamine H₄ receptor inverse agonists using a scaffold hopping approach. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7855–7865.
105. Wagner, E.; Wittmann, H.-J.; Elz, S.; Strasser, A. Pharmacological profile of astemizole-derived compounds at the histamine H₁ and H₄ receptor—H₁/H₄ receptor selectivity. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2014**, *387*, 235–250.
106. Hammer, S. G.; Gobleder, S.; Naporra, F.; Wittmann, H.-J.; Elz, S.; Heinrich, M. R.; Strasser, A. 2,4-Diaminopyrimidines as dual ligands at the histamine H₁ and H₄ receptor-H₁/H₄-receptor selectivity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (2), 292–300.
107. Appl, H.; Holzhammer, T.; Dove, S.; Haen, E.; Strasser, A.; Seifert, R. Interactions of recombinant human histamine H₁R, H₂R, H₃R, and H₄R receptors with 34 antidepressants and antipsychotics. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2012**, *385*, 145–170.
108. Naporra, F.; Gobleder, S.; Wittmann, H.-J.; Spindler, J.; Bodensteiner, M.; Bernhardt, G.; Hübner, H.; Gmeiner, P.; Elz, S.; Strasser, A. Dibenzo[*b,f*][1,4]oxazepines and dibenzo[*b,e*]oxepines: Influence of the chlorine substitution pattern on the pharmacology at the H₁R, H₄R, 5-HT_{2A}R and other selected GPCRs. *Pharmacol. Res.* **2016**, *113*, 610–625.
109. Wan, J. *Dissertation. Univ. Regensburg*. **2017**.
110. Smits, R. A.; Lim, H. D.; Stegink, B.; Bakker, R. A.; de Esch, I. J.; Leurs, R. Characterization of the histamine H₄ receptor binding site. Part 1. Synthesis and pharmacological evaluation of dibenzodiazepine derivatives. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 4512–4516.
111. Gobleder, S. *Dissertation. Univ. Regensburg*. **2014**.
112. Terzioglu, N.; van Rijn, R. M.; Bakker, R. A.; de Esch, I. J. P.; Leurs, R. Synthesis and structure-activity relationships of indole and benzimidazole piperazines as histamine H₄ receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5251–5256.

113. Kiss, R.; Jójárt, B.; Schmidt, É.; Kiss, B.; Keserű, G., M. Identification of Novel Histamine H4 Ligands by Virtual Screening on Molecular Dynamics Ensembles. *Mol. Inf.* **2014**, *33*, 264–268.
114. Gallois-Bernos, A. C.; Thurmond, R. L. Alcaftadine, a new antihistamine with combined antagonist activity at histamine H1, H2, and H4 receptors. *J. Receptor Ligand Channel Res.* **2012**, *5*, 9–20.
115. Berrebi-Bertrand, I.; Billot, X.; Calmels, T.; Capet, M.; Krief, S.; Labeeuw, O.; Lecompte, J.-M.; Levoine, N.; Ligneau, X. NEW 6,11-DIHYDRO-5H-BENZO[D]IMIDAZO[1,2-A]AZEPINES DERIVATIVES AS HISTAMINE H4 RECEPTOR LIGANDS, *Pat. US 2013/0324506 A1*, **2013**.
116. Jongejan, A.; Lim, H. D.; Smits, R. A.; de Esch, I. J.; Haaksma, E.; Leurs, R. Delineation of Agonist Binding to the Human Histamine H4 Receptor Using Mutational Analysis, Homology Modeling, and ab Initio Calculations. *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, *48* (7), 1455–1463.
117. M. Kurokawa, Y. Masuda, S. Naruto, F. Sato, H. Uno, Dibenz[*b*, *e*]oxepinderivatives and pharmaceutical composition containing the same, *Pat. PCT/JP87/00392, DE3788195D1*, **1993**.
118. Naporra, F. Masterarbeit, *Univ. Regensburg, unveröffentlicht*, **2014**.
119. Spindler, J. Bachelorarbeit, *Univ. Regensburg, unveröffentlicht*, **2014**.
120. Itov, Z.; Meckler, H. A Practical Procedure for the Resolution of (+)- and (-)- Tramadol. *Org. Process Res. Dev.* **2000**, *4* (4), 291–294.
121. Schnekenburger, J. Arzneistoffsynthese, Pharmazeutische Chemie I, von H.J. Roth und A. Kleemann, (Thieme Taschenlehrbuch Pharmazie). *Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York* **1984**.
122. Pirkle, W. H.; Sikkenga, D.L.; Pavlin, M. S. Nuclear magnetic resonance determination of enantiomeric composition and absolute configuration of γ -lactones using chiral 2,2,2-trifluoro-1-(9-anthryl)ethanol. *J. Org. Chem.* **1977**, *42* (2), 384–387
123. Winter, W.; Thiel, M.; Stach, K., Schaumann, W.; Ribbentrop, A. Basic Derivatives of Dibenzoxepine, *Pat. US US000003509176A*, **1968**.
124. Bakker, R. A.; Dees, G.; Carrillo, J. J.; Booth, R. G.; López-Gimenez, J. F.; Milligan, G.; Strange, P. G.; Leurs, R. Domain Swapping in the Human Histamine H1 Receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *311* (1), 131–138.

125. Isbilir, A.; Möller, J.; Bock, A.; Zabel, U.; Annibale, P.; Lohse, M. J. Visualization of class A GPCR oligomerization by image-based fluorescence fluctuation spectroscopy. *bioRxiv* **2017**, 240903.
126. Milligan, G.; Ward, R. J.; Marsango, S. GPCR homo-oligomerization. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2019**, 57, 40–47.
127. Kagermeier, N.; Werner, K.; Keller, M.; Baumeister, P.; Bernhardt, G.; Seifert, R.; Buschauer, A. Dimeric Carbamoylguanidine-Type Histamine H₂ Receptor Ligands: A New Class of Potent and Selective Agonists. *Sel. GCPR Ligands* **2015**, 23 (14), 3957–3969.
128. Pockes, S.; Wifling, D.; Keller, M.; Buschauer; Elz, S. Highly Potent, Stable, and Selective Dimeric Hetarylpropylguanidine-Type Histamine H₂ Receptor Agonists. *ACS Omega* **2018**, 3 (3) 2865–2882.
129. Birnkammer, T.; Spickenreither, A.; Brunskole, I.; Lopuch, M.; Kagermeier, N.; Bernhardt, G.; Dove, S.; Seifert, R.; Elz, S.; Buschauer, A. The Bivalent Ligand Approach Leads to Highly Potent and Selective Acylguanidine-Type Histamine H₂ Receptor Agonists. *J. Med. Chem.* **2012**, 55 (3), 1147–1160.
130. Halazy, S.; Perez, M.; Fourier, C.; Pallard, I.; Pauwels, P. J.; Palmier, C.; John, G. W.; Valentin, J. P.; Bonnafous, R.; Martinez, J. Serotonin dimers: Application of the bivalent ligand approach to the design of new potent and selective 5-HT_{1B/1D} agonists. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 4920–4927.
131. Kuhhorn, J.; Gotz, A.; Hubner, H.; Thompson, D.; Whistler, J.; Gmeiner, P. Development of a Bivalent Dopamine D-2 Receptor Agonist. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 7911–7919.
132. Huber, D.; Hubner H.; Gmeiner, P. 1,1'-Disubstituted Ferrocenes as Molecular Hinges in Mono- and Bivalent Dopamine Receptor Ligands. *J. Med. Chem.* **2009**, 52 (21), 6860–6870.
133. Soriano, A.; Ventura, R.; Molero, A.; Hoen, R.; Casadó, V.; Cortés, A.; Fanelli, F.; Albericio, F.; Lluís, C.; Franco, R.; Royo, M. Adenosine A_{2A} receptor-antagonist/dopamine D₂ receptor-agonist bivalent ligands as pharmacological tools to detect A_{2A}-D₂ receptor heteromers. *J. Med. Chem.* **2009**, 52 (18), 5590–602.
134. McRobb, F. M.; Crosby, I. T.; Yuriev, E.; Lane, J. R.; Capuano, B. Homobivalent ligands of the atypical antipsychotic clozapine: design, synthesis, and pharmacological evaluation. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 1622–1634.

135. Valant, C.; Robert Lane, J.; Sexton, P. M.; Christopoulos, A. The best of both worlds? Bitopic orthosteric/allosteric ligands of G protein-coupled receptors. *Annu. Rev. Pharmacol.* **2012**, *52*, 153–178.
136. Decker, M.; Fulton, B. S.; Zhang, B.; Knapp, B.I., Bidlack, J. M.; Neumeyer, J. L. Univalent and Bivalent Ligands of Butorphan: Characteristics of the Linking Chain Determine the Affinity and Potency of Such Opioid Ligands. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (23), 7389–7396.
137. Zhang, B.; Tangzhi, T.; Sromek, A. W.; Scrimale, T.; Bidlack, J. M.; Neumeyer, J. L. Synthesis and binding affinity of novel mono- and bivalent morphinan ligands for κ , μ , and δ opioid receptors. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19* (9), 2808–2816.
138. Hiller, C.; Kühhorn, J.; Gmeiner, P. Class A G-Protein-Coupled Receptor (GPCR) Dimers and Bivalent Ligands. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (17), 6542–6559.
139. Portoghese, P. S.; Larson, D. L., Sayre, L. M.; Yim, C. B.; Ronsisvalle, G.; Tam, S. W.; Takemori, A. E. Opioid agonist and antagonist bivalent ligands. The relationship between spacer length and selectivity at multiple opioid receptors. *J. Med. Chem.*, **1986**, *29* (10), 1855–1861.
140. Daniels, D. J.; Lenard, N. R.; Etienne, C. L.; Law, P. Y.; Roerig, S. C., Portoghese, P. S. Opioid-induced tolerance and dependence in mice is modulated by the distance between pharmacophores in a bivalent ligand series. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2005**, *102* (52), 19208–19213.
141. Bhushan, R. G.; Sharma, S. K.; Xie, Z.; Daniels, D. J.; Portoghese, P. S. A bivalent ligand (KDN-21) reveals spinal δ and κ opioid receptors are organized as heterodimers that give rise to δ_1 and κ_2 phenotypes. selective targeting of δ - κ heterodimers. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (12) 2969-2972.
142. Daniels, D. J.; Kulkarni, A.; Xie, Z.; Bhushan, R. G.; Portoghese, P. S. A Bivalent Ligand (KDAN-18) Containing δ -Antagonist and κ -Agonist Pharmacophores Bridges δ_2 and κ_1 Opioid Receptor Phenotypes. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (6), 1713-1716.
143. Zhang, S.; Yekkirala, A.; Tang, Y.; Portoghese, P. S. A bivalent ligand (KMN-21) antagonist for μ/κ heterodimeric opioid receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19* (24), 6978-6980.
144. Sultane, P. R.; Mete, T. B.; Bhat, R. G. A convenient protocol for the deprotection of N-benzyloxycarbonyl (Cbz) and benzyl ester groups. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56* (16), 2067-2070.

145. Espinosa, J.-F.; Fernández, M.-J.; Grant, K.; Gude, L.; Rodrigo, M.-M.; Lorente, A. Synthesis, DNA intercalation and europium(III)-triggered DNA photocleavage by a bis-proflavine succinamide conjugate. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45 (21), 4017-4020.
146. Kai, K.; Fujii, H.; Ikenaka, R.; Akagawa, M.; Hayashi, H. An acyl-SAM analog as an affinity ligand for identifying quorum sensing signal synthases. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 8586-8589.
147. Ohtani, M.; Kato, T.; Hori, Y. Novel carboxylate derivatives exhibiting phospholipase A2 inhibitory activity, *Pat. EP 0 646569*, **1995**.
148. Blaess, M.; Bibak, N.; Claus, R. A.; Kohl, M.; Bonaterra, G. A.; Kinscherf, R.; Laufer, S.; Deigner, H.P. From a simple lysosomotropic aSMase inhibitor to tools for elucidating the role of lysosomes in signaling apoptosis and LPS-induced inflammation. *Eur. J. Med. Chem.*, **2018**, 153, 73-104.
149. Fouche, J. C. L. Piperazine derivatives of dibenzo[a,d]cycloheptadienes. *Pat. US3257404A*, **1963**.
150. Ohlmeyer, M., Goutham, Narla; *Preparation of phenothiazine derivatives and analogs for use as antitumor agents*, *Pat. WO 20130258882(A2)*, **2013**.
151. Wuts, P. G. M. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 5th Edition, *WileyInterscience, Hoboken* **2014**.
152. Kitbunnadaj, R.; Hoffmann, M.; Fratantoni, S. A.; Bongers, G., Bakker, R. A.; Wieland, K. el Jilali, A.; de Esch, I. J.; Menge, W. M.; Timmermann, H.; Leurs, R. New high affinity H3 receptor agonists without a basic side chain. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13 (23), 6309-23.
153. Wijtmans, M.; de Graaf, C.; de Kloe, G.; Istyastono, E. P.; Smit, J.; Lim, H.; Boonnak, R.; Nijmeijer, S.; Smits, R. A.; Jongejan, A.; Zuiderveld, O.; de Esch, I. J. P.; Leurs, R. Triazole Ligands Reveal Distinct Molecular Features That Induce Histamine H4 Receptor Affinity and Subtly Govern H₄/H₃ Subtype Selectivity. *J. Med. Chem.*, **2011**, 54 (6), 1693-1703.
154. Jadhav, G.P.; Chhabra, S. R.; Telford, G.; Hooi, D. S.; Righetti, K.; Williams, P.; Kellam, B.; Pritchard, D. I.; Fischer, P. M. Immunosuppressive but Non-LasR-Inducing Analogues of the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum-Sensing Molecule N-(3-Oxododecanoyl)-L-homoserine Lactone. *J. Med. Chem.*, **2011**, 54 (9), 3348-3359.

155. Aslanian, R. G.; Mc Cormick, K. D.; Mutahi, M. W.; Piwinski, J. J.; Rosenblum, S. B.; Shih N. Y.; Solomon, D. M.; Tom W. C.; Wolin, R. Substituted imidazoles as dual histamine H1 and H3 agonists or antagonists, *Pat. EP1318996A2*, **2003**.
156. Rajamanickam, V.; Rajasekaren, A.; Palanivelu, M.; Anandarajagopal, K; Ashik Elahi, A. L.; Umarani, N. Anti-nociceptive and anti-epileptic evaluation of N-Mannich bases of some substituted carbazoles. *Int. J. Chem. Sci.* **2008**, 6 (3), 1669–1675.
157. Pieroni, M.; Machado, D.; Azzali, E.; Santos Costa, S.; Couto, I.; Costantino, G.; Viveiros, M. Rational Design and Synthesis of Thioridazine Analogues as Enhancers of the Antituberculosis Therapy. *J. Med. Chem.* **2015**, 58 (15), 5842–5853.
158. Rhone-Poulenc, SA. Novel carbazole and their methods of preparation, *Pat. FR1167510A*, **1958**.
159. Roth, B. L.; Sheffler, D. J.; Kroeze, W. K. Magic shotguns versus magic bullets: selectively non-selective drugs for mood disorders and schizophrenia. *Nature Reviews Drug Discovery* **2004**, 3 (4), 353–359.
160. Janssens, F.E.; Diels, G. S. M.; Leenaerts, J. E. Preparation of imidazo[2,1-b][3]benzazepine derivatives as antiallergy agents, *Pat. CA2103242C*, **1992**.
161. Thurmond, R. L.; Desai, P. J.; Dunford, P. J.; Fung-Leung, W. P.; Hoftra, C. L.; Jiang, W.; Nguyen, S.; Riley, J. P.; Sun, S.; Williams, K. N.; Edwards, J. P.; Karlsson, L. A potent and selective histamine H4 receptor antagonist with anti-inflammatory properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, 309 (1), 404–413.
162. Galley, G.; Zbinden, K. G.; Norcross, R.; Stalder, H. Novel substituted 2-imidazoles as ligands for trace amine associated receptors (TAAR). *Pat. EP2101762B1*, **2008**.
163. Glunz, P.W.; Wurtz, N.; Cheng, X. Heterocyclic compounds as inhibitors of factor VIIa, *Pat. WO2006062972A2*, **2006**.
164. Gordon, E. M.; Barrish, G. S.; Sun, C.-O.; Tino, J. A.; Vite, G. D.; Zahler, R. Preparation of diphenyl-substituted amino alcohols as protease inhibitors, *Pat. US5760036A*, **1993**.
165. Baldwin, J. J.; Ponticello, G. S.; Christy, M. E. Novel substituted imidazoles, their preparation and use. *Pat. US4602093A*, **1984**.
166. Nakanishi, M., Yokobe, T.; Arai, T.; Abe, Ma.1-[2-(2-Chlorobenzoyl)-4-nitrophenyl]-2-(diethylaminomethyl)-imidazole. *Pat. US3915981A*, **1974**.

167. Zimmerman, S. C.; Cramer, K. D.; Galan, A. A. Synthesis of 2,4(5)-bis(hydroxymethyl)imidazoles and 2,4(5)-bis[(2-hydroxyethoxy)methyl]imidazoles. Precursors of 2,4(5)-connected imidazole crown ethers. *J. Org. Chem.* **1989**, *54* (6), 1256–64.
168. Vlahakis, J. Z.; Lazar, C.; Roman, G.; Vukomanovic, D.; Nakatsu, K.; Szarek, W. A. Heme Oxygenase Inhibition by α -(1H-Imidazol-1-yl)- ω -phenylalkanes: Effect of Introduction of Heteroatoms in the Alkyl Linker. *ChemMedChem* **2012**, *7* (5), 897-902.
169. Cook, A.H. Penillic acids and penillamines. Chem. of Penicillin, *Princeton Univ. Press, Princeton* **1949**, 105–143.
170. Galons, H.; Bergerat, I.; Farnoux, C. C.; Miocque, M. Synthesis of imidazo[1,2-a]pyridines from 1-(2-alkynyl)-2-(aminomethyl)imidazoles. *ChemInform* **1982**, *14* (17), 1103-1105.
171. Janssens, F.E.; Diels, G. S. M.; Leenaerts, J. E. Imidazo[2,1-b][3]benzazepine derivatives, compositions and method of use, *Pat. CA002103242A*, **1995**.
172. Mai, S.; Zhao, Y.; Song, Q. Chemoselective acylation of benzimidazoles with phenylacetic acids under different Cu catalysts to give fused five-membered N-heterocycles or tertiary amides. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 8685–8690.
173. Van der Stelt, C.; Harms, A. F.; Nauta, W. T. Effect of alkyl substitution in drugs. V. Synthesis and chemical properties of some dibenzo[a,d]-1,4-cycloheptadienyl ethers. *J. Med. Pharm. Chem.*, **1961**, *4*, 335–49.
174. Schneider, E. H.; Seifert, R. Sf9 Cells: A Versatile Model System to Investigate the Pharmacological Properties of G Protein-Coupled Receptors. *Pharmacol. Ther.* **2010**, *128* (3), 387–418.
175. Tjia, S. T.; zu Altschiltschesche, G. M.; Doerfler, W. Autographa californica nuclear polyhedrosis virus (AcNPV) DNA does not persist in mass cultures of mammalian cells. *Virology* **1983**, *125* (1) 107-117.
176. Carbonell, L. F.; Miller, L. K. Baculovirus Interaction with Nontarget Organisms: A Virus-Borne Reporter Gene Is Not Expressed in Two Mammalian Cell Lines. *Appl. Environ. Microbiol.* **1987**, *53* (7), 1412–1417.
177. Wenzel-Seifert, K.; Arthur, J. M.; Liu, H.-Y.; Seifert, R. Quantitative analysis of formyl peptide receptor coupling to $G_{i\alpha 1}$, $G_{i\alpha 2}$, and $G_{i\alpha 3}$. *J. Biol. Chem.*, **1999**, *274* (74), 33259–33266.

178. Schneider, E. H.; Seifert, R. Histamine H4 Receptor–RGS Fusion Proteins Expressed in Sf9 Insect Cells: A Sensitive and Reliable Approach for the Functional Characterization of Histamine H4 Receptor Ligands. *Biochem. Pharmacol.* **2009**, *78* (6), 607–616.
179. Houston, C.; Wenzel-Seifert, K.; Bürckstümmer, T.; Seifert, R. The human histamine H2-receptor couples more efficiently to Sf9 insect cell Gs-proteins than to insect cell Gq-proteins: limitations of Sf9 cells for the analysis of receptor/Gq-protein coupling. *J. Neurochem.* **2002**, *80*, 678–696.
180. De Jong, L. A.; Uges, D. R.; Franke, J. P.; Bischoff, R. Receptor–Ligand Binding Assays: Technologies and Applications. *J. Chromatogr. B* **2005**, *829* (1), 1–25.
181. Motulsky, H. The GraphPad Guide to Analyzing Radioligand Binding Data. *GraphPad Software Booklet; San Diego, CA, USA, 1996*.
182. Cheng, Y.; Prusoff, W. H. Relationship between the inhibition constant (K₁) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099–3108.
183. ³⁵S GTP Binding Assays, PerkinElmer., <https://www.perkinelmer.com/de/lab-products-and-services/application-support-knowledgebase/radiometric/35s-gtp-binding-assays.html> (abgerufen am 19.03.2020).
184. Lieb, S.; Littmann, T.; Plank, N.; Felixberger, J.; Tanaka, M.; Schäfer, T.; Krief, S.; Elz, S.; Friedland, K.; Bernhardt, G.; Wegener, J.; Ozawa, T.; Buschauer, A. Label-free versus conventional cellular assays: Functional investigations on the human histamine H1 receptor. *Pharmacol. Res.*, **2016**, *114*, 13-26.
185. Fang, Y.; Li, G.; Ferrie, A. M. Non-invasive optical biosensor for assaying endogenous G protein-coupled receptors in adherent cells. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2007**, *55* (3), 314-322.
186. Schröder, R.; Schmidt, J.; Blättermann, S.; Peters, L.; Janssen, N.; Grundmann, M.; Seemann, W. Kaufel, D.; Merten, N.; Drewke, C.; Gomeza, J.; Milligan, G.; Mohr, K.; Kostenis, E. Applying label-free dynamic mass redistribution technology to frame signaling of G protein-coupled receptors noninvasively in living cells. *Nat. Protoc.* **2011**, *6* (11), 1748-1760.
187. Cotton, M.; Claing, A. G protein-coupled receptors stimulation and the control of cell migration. *Cell Signal.* **2009**, *21* (7), 1045-1053.
188. Kebig, A. E. *Dissertation, Univ. Bonn, 2012*.
189. Menghin, S., *Dissertation, Univ. Berlin, 2004*.

190. Elz, S.; Kramer, K.; Pertz, H. H.; Detert, H.; ter Laak, A. M.; Kühne, R.; Schunack, W. Histaprodifens: Synthesis, Pharmacological in Vitro Evaluation, and Molecular Modeling of a New Class of Highly Active and Selective Histamine H₁-Receptor Agonists. *J. Med. Chem.* **2000**, *43* (6), 1071–1084.
191. Jenkinson, D. H.; Barnard, E. A.; Hoyer, D.; Humphrey, P. P.; Leff, P.; Shankley, N. P. International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification. IX. Recommendations on terms and symbols in quantitative pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **1995**, *47*, 255-266.
192. Arunlakshana, O.; Schild, H. O. Some quantitative uses of drug antagonists. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1959**, *14*, 48-58.
193. Seifert, R. Multiple Differences in Agonist and Antagonist Pharmacology between Human and Guinea Pig Histamine H₁-Receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, *305* (3), 1104–1115.
194. Seifert, R.; Wieland, T. G Protein-Coupled Receptors as Drug Targets: Analysis of Activation and Constitutive Activity, *Wiley-VCH, Weinheim* **2005**, Vol. 24.
195. Schnell, D.; Brunskole, I.; Ladova, K.; Schneider, E. H.; Igel, P.; Dove, S.; Buschauer, A.; Seifert, R. Expression and Functional Properties of Canine, Rat, and Murine Histamine H₄ Receptors in Sf9 Insect Cells. *Naunyn.-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2011**, *383* (5), 457–470.
196. BD BaculoGold™ Baculovirus Expression System Innovative Solutions for Proteomics. *BD Biosciences* **2003**, 03-7900030-23A1.
197. Seifert, R.; Lee, T. W.; Lam, V. T.; Kobilka, B. K. Reconstitution of β_2 -adrenoceptor-GTP-binding-protein interaction in Sf9 cells-high coupling efficiency in a β_2 -adrenoceptor-Gs α fusion protein. *Eur. J. Biochem.* **1998**, *255*, 369-382.
198. Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* **1951**, *193* (1), 265–275.
199. Kagermeier, N.; Werner, K.; Keller, M.; Baumeister, P.; Bernhardt, G.; Seifert, R.; Buschauer, A. Dimeric Carbamoylguanidine-Type Histamine H₂ Receptor Ligands: A New Class of Potent and Selective Agonists. *Sel. GPCR Ligands* **2015**, *23* (14), 3957–3969.
200. Erdmann, D., *Dissertation. Univ. Regensburg*, **2010**.
201. Ahuja, S.; Smith, S. O. Multiple switches in G protein-coupled receptor activation. *Trends Pharmacol. Sci.* **2009**, *30* (9), 494–502.

202. Lapworth, A. CXXXIV. - The form of change in organic compounds, and the function of the alpha-meta-orientating groups. *J. Chem. Soc.* **1901**, 79, 1265–1284.
203. Munch-Petersen, J. Aryloxy esters. The reactivity of the alpha-hydrogen and the carbonyl carbon toward basic reagents. *Acta Chem. Scand.* **1951**, 5, 519–528.
204. Davies, W. P., Perkin W. H. The chlorination and bromination of the toluic acids and the preparation of the phthalaldehydic acids. *J. Chem. Soc.* **1922**, 122, 2202–2215.
205. Grethe, G.; Lee, H. L.; Uskokovic, M.; Brossi, A. Syntheses in the isoquinoline series. Synthesis and chemical transformation of 2,3-dihydro-4(1H)-isoquinolones. *J. Org. Chem.* **1968**, 33 (2) 494–503.
206. Akiyama, T. T., K.; Kawai, M.; Taoda, Y.; Mikamiyama, M.; Morimoto, K.; Kageyama, C.; Tomita, K; Mikamiyama, H.; Suzuki, N. Substituted polycyclic carbamoylpyridone derivative. *Pat. WO 2010147068*, **2010**.
207. Mychajlyszyn, V.; Protiva, M. Antihistamine substances. XLVI. Derivatives of 2,3:6,7-dibenzosuberans. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1959**, 24 (12), 3955–3965.
208. Kitbunnadaj, R.; Hoffmann, M.; Fratantoni, S. A.; Bongers, G.; Bakker, R. A.; Wieland, K.; el Jilali, A.; de Esch, I. J.; Menge, W. M.; Timmerman, H.; Leurs, R. New high affinity H3 receptor agonists without a basic side chain. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13 (23), 6309–6323.
209. Gray, A. P.; Platz, R. D.; Henderson, T. R.; Chang, T. C.; Takahashi, K.; Dretchen, K. L. Approaches to protection against nerve agent poisoning. (Naphthylvinyl)pyridine derivatives as potential antidotes. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31 (4), 807-14.
210. Bonde-Larsen, A. L.; Retuerto, J. M. I.; Nieto, F. J. G.; Gil, J. J. F. Methods for the preparation of alcaftadine, *Pat. EP 2 978 765 B1*, **2014**.
211. Allerton, C. M. N.; Bull, D. J.; Bunnage, M. E.; Maguire, R. J.; Steele J. 3-(imidazolyl)-2-alkoxypropanoic acids, *Pat. US6713496*, **2003**.

Teile dieser Arbeit wurden bereits vorab in folgendem Journal veröffentlicht:

Naporra, F.; Gobleder, S.; Wittmann, H.-J.; Spindler, J.; Bodensteiner, M.; Bernhardt, G.; Hübner, H.; Gmeiner, P.; Elz, S.; Strasser A. Dibenzo[*b,f*][1,4]oxazepines and dibenzo[*b,e*]oxepines: Influence of the chlorine substitution pattern on the pharmacology at the H₁R, H₄R, 5-HT_{2A}R and other selected GPCRs. *Pharmacol. Res.* **2016**, *113*, 610–625.

Eidesstattliche Erklärung

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 Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe des Literaturzitats gekennzeichnet.

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe eines Promotionsberaters oder anderer Personen in Anspruch genommen. Niemand hat von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Regensburg, im Juni 2020

(Franziska Naporra)