

Piperidinderivate mit biologischer Aktivität

Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Daniela Ulmer

aus Aschaffenburg

Würzburg 2006

Piperidinderivate mit biologischer Aktivität

Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Daniela Ulmer

aus Aschaffenburg

Würzburg 2006

Eingereicht am
bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter
2. Gutachter
der Dissertation

1. Prüfer
2. Prüfer
3. Prüfer
des öffentlichen Promotionskolloquiums

Datum des öffentlichen Promotionskolloquiums

.....

Doktorurkunde ausgehändigt am

.....

Meiner Familie

Die vorliegende Arbeit wurde am
Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität
unter der Leitung von
Frau Professor Dr. Ulrike Holzgrabe
angefertigt, der ich für die freundliche Aufnahme in ihren Arbeitskreis,
ihre Tipps und Anregungen,
ihre Diskussionsbereitschaft und Unterstützung
sehr herzlich danken möchte.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei:

Der Firma Grünenthal GmbH, Aachen, für die Finanzierung und Bereitstellung von Sachmitteln. Besonderer Dank gilt Frau Dr. Claudia Hinze, Herrn Dr. Sven Frommann und Herrn Dr. Bernd Sundermann.

Frau PD Dr. Annette Kaiser und Herrn Dr. Michael Saefel von der Medizinischen Parasitologie, Bonn, für die Durchführung der pharmakologischen Testung an den Plasmodien.

Verena für die pharmakologische Untersuchung der Proben an den Trypanosomen und Claudi für die Hilfe am Sirius.

Ebi für die vielen hilfreichen Tipps und Tricks was das Labor angeht, die Erkenntnis, dass Wasser viel gefährlicher sein kann, als man denkt und dass Maggi mehr als nur ein Gewürz ist. Für die Zeit beim Grübeln über manchmal eigenwillige NMR-Spektren und die außeruniversitären Aktivitäten, bei denen man eine Menge über Knoblauch und Wein von ihm lernen kann.

Jürgen, Holle, Sabine und Jens für die schöne und lustige Zeit im Labor, das tolle Laborklima, ihre Unterstützung in vielen Bereichen und die kleinen Aufmunterungen, die man zwischendurch einfach braucht.

Lina für die vielen kleinen und großen Dinge, die sie täglich leistet und die den Laboralltag so viel angenehmer gestalten.

Steffi für die gute Laune, die vielen irrsinnigen Bastelaktionen und besonders dafür, dass man sich immer auf sie verlassen kann. Santa Maria...!! ☺

Bei Frau Ebner und Frau Möhler für die freundlichen und hilfreichen Auskünfte aller Art.

Bei meinen Freunden und meinen Kollegen (die ich im Einzelnen nicht nennen kann), die aber durch ihre Unterstützung bzw. das gute Arbeitsklima ihren Teil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ganz besonderer Dank geht an meine Eltern und meine Schwester, die mich in allen Lebenslagen unterstützen und die immer für mich da sind.

Andi möchte ich für seine unendliche Geduld danken, seine Hilfe bei den Korrekturen, und ganz besonders für seinen Humor, der mich immer wieder aufmuntert und alles leichter macht.

INHALTSVERZEICHNIS

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
2	<u>ORL1-REZEPTOR</u>	3
2.1	NOCICEPTIN	4
2.1.1	PHARMAKOLOGISCHE EFFEKTE	4
2.1.2	SCHMERZ	5
2.2	SYNTHETISCHE NICHTPEPTIDISCHE ORL1-LIGANDEN	7
3	<u>PROTOZOENINFEKTIONEN</u>	10
3.1	PLASMODIENINFEKTION	10
3.1.1	MALARIA	10
3.1.2	THERAPIE VON MALARIA	12
3.1.2.1	Hämpolymerase-Inhibitoren	12
3.1.2.2	Folsäure-Antagonisten	13
3.1.2.3	Artemisinin	14
3.2	TRYPANOSOMENINFEKTIONEN	14
3.2.1	SCHLAFKRANKHEIT	14
3.2.2	CHAGAS-KRANKHEIT	15
3.2.3	THERAPIE DER TRYPANOSOMENINFEKTIONEN	17
3.3	POLYAMINBIOSYNTHESE VON PROTOZOEN	18
3.4	SPERMIDINMETABOLISMUS	20
4	<u>ZIELSETZUNG</u>	23
4.1	ORL1-LIGANDEN	23
4.2	DEOXYHYPUSINHYDROXYLASE-INHIBITOREN	24
5	<u>SYNTHESE</u>	26
5.1	SYNTHESEWEGE – ÜBERSICHT	26

5.2 SYNTHESE DES 4-PIPERIDON-GRUNDGERÜSTES	28
5.2.1 2,6-DIALKYL-1-BENZYL-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (1A, 1B)	28
5.2.2 2,6-DIALKYL-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (2A-D)	29
5.2.2.1 Synthese	29
5.2.2.2 Stereochemie	29
5.2.3 2,6-DIALKYL-4-PIPERIDONE (3A-D)	33
5.2.3.1 Synthese	33
5.2.3.2 Stereochemie	34
5.2.4 SUBSTITUTION DES STICKSTOFFS (4A-C)	36
5.3 SYNTHESE DES SPIROZYKLUS	36
5.3.1 NITRILE (5A-K)	37
5.3.1.1 Synthese	37
5.3.1.2 Stereochemie	37
5.3.2 AMIDE (6G-I)	39
5.3.3 RINGSCHLUSS ZUM 1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ON (7G-I)	40
5.3.4 RINGSCHLUSS ZUM 1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8A-F, 8I,K)	42
5.3.5 SUBSTITUTION AM SPIROZYKLUS (9A-F, 9K)	43
5.4 2,6-DIARYL-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIESTER (10A-N)	47
5.5 2,6-DIARYL-4-OXO-PIPERIDIN-3-CARBONSÄUREMETHYLESTER (11A-D)	48
<u>6 PHYSIKALISCH-CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN – BESTIMMUNG VON PK_A-WERTEN</u>	<u>50</u>
<u>7 PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN</u>	<u>53</u>
7.1 IN-VITRO-UNTERSUCHUNG AN <i>TRYPANOSOMA BRUCEI BRUCEI</i>	53
7.1.1 SPIROVERBINDUNGEN	54
7.1.2 2,6-DIARYL-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIESTER	57
7.1.3 2,6-DIARYL-4-OXO-PIPERIDIN-3-CARBONSÄUREMETHYLESTER	58
7.2 UNTERSUCHUNG AN <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i>	60
7.2.1 <i>IN-VITRO</i> -UNTERSUCHUNG	60
7.2.1.1 Spiroverbindungen	61
7.2.1.2 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester	63
7.2.1.3 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester	65

7.2.2	<i>IN-VIVO</i> -TESTUNG	66
7.3	<i>IN-VITRO</i>-UNTERSUCHUNG AN HIV	67
7.3.1	<i>HIV-1 BAL</i> (LANGSAM REPLIZIEREND)	67
7.3.2	<i>HIV-1 NL4/3</i> (AGGRESSIV REPLIZIEREND)	68
8	AUSBLICK	70
9	ZUSAMMENFASSUNG	72
10	SUMMARY	76
11	EXPERIMENTELLER TEIL	80
11.1	ALLGEMEINE ANGABEN	80
11.2	SYNTHESE DER 2,6-DIALKYL-1-BENZYL-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄURE-DIMETHYLESTER (1A, 1B)	81
11.2.1	(<i>2R,6S</i>)-1-BENZYL-4-HYDROXY-2,6-DIMETHYL-1,2,3,6-TETRAHYDROPIRIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (1A)	81
11.2.2	(<i>2R,6S</i>)-1-BENZYL-4-HYDROXY-2,6-DIPROPYL-1,2,3,6-TETRAHYDROPIRIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (1B)	82
11.3	SYNTHESE DER 2,6-DIALKYL-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER-4-PIPERIDONE OHNE STICKSTOFFSUBSTITUENT (2A-2D)	83
11.3.1	(<i>2R,6S</i>)-4,4-DIHYDROXY-3,5-BIS-METHOXYCARBONYL-2,6-DIMETHYL-PIPERIDINIUMBROMID (2A)	83
11.3.2	(<i>2RS,6RS</i>)-2,6-DIETHYL-3,5-BIS-METHOXYCARBONYL-4-HYDROXY-1,2,3,6-TETRAHYDROPIRIDIN-HYDROBROMID (2B)	84
11.3.3	(<i>2RS,6RS</i>)-2,6-DIPROPYL-3,5-BIS-METHOXYCARBONYL-4-HYDROXY-1,2,3,6-TETRAHYDROPIRIDIN-HYDROBROMID (2C)	84
11.3.4	(<i>2RS,6RS</i>)-2,6-DIBUTYL-3,5-BIS-METHOXYCARBONYL-4-HYDROXY-1,2,3,6-TETRAHYDROPIRIDIN-HYDROBROMID (2D)	85
11.4	(<i>2RS,6RS</i>)-2,6-DIETHYL-4-HYDROXY-1,2,3,6-TETRAHYDRO-PYRIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (2B-BASE)	86
11.5	SYNTHESE DER 2,6-ALKYLIERTEN 4-PIPERIDONE (3A-3D)	87
11.5.1	(<i>2R,6S</i>)-2,6-DIMETHYL-4-OXO-PIPERIDINIUMCHLORID (3A)	87

11.5.2	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-/ (2 <i>RS</i> ,6 <i>RS</i>)-2,6-DIETHYL-4-OXO-PIPERIDINIUMCHLORID (3B)	88
11.5.3	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-/ (2 <i>RS</i> ,6 <i>RS</i>)-2,6-DIPROPYL-4-OXO-PIPERIDINIUMCHLORID (3C)	89
11.5.4	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-/ (2 <i>RS</i> ,6 <i>RS</i>)-2,6-DIBUTYL-4-OXO-PIPERIDINIUMCHLORID (3D)	90
11.6	SYNTHESE DER AM STICKSTOFF SUBSTITUIERTEN 2,6-DIALKYL-4-PIPERIDONE (4A-4C)	91
11.6.1	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-2,6-DIMETHYL-4-PIPERIDON (4A)	91
11.6.2	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-/ (2 <i>RS</i> ,6 <i>RS</i>)-1-BENZYL-2,6-DIETHYL-4-PIPERIDON (4B)	92
11.6.3	1-BENZYL-4-PIPERIDON (4C)	93
11.7	SYNTHESE DER NITRILVERBINDUNGEN (5A-5K)	93
11.7.1	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-2,6-DIMETHYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5A)	94
11.7.2	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-4-BENZYLAMINO-2,6-DIMETHYLPIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5B)	95
11.7.3	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-2,6-DIETHYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5C)	96
11.7.4	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-4-BENZYLAMINO-2,6-DIETHYLPIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5D)	96
11.7.5	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-4-PHENYLAMINO-2,6-DIPROPYLPIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5E)	97
11.7.6	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-2,6-DIBUTYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5F)	98
11.7.7	1-BENZYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5G)	99
11.7.8	1-BENZYL-4-BENZYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5H)	99
11.7.9	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-2,6-DIMETHYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5I)	99
11.7.10	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-2,6-DIETHYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONITRIL (5K)	100
11.8	SYNTHESE DER AMIDVERBINDUNGEN (6G-6H)	101
11.8.1	1-BENZYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONSÄUREAMID (6G)	101
11.8.2	1-BENZYL-4-BENZYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONSÄUREAMID (6H)	101
11.8.3	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-2,6-DIMETHYL-4-PHENYLAMINO-PIPERIDIN-4-CARBONSÄUREAMID (6I)	102
11.9	RINGSCHLUSS ZUM SPIROZYKLUS: METHODE I (7G-7I)	102
11.9.1	8-BENZYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ON (7G)	103
11.9.2	1,8-DIBENZYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ON (7H)	103
11.9.3	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-8-BENZYL-7,9-DIMETHYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ON (7I)	104
11.10	RINGSCHLUSS ZUM SPIROZYKLUS: METHODE II (8A-8F, 8I, 8K)	105
11.10.1	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-7,9-DIMETHYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8A)	106
11.10.2	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-7,9-DIMETHYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8B)	106
11.10.3	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-7,9-DIETHYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8C)	107
11.10.4	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-7,9-DIETHYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8D)	108
11.10.5	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-PHENYL-7,9-DIPROPYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8E)	109
11.10.6	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-7,9-DIBUTYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8F)	109
11.10.7	(2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-8-BENZYL-7,9-DIMETHYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8I)	110

11.10.8 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-8-BENZYL-7,9-DIETHYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (8K)	111
11.11 N-SUBSTITUTION DER 7,9-DIALKYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DIONE (9A-9F, 9K)	112
11.11.1 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-7,9-DIMETHYL-3,8-BIS-(4-NITROBENZYL)-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (9A)	112
11.11.2 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-3-(2-HYDROXY-ETHYL)-7,9-DIMETHYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (9B)	113
11.11.3 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-7,9-DIMETHYL-3-(4-NITRO-BENZYL)-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (9C)	114
11.11.4 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-3-BENZYL-7,9-DIETHYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (9D)	114
11.11.5 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-7,9-DIETHYL-3-PHENETHYL-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (9E)	116
11.11.6 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-7,9-DIETHYL-1-PHENYL-3-(3-PHENYL-PROPYL)-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (9F)	117
11.11.7 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-8-BENZYL-7,9-DIETHYL-3-(4-NITRO-BENZYL)-1-PHENYL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-2,4-DION (9K)	118
11.12 SYNTHESE DER 2,6-DIARYL-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIESTER (10A-10N)	119
11.12.1 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-4'-OXO-1',2',3',4',5',6'-HEXAHYDRO-[2,2';6',2'']TERPYRIDIN-3',5'-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (10C)	121
11.12.2 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-ALLYL-4-OXO-2,6-DIPHENYLPYPERIDIN-3,5-DICARBONSÄURE-DIMETHYLESTER (10F)	122
11.12.3 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-ALLYL-4-HYDROXY-2,6-BIS-(4-NITROPHENYL)-1,2,3,6-TETRAHYDRO-PYRIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (10G)	123
11.12.4 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-4-HYDROXY-2,6-BIS-(4-NITROPHENYL)-1,2,3,6-TETRAHYDRO-PYRIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (10H)	123
11.12.5 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-4-HYDROXY-2,6-BIS-(4-NITROPHENYL)-1,2,3,6-TETRAHYDRO-PYRIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIETHYLESTER (10I)	124
11.12.6 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-ALLYL-4-HYDROXY-2,6-BIS-(4-NITROPHENYL)-1,2,3,6-TETRAHYDRO-PYRIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIETHYLESTER (10K)	125
11.12.7 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-BENZYL-2,6-BIS-(3-NITROPHENYL)-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (10L)	126
11.12.8 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-(4-METHYLBENZYL)-2,6-BIS-(3-NITROPHENYL)-4-OXO-PIPERIDIN-3,5-DICARBONSÄUREDIMETHYLESTER (10M)	126

11.12.9 (2 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-1-(4-Methoxybenzyl)-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (10N)	127
11.13 Synthese der literaturbekannten Piperidin-Monocarbonsäureester (11A-11D)	128
<u>12 ANHANG</u>	<u>131</u>
<u>13 LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>134</u>
<u>14 LEBENSLAUF</u>	<u>141</u>

1 Einleitung

Klassifiziert man derzeit eingesetzte Arzneistoffe nach ihrer Molekülstruktur, so wird deutlich, dass davon eine große Anzahl den Piperidin-Derivaten zuzuordnen ist. Diese Gruppe pharmakologisch aktiver Substanzen kommt bei einer Vielzahl verschiedenster Indikationen zum Einsatz. Die nachfolgende Tabelle zeigt einige Beispiele.

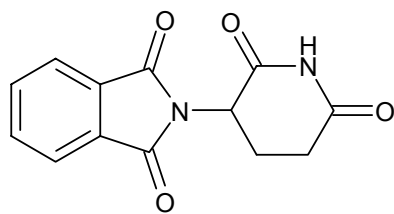
Arzneistoffklasse oder Indikation	Arzneistoff
Antihistaminika	Loratadin Astemizol
Alzheimer	Donezepil
Parkinson	Budipin
Analgetika	Pethidin
Osteoporose	Raloxifen
Bluthochdruck	Minoxidil
Antidiarrhoika	Loperamid
Narkolepsie, Aufmerksamkeitsdefizitstörung	Methylphenidat
Schlafstörungen (Lepra, Krebs)	Thalidomid
Neuroleptika	Pimozid Fluspirilen Haloperidol
⋮	⋮

Tabelle 1 Beispiele über die Einsatzmöglichkeiten diverser Arzneistoffe mit Piperidin-Teilstruktur

Der Piperidin-Heterozyklus kann somit als wichtiger, multifunktionaler Arzneistoff-Baustein angesehen werden. Aus diesem Grund wurde im Zuge dieser Arbeit ebenfalls das Piperidin-Grundgerüst für die Synthese verschiedener Derivate gewählt, die ursprünglich für zwei pharmakologisch völlig unterschiedliche Zielstrukturen geplant waren. Zum einen war beabsichtigt, arylsubstituierte Mono- und Diester-Piperidone zu synthetisieren, die auf ihre antiproliferativen Eigenschaften an Protozoen überprüft werden sollten. Zum anderen sollten

Spiropiperidinderivate für Untersuchungen am Opioid-Rezeptor ORL1 hergestellt werden. Für beide Fälle war es möglich, diverse Verbindungen zu erhalten.

Da ein Arzneistoff wegen fehlender Selektivität relativ häufig nicht nur eine einzelne gewünschte Wirkung besitzt, sondern aufgrund komplexer physiologischer Zusammenhänge auch für diverse Nebenwirkungen verantwortlich ist, ist prinzipiell nicht auszuschließen, dass neben unerwünschten auch für zusätzliche Therapiezwecke nutzbare Nebenwirkungen auftreten. Ein besonders anschauliches Beispiel bietet der Arzneistoff Thalidomid



Thalidomid

(Contergan®), der, Ende der 1950er Jahren als Sedativum eingesetzt, wegen seiner schwerwiegenden Missbildungen von Föten aus dem Handel genommen werden musste. Derzeit erfährt dieser Arzneistoff eine Renaissance. Seine zusätzlich entdeckten Wirkungen auf gänzlich anderen Gebieten, nämlich seine antiproliferativen Eigenschaften, könnten bei der Therapie von Krebs und Lepra von großem Nutzen sein.

Hierdurch wird deutlich, dass es von Vorteil ist, das pharmakologische Profil eines Arzneistoffes vollständig zu charakterisieren, um nicht nur Wissen über die Nebenwirkungen zu erhalten, sondern auch alle Möglichkeiten der Einsatzfähigkeit eines Arzneistoffes zu kennen.

Daher wurden die für den ORL1-Rezeptor konzipierten Verbindungen ebenfalls auf ihre inhibitorische Aktivität auf das Protozoenwachstum untersucht. Hier zeigte sich überraschenderweise, dass innerhalb dieser Verbindungsklasse ebenfalls aktive Moleküle existieren.

2 ORL1-Rezeptor

1994 wurde durch Klonieren ein neuer Rezeptor entdeckt. Es handelt sich um einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor, der aus sieben transmembranären Domänen besteht, die vorzugsweise an Pertussistoxin (PTX)-sensitive G-Proteine binden. Über eine Hemmung der Adenylatcyclase wird die Bildung des "second-messenger" cAMP verringert. Des Weiteren werden spannungsabhängige Calciumkanäle gehemmt und Kaliumkanäle aktiviert. Diese zellulären Prozesse haben zur Folge, dass es zu einer Hyperpolarisation der Zelle kommt. Somit wird die neuronale Aktivität verringert und die synaptische Reizübertragung gehemmt. Zudem kann die Freisetzung von Neurotransmittern wie beispielsweise Dopamin und CGRP (Calcitonin Gene-Related Peptide) beeinflusst werden. Die Aminosäuresequenz des Rezeptors stimmt zu über 60% mit den bereits bekannten Opioid-Rezeptoren μ , κ und δ überein. Insbesondere in den transmembranären Domänen liegt die Homologie bei teilweise deutlich über 70%. Diese Erkenntnisse ließen den Schluss zu, dass es sich bei diesem Rezeptortyp um einen weiteren Vertreter der Opioid-Rezeptoren handeln muss. Aus dieser Zuordnung resultierte seine spätere Bezeichnung: ORL1 (opiod-receptor-like). Da dessen Funktion vorerst nicht weiter untersucht werden konnte - bis dahin existierte noch kein selektiver Ligand - wurde er bisweilen auch als „Orphan“-Rezeptor bezeichnet. Die Entwicklung neuer Liganden für diesen Rezeptor ist von großem Interesse, weil zum einen seine physiologische Funktion noch nicht vollständig geklärt ist, und es daher zu seiner näheren Spezifizierung weiterer selektiver Agonisten und Antagonisten bedarf. Zum anderen haben die seit seiner Entdeckung erforschten pharmakologischen Ansätze großes Interesse geweckt, weil, wie im Folgenden dargestellt werden wird, das bisher bekannte pharmakologische Profil des Rezeptors ein breites Spektrum an alternativen Therapiemöglichkeiten für die verschiedensten Krankheitsbilder verspricht.^{1,2,3,4,5}

2.1 Nociceptin

Als endogener Ligand des ORL1-Rezeptors konnte 1995 Nociceptin identifiziert werden.^{6,7} Es handelt sich um ein Peptid, das aus 17 Aminosäuren besteht und in seiner Sequenz dem endogenen κ -Liganden Dynorphin A sehr ähnlich ist.

Nociceptin: FGGFTGARKSARKLANQ

Dynorphin A: YGGFLRRIRPKLKWDNQ

Abbildung 1 Aminosäuresequenz von Nociceptin und Dynorphin A

Dennoch besitzt es keine signifikante Aktivität an den übrigen Opioid-Rezeptoren. Umgekehrt haben auch die endogenen Liganden von μ , κ und δ keine hohe Affinität zum ORL1-Rezeptor. Das gleiche gilt für die meisten klassischen, synthetischen Opioid-Agonisten und Antagonisten.²

Nociceptin und der ORL1-Rezeptor sind wie die klassischen Opioidrezeptoren sowohl in vielen Bereichen des ZNS und Rückenmark als auch im peripheren Nervensystem lokalisiert.⁸

2.1.1 Pharmakologische Effekte

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, besitzt Nociceptin eine Vielzahl an pharmakologischen Effekten, die für die Entwicklung neuer Arzneistoffe von großem Interesse sind. Sein Profil unterscheidet sich deutlich von dem der klassischen Opioid-Rezeptoren. In Bezug auf die Auswirkungen auf die Schmerzregulation ist man möglicherweise durch die Entwicklung von selektiven Liganden für den ORL1-Rezeptor in der Lage, bei der Schmerztherapie die „opioide-typischen“ Nebenwirkungen wie gastrointestinale Störungen, Toleranzbildung und Abhängigkeit zu vermeiden oder zumindest zu verringern.

Das ORL1-Rezeptorsystem ist, wie Tabelle 2 zeigt, an vielen anderen physiologischen Prozessen beteiligt. Selektive Liganden können daher möglicherweise auch zur Therapie von Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Bluthochdruck, Angst und Depression, Übergewicht oder Opioidabhängigkeit in Frage kommen.^{9,10,11}

Körperfunktion	Physiologischer Effekt
Atmung	Broncholyse
Ernährung	Nahrungsaufnahme ↑
Fortbewegung	Bewegungsaktivität ↓ in niedriger Dosis ↑
Gastrointestinaltrakt	Kontraktilität ↓
Gedächtnis	Lernen und Erinnerung ↓ in niedriger Dosis ↑
Kardiovaskuläre Funktion	Bradykardie, Hypotonie
Immunsystem	Immunsuppression
Nierenfunktion	Diurese, Antinatriurese, Miktion ↓
Psyche	Anxiolyse, Depression ↓
Schmerz	↓ und ↑ (vgl. xxx)
Temperatur	Hypothermie
Sucht	Opioid- und Alkoholsucht ↓
Toleranz	Opioidtoleranz ↓

Tabelle 2 Wirkungen von Nociceptin nach¹²

2.1.2 Schmerz

Bisher wurde die Wirkung von Nociceptin auf die Schmerzregulation am häufigsten untersucht. Anders als bei den klassischen Opioidrezeptoren zeichnet sich hier allerdings kein einheitliches Bild ab. Die in Tabelle 3 dargestellten Effekte von Nociceptin auf das Schmerzempfinden sind eine Zusammenfassung der Ergebnisse aus verschiedenen pharmakologischen Untersuchungen seit Entdeckung des Rezeptorsystems. Die seither gewonnenen Erkenntnisse widersprechen sich teilweise deutlich und bislang ist man noch nicht in der Lage, eine eindeutige Aussage darüber zu treffen, ob für eine Schmerztherapie die Aktivierung oder Inaktivierung von ORL-1-Rezeptoren erforderlich ist.

Applikationsform	Effekt
supraspinal	Hyperalgesie
	Analgesie
	Hyperalgesie; dann Analgesie
	Weder Analgesie noch Hyperalgesie
	Anti-Analgesie, keine Hyperalgesie
	Hyperalgesie und Anti-Analgesie
spinal	Analgesie
	Hyperalgesie/Allodynie
	weder Analgesie noch Hyperalgesie
	Antianalgesie
	Hyperalgesie und Anti-Analgesie
	Anti-Hyperalgesie/Allodynie
peripher	Analgesie
	Hyperalgesie

Tabelle 3 Effekte von Nociceptin auf das Schmerzempfinden nach⁹

Zusammenfassend lässt sich lediglich festhalten, dass neben dem Applikationsort auch die Höhe der Dosis, das Schmerzmodell, die Konstitution der untersuchten Spezies und die Art der untersuchten Spezies selbst eine Rolle spielen.^{9,12,13}

Inzwischen konnten *Pan et al.* einen Teil der kontroversen supraspinalen Wirkungen genauer aufklären und zeigten *in vitro* und *in vivo* an Ratten, dass ORL1-Rezeptoren im Nucleus Raphe Magnus (NRM) auf zwei Neuronentypen lokalisiert sind, die beide gegensätzlich an der Schmerzantwort beteiligt sind. Zum einen befinden sie sich auf μ -sensitiven "ON"-Zellen, die Hyperalgesie vermitteln, und zum anderen auf κ -sensitiven "OFF"-Zellen, die Analgesie vermitteln. Werden nun durch Opioid-Analgetika die μ -Rezeptoren aktiviert, so wird einerseits die "ON"-Zelle und damit die Hyperalgesie gehemmt, andererseits wird die von der "ON"-Zelle ausgehende GABAerg vermittelte Hemmung der "OFF"-Zelle unterbunden und Analgesie hervorgerufen. Nociceptin kann beide Neuronentypen gleichzeitig hemmen. Im Ruhezustand der Neurone zeigt Nociceptin alleine keine eigene Wirkung. Wird jedoch eine "OFF"-Zelle durch einen μ -Agonisten aktiviert, so hemmt Nociceptin den analgetischen Effekt. Während eines Opioid-Entzugs verhält sich Nociceptin jedoch umgekehrt. In diesem Zustand

sind nur die "ON"-Zellen aktiviert. Appliziertes Nociceptin blockiert durch Inhibition dieser Zellen die hyperalgetischen Effekte. *Pan et al.* konnten somit nachweisen, wie die supraspinalen gegensätzlichen Wirkungen von Nociceptin auf zellulärer Ebene zustande kommen. Die Schmerzantwort ist in diesem Fall vom körperlichen Grundzustand der Versuchstiere abhängig.¹⁴

Dies zeigt, dass vermutlich ein komplizierter Zusammenhang zwischen ORL1-Rezeptor und den klassischen Opioid-Rezeptoren besteht und Nociceptin hierbei eine regulatorische Rolle spielt. Eventuell steht der ORL1-Rezeptor auch noch mit weiteren Rezeptorsystemen in Wechselwirkung.

2.2 Synthetische nichtpeptidische ORL1-Liganden

Durch die Entwicklung selektiver und hochaffiner Liganden wurde versucht, das pharmakologische Profil des ORL1-Rezeptorsystems genauer aufzuklären. Zunächst wurden diverse Opiate und Neuroleptika auf Aktivität am ORL1-Rezeptor getestet. Etorphin, Lofentanyl, Naloxonbenzoylhydrazon und Buprenorphin, sowie Spiroxatrin und Pimozid (vgl. Abbildung 2) zeigten Affinität zum ORL1-Rezeptor und konnten daher als Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Liganden herangezogen werden.^{15,16}

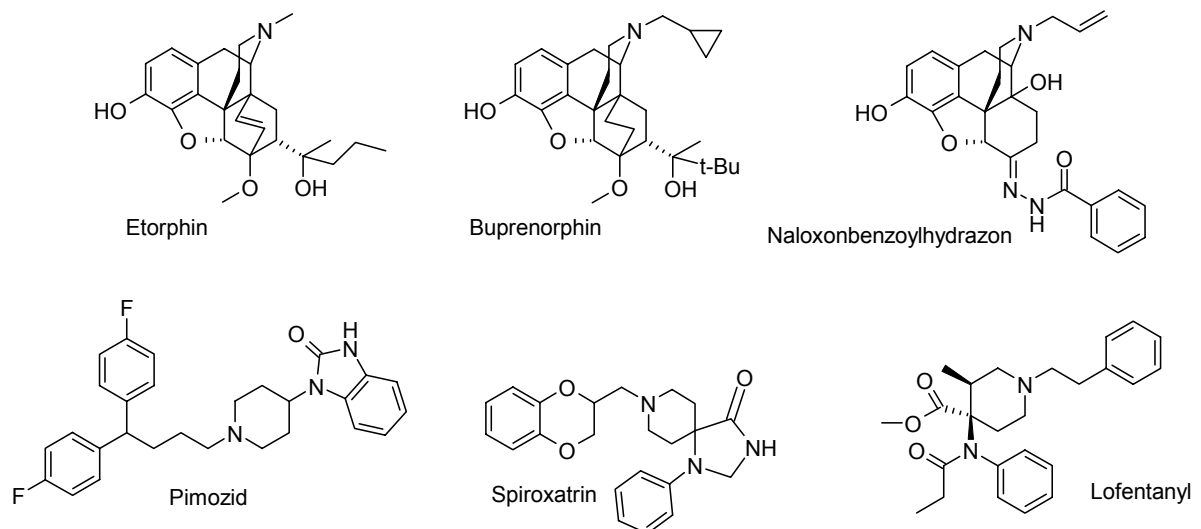


Abbildung 2 Opiate und Neuroleptika mit ORL1-Affinität¹⁵

Die nachfolgenden Abbildungen 3 und 4 zeigen Vertreter verschiedener Substanzklassen, die inzwischen als potente und selektive Agonisten und Antagonisten für den ORL1-Rezeptor

identifiziert werden konnten. Der Vergleich mit den Verbindungen aus Abbildung 2 zeigt eine deutliche strukturelle Verwandtschaft.

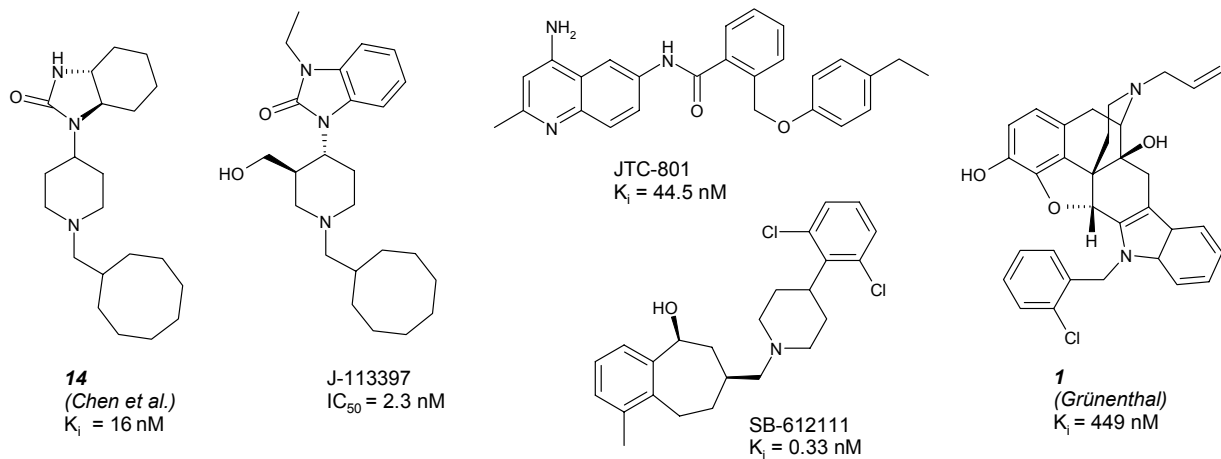


Abbildung 3 Antagonisten am ORL1-Rezeptor^{15,17,18}

Bei der Verbindung J-113397 handelt es sich um den ersten, hoch affinen ORL1-Rezeptor-Antagonisten ($IC_{50} = 2.3 \text{ nM}$), der eine mehr als 600-fache Selektivität gegenüber den übrigen Opioid-Rezeptoren aufweist.¹⁹ Diese Substanz wurde auch auf ihre pharmakologischen Eigenschaften *in vivo* untersucht. Ozaki et al. konnten durch Tail-Flick-Tests an Mäusen belegen, dass eine durch Nociceptin induzierte Hyperalgesie durch die i.c.v.-Applikation von J-113397 antagonisiert werden kann.²⁰

Die pharmakologischen Effekte von JTC-801, einem weiteren selektiven und potenten Antagonisten ($K_i = 44.5 \text{ nM}$), wurden in verschiedenen Schmerzmodellen an Mäusen und Ratten getestet. Bei i.v.- oder p.o.-Verabreichung konnte eine verringerte Empfindung von Akutschmerz nachgewiesen werden. Da durch zusätzliche Gabe von Naloxon dieser Effekt nicht aufgehoben werden kann, ist belegt, dass die antinozizeptive Wirkung allein durch die Antagonisierung des ORL1-Rezeptors, nicht aber Opioid-Rezeptor-vermittelt hervorgerufen wird.²¹ Des Weiteren konnte im Tierversuch an Ratten herausgefunden werden, dass durch JTC-801 auch neuropathische Schmerzen gemildert werden können.²²

Die Verbindung SB-612111 zeigt ebenfalls eine hohe Affinität zum ORL1-Rezeptor ($K_i = 0.33 \text{ nM}$) und Selektivität gegenüber den klassischen Opioid-Rezeptoren. Die pharmakologischen Tests an Mäusen zeigen ähnliche Ergebnisse wie die der oben beschriebenen Antagonisten.²³

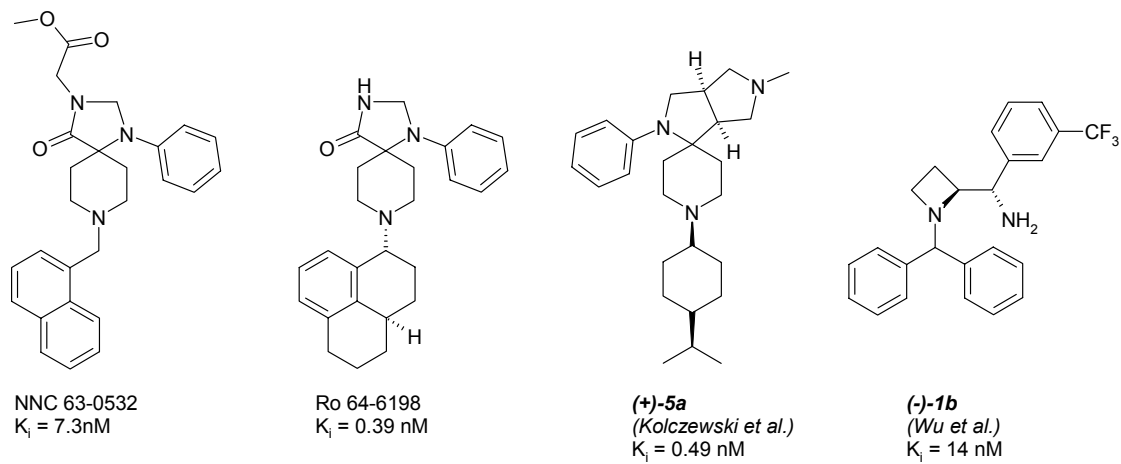


Abbildung 4 Agonisten am ORL1-Rezeptor^{15,24,25}

Ro 64-6198 besitzt nicht nur eine hohe Affinität zum ORL1-Rezeptor, sondern weist auch eine über 100-fache Selektivität gegenüber den übrigen Opioid-Rezeptoren auf. In pharmakologischen Untersuchungen an Ratten erwies sich die Substanz als Agonist. Beispielsweise konnten *Jenck et al.* zeigen, dass Ro 64-6198 dosisabhängig verschiedene Stadien von Angstzuständen beseitigen kann und bei systemischer Gabe ein vergleichbares anxiolytisches Potenzial wie die Benzodiazepine Alprazolam und Diazepam besitzt.²⁶ In Tierversuchen an Ratten konnten durch periphere oder spinale Applikation von Ro 64-6198 antinozizeptive Effekte festgestellt werden. Zwar kann die Substanz nicht die Schmerzschwelle von gesunden Tieren erhöhen, bewirkt aber an Tieren mit chronischem Nervenschmerz eine Schmerzlinderung.²⁷ *Kotlinska et al.* konnten in weiteren Untersuchungen nachweisen, dass durch i.p.-Applikation von Ro 64-6198 der analgetische Effekt von Morphin antagonisiert und Entzugssymptome von morphinabhängigen Mäusen abgemildert werden können. Die Substanz ist allerdings nicht in der Lage die Entstehung einer Morphin-Abhängigkeit zu verhindern.²⁸

3 Protozoeninfektionen

Durch Parasiten verursachte Krankheiten sind eine enorme Belastung für die Weltbevölkerung, besonders in den tropischen Gebieten. Allen voran die durch Plasmodien hervorgerufene Malaria, die mit ca. 1.2 Mio. Todesfällen pro Jahr eine erhebliche Zahl an Opfern fordert. 90 % dieser Fälle betreffen die afrikanische Bevölkerung.^{29,30} Die Resistenzbildung der Parasiten gegenüber den momentan eingesetzten Medikamenten wird immer größer, weswegen es zunehmend von Bedeutung ist, dass kostengünstige, schnellwirksame und effektive Medikamente entwickelt werden.

Ein vergleichbares Problem stellt sich bei der Behandlung von Trypanosomeninfektionen. Die Mortalität der durch sie verursachten afrikanischen Schlafkrankheit und Chagas-Erkrankung ist mit ca. 60 000 Fällen pro Jahr^{29,30} zwar nicht so groß wie bei Malaria, dennoch sind die derzeit zur Verfügung stehenden Medikamente zur Behandlung nicht ausreichend. Die Arzneistoffe sind zum Teil selbst toxisch und die Resistenzentwicklung ist hier ebenso hoch einzustufen wie bei Malaria.

Auf der Suche nach neuen Zielen für eine Pharmakotherapie ist man unter anderem auf die Polyaminbiosynthese von Protozoen gestoßen, die mehrere Angriffsmöglichkeiten bietet. Im Folgenden sollen zunächst Plasmodien- und Trypanosomeninfektionen im Allgemeinen und anschließend dieser neue Angriffspunkt näher vorgestellt werden.

3.1 Plasmodieninfektion

3.1.1 Malaria

Zu den humanpathogenen Plasmodienstämmen zählen *Plasmodium falciparum*, *vivax*, *ovale* und *malariae*, die allesamt Malaria hervorrufen, sich allerdings im Schweregrad der Erkrankung und in ihrer Verlaufsform unterscheiden. *Plasmodium falciparum* stellt den gefährlichsten Erreger dar. Die meisten aller Infektionen werden durch ihn verursacht. Er ist in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überschreiten und kann cerebrale Malaria hervorrufen, die unbehandelt oder zu spät behandelt in über 20 % der Fälle zum Tod führt.³¹

Alle Plasmodien müssen zur Vermehrung einen Wirtswechsel vornehmen. Der geschlechtliche Vermehrungsabschnitt erfolgt innerhalb der Anophelesmücke, der ungeschlechtliche innerhalb des menschlichen Zwischenwirts (Abbildung 5).

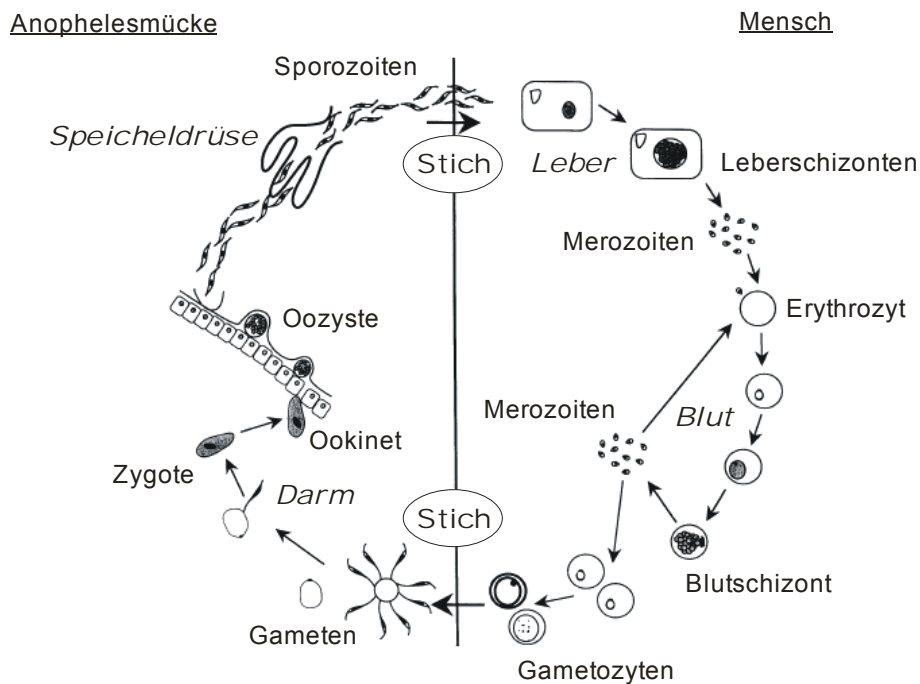


Abbildung 5 Lebenszyklus von Plasmodien nach³²

Die Erreger werden ausschließlich durch die weibliche Anophelesmücke auf den Menschen übertragen. Bei einem Stich gelangt mit dem Speichel der Mücke die sporozoite Form des Erregers in die Blutbahn. Mit dem Blut werden die Erreger zur Leber transportiert, wo sie in die Zellen eindringen und durch Teilung Merozoiten bilden (Schizogonie). Die gebildeten Leberschizonten platzen, die Merozoiten gelangen in die Blutbahn und dringen nun in die roten Blutkörperchen ein, in denen weitere Merozoiten gebildet werden. Infizierte Erythrozyten platzen nach der Reifung und setzen weitere Erreger frei, die wiederum neue Zellen infizieren. Durch die Zerstörung der roten Blutkörperchen wird Fieber hervorgerufen, das mit jedem neuen Vermehrungszyklus wiederkehrt - daher stammt die alte Bezeichnung Wechselfieber. Mit fortschreitendem Verlauf der Erkrankung kommt es zu Anämie, Organversagen, im Fall von *Plasmodium falciparum* zu cerebralen Schäden mit häufig tödlichem Ausgang.

Bei *Plasmodium vivax* und *ovale* können ein Teil der Sporozoiten in einem Ruhezustand als Hypnozoiten in der Leber persistieren. Daraus resultiert, dass bei Infektionen mit diesen Parasitenformen Rezidive auftreten können. Einige der gebildeten Merozoiten vermehren sich in den roten Blutkörperchen zu Gametozyten, der geschlechtlichen Form des Erregers. In dieser Form wird bei einem erneuten Stich des Menschen durch eine Anophelesmücke der

Erreger wieder in die Mücke übertragen. Dort im Magen angelangt, entwickeln sich die Gametozyten zu Gameten, die zu einer Zygote verschmelzen. Nach der Befruchtung entwickelt sich daraus ein Ookinet, der weiterreift zu einer Oozyste. Nach der Reifung werden ca. 1000 neu gebildete Sporozoiten freigesetzt, die zur Speicheldrüse des Insekts wandern, von wo aus sie bei einem Stich mit dem Speichel erneut in einen neuen Wirt gelangen können.³²

3.1.2 Therapie von Malaria

In Tabelle 4 sind in der Übersicht die Angriffsziele aktuell eingesetzter Arzneistoffe und Arzneistoffgruppen dargestellt. Die wichtigsten sollen im Folgenden näher vorgestellt werden.

Angriffsort	Zielstruktur	Arzneistoff
Folsäuremetabolismus	Dihydrofolatreduktase	Pyrimethamin, Proguanil
	Dihydropteroatsynthase	Sulfadoxin, Dapson
Hämpolymerisierung	Hämozoin	Chinoline
Elektronentransport	Cytochrom-c-Oxidoreduktase	Atovaquon
Proteinsynthese	Apicoplastenribosom	Tetracycline
DNA Synthese	DNA-Gyrase	Chinolone
Transkription	RNA-Polymerase	Rifampicin

Tabelle 4 Wirkorte gegenwärtig eingesetzter Therapeutika nach^{33,34}

3.1.2.1 Hämpolymerase-Inhibitoren

Während der erythrozytären Phase setzen Proteasen der Plasmodien durch proteolytische Spaltung Aminosäuren aus dem Hämoglobin der Erythrozyten frei, die für das Plasmodienwachstum essentiell sind. Während diesem Abbau wird das für die Plasmodien toxische Häm (Ferriprotoporphyrin IX) freigesetzt. Um dieses zu entgiften, greift die Hämpolymerase ein und wandelt die lösliche Form des Häms in das unlösliche, für die Plasmodien ungiftige Hämozoin (Malariapigment) um.

Für Chinin und dessen verwandte Arylalkohole (Chloroquin, Amiodaquin, Mefloquin, Halofantrin) werden zwei Mechanismen angenommen. Beschrieben wird zum einen die direkte Hemmung der parasitären Hämpolymerase, zum anderen die Bindung des Häm

durch den planaren Aromat im Arzneistoffmolekül. In beiden Fällen kommt es durch die Anreicherung des toxischen Häm zu Zellschädigungen und Lyse der Plasmodien.

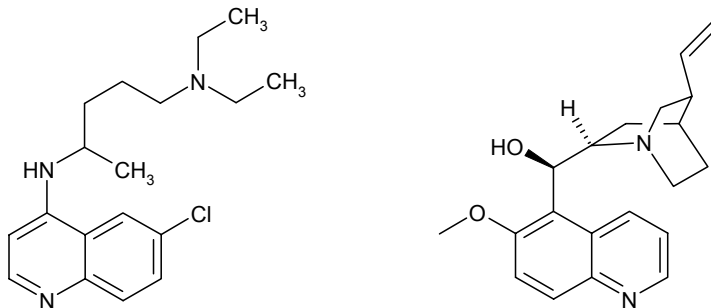


Abbildung 6 Chloroquin und Chinin

Das Problem dieser Arzneistoffklasse liegt, neben gelegentlich auftretenden und teilweise schwerwiegenden Nebenwirkungen, hauptsächlich in der schnellen Resistenzbildung der Plasmodien.^{33,34,35}

3.1.2.2 Folsäure-Antagonisten

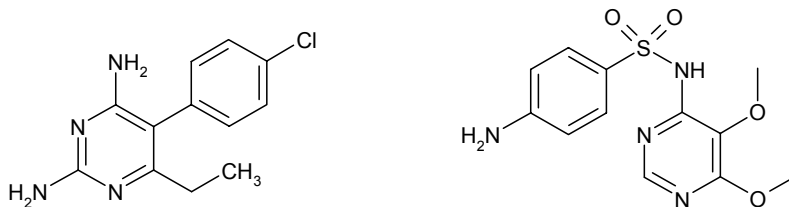


Abbildung 7 Pyrimethamin und Sulfadoxin

Mit der Kombination aus Pyrimethamin (Dihydrofolsäurereduktase-Inhibitor) und Sulfadoxin (Dihydropteroatsynthase-Inhibitor) kann synergistisch auf zwei Ebenen die Folsäuresynthese und damit die Nucleinsäuresynthese gehemmt werden.

Trotz seiner guten Wirksamkeit auf Gametozyten auch bei Chloroquinresistenz kann der Einsatz dieser Therapie nur beschränkt erfolgen, da teilweise mit schweren allergischen Nebenwirkungen zu rechnen ist (Steven-Johnson-Syndrom). Ein übermäßiger Gebrauch führt auch hier zu Resistenzbildung.^{33,34,35}

3.1.2.3 Artemisinine

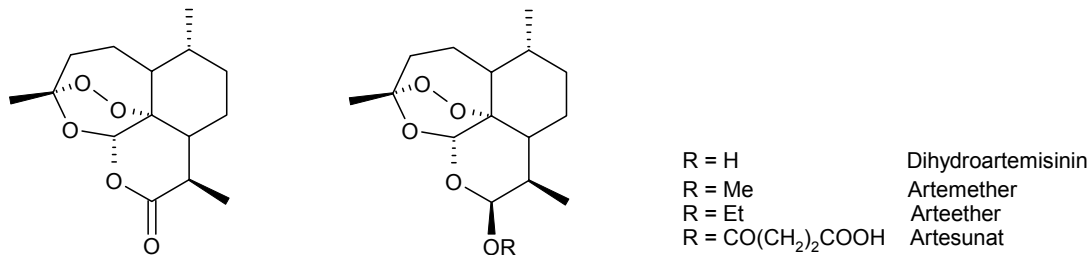


Abbildung 8 Artemisinin und dessen Derivate

Das aus *Artemisia annua* gewonnene Artemisinin und dessen synthetische Derivate wirken gametozid. Ihr gemeinsamer Hauptmetabolit ist das ebenfalls wirksame Dihydroartemisinin. Aus der Endoperoxid-Struktur der Artemisinine werden Radikale gebildet, die mit dem toxischen Häm interagieren und so dessen Abbau zu Hämzoin verhindern. Die Parasiten lysieren.

Diese Arzneistoffe sind auch bei Chloroquin-resistenten Plasmodien wirksam. Der Nachteil hier ist die kurze Halbwertszeit. Durch Kombination mit länger wirksamen Arzneistoffen wie beispielsweise Lumefantrin kann dieses Problem umgangen werden. Beide Stoffe hemmen zudem synergistisch die Nukleinsäure- und Proteinbiosynthese in *Plasmodium falciparum*.^{33,34,35}

3.2 Trypanosomeninfektionen

3.2.1 Schlafkrankheit

Trypanosoma brucei rhodesiense und *gambiense* (die Erreger der ost- bzw. westafrikanischen Schlafkrankheit) werden durch Stechfliegen der Gattung *Glossinia* (Tsetse-Fliege) übertragen. Der gesamte Lebenszyklus der Parasiten findet in Gegensatz zu den Plasmodien ausschließlich extrazellulär statt.

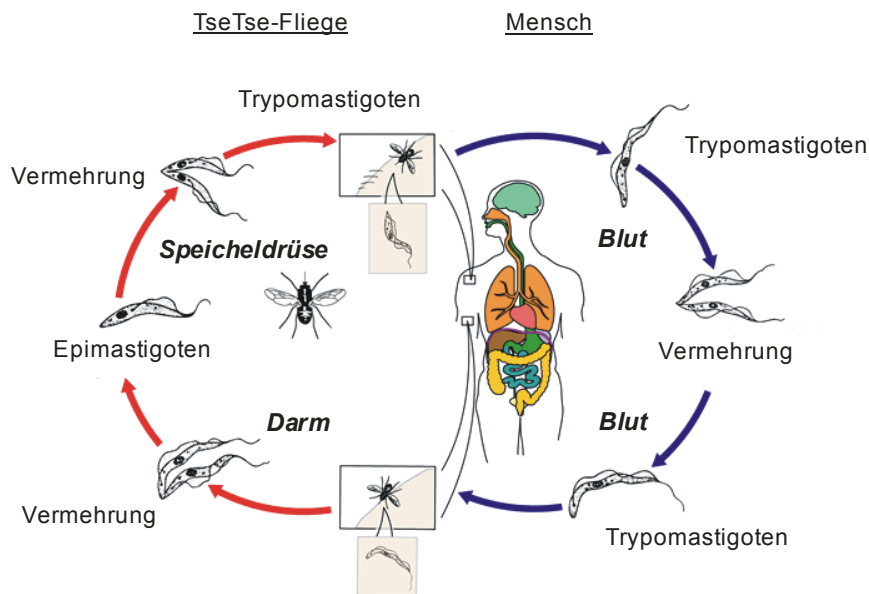


Abbildung 9 Vermehrungszyklus von *Trypanosoma brucei* nach³⁶

Während einer Blutmahlzeit wird die metacyclische Form der Trypomastigoten auf den Wirt übertragen. Über die Lymphflüssigkeit gelangen die Parasiten in den Blutkreislauf, wo sie sich durch Teilung vermehren. In diesem ersten Stadium bildet sich zunächst um die Einstichstelle eine Entzündung (Trypanosomenschanter), die Lymphknoten schwellen an, begleitet von Fieberschüben. Dringen die Erreger in das ZNS ein, so beginnt das zweite Stadium der Erkrankung mit neurologischen Symptomen, die von Koordinationsstörungen, Krämpfen und Apathie bis zum Koma reichen und schließlich den Tod bedeuten. Die Infektion der Stechfliege erfolgt über einen Stich des infizierten Wirts, bei dem die Trypomastigoten in den Darm des Insekts aufgenommen werden, wo sie sich wiederum durch Teilung vermehren. Nach dieser Phase entwickelt sich die epimastigote Form des Parasits, der in die Speicheldrüse der Fliege wandert. Nach der Teilungsphase können die Parasiten als Trypomastigoten auf einen neuen Wirt übertragen werden.³⁷

3.2.2 Chagas-Krankheit

Der Erreger der Chagas-Krankheit, die in Mittel- und Südamerika auftritt, ist *Trypanosoma cruzi* und wird hauptsächlich von Raubwanzen der Gattung *Triatoma* auf den Menschen übertragen.

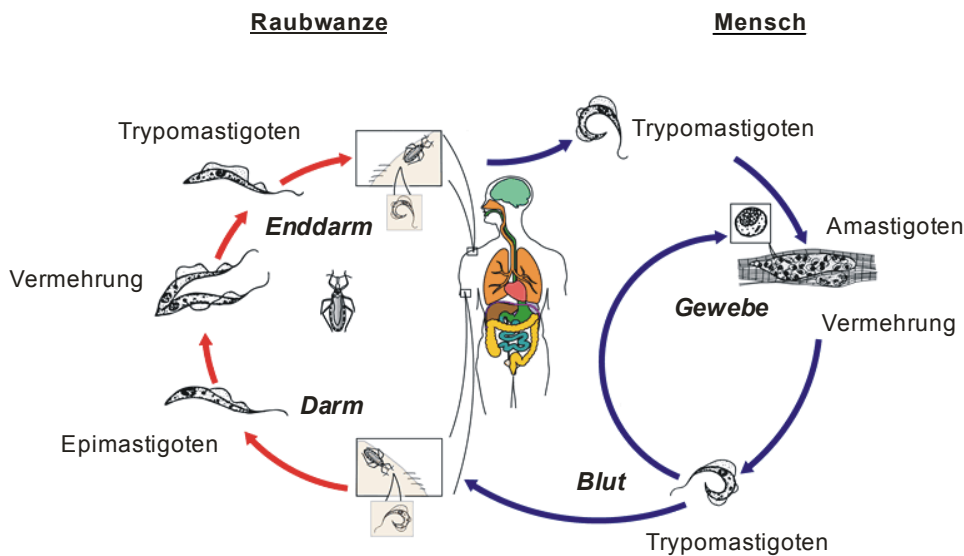


Abbildung 10 Vermehrungszyklus von *Trypanosoma cruzi* nach³⁶

Anders als bei *Trypanosoma brucei* gelangt die trypomastigote Form des Erregers nicht mit dem Speichel in den Wirt, sondern wird durch den infizierten Kot des Insekts in die Bisswunde eingebracht oder über die Augenschleimhaut übertragen. Die Vermehrung findet innerhalb des Wirts ausschließlich intrazellulär statt. Die Trypomastigoten dringen in die Zellen ein und differenzieren dort zu Amastigoten aus. Nach der Teilung bildet sich wieder die trypomastigote Form, die Zelle platzt und setzt die Parasiten frei. In diesem akuten Stadium bildet sich zunächst an der Infektionsstelle eine Schwellung, das so genannte Chagom. Ein Teil der freigesetzten Parasiten kann erneut Zellen infizieren, der Vermehrungszyklus beginnt von neuem. Dadurch manifestiert sich die Chagas-Krankheit und geht in ein zweites, chronisches Stadium über. Befallen und geschädigt werden mit Fortschreiten der Erkrankung überwiegend Nervensystem, Herzmuskel und Gastrointestinaltrakt. Daraus resultieren neurologische Ausfallerscheinungen bis hin zur Demenz, Kardiomyopathie und Mangelernährung.

Wird nun durch einen Stich infiziertes Blut von einer Raubwanze aufgenommen, so beginnt ein weiterer Vermehrungszyklus. Die Trypomastigoten werden im Darm in Epimastigoten umgewandelt, die nach einer Teilungsphase in den Enddarm des Insekts vordringen und dort als Trypomastigoten einen neuen Wirt infizieren können.³⁸

3.2.3 Therapie der Trypanosomeninfektionen

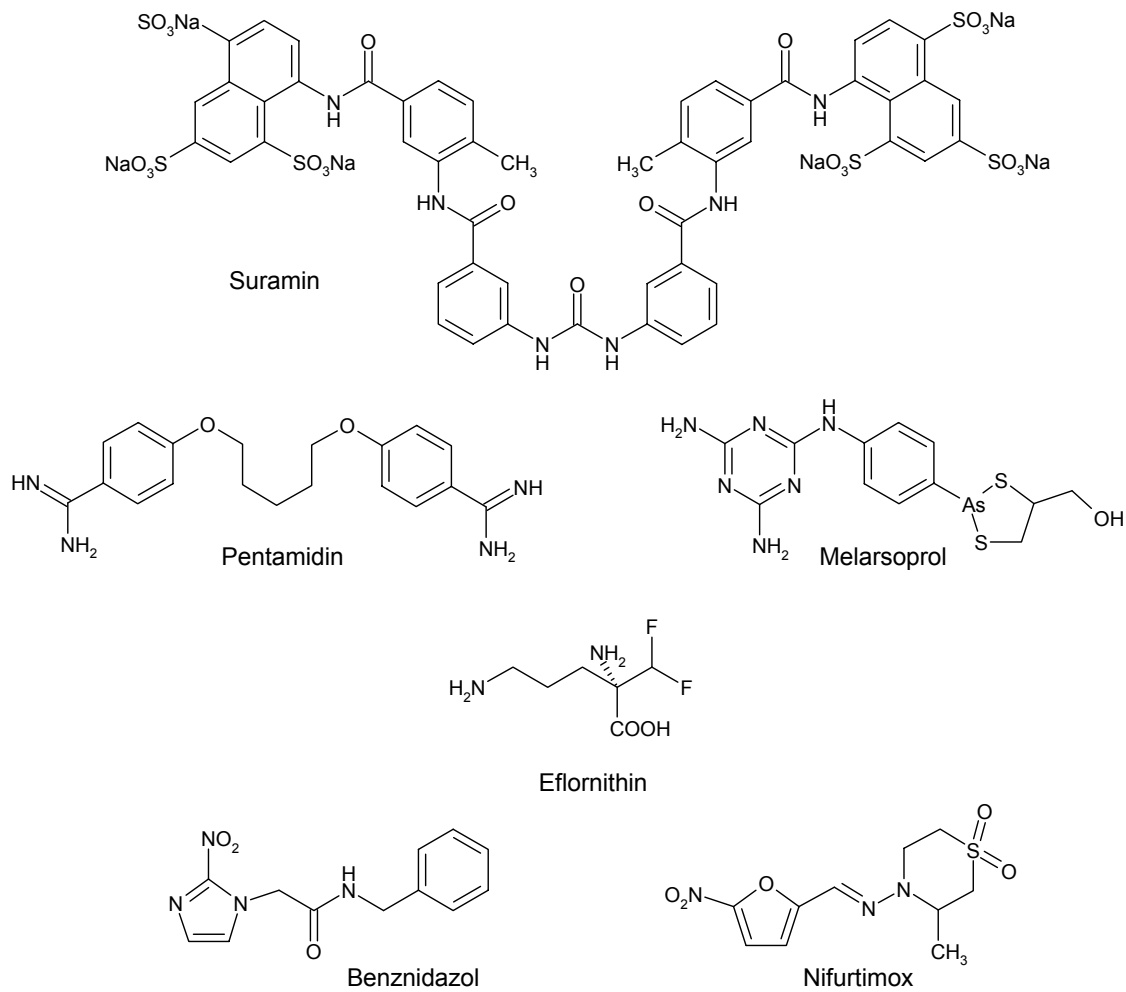


Abbildung 11 Strukturformeln trypanozid wirkender Arzneistoffe ^{39,41}

Arzneistoff	<i>T. b. gambiense</i>		<i>T. b. rhodesiense</i>		<i>T. cruzi</i>	
	Stadium I	Stadium II	Stadium I	Stadium II	Stadium I	Stadium II
Suramin	+		+			
Pentamidin	+					
Melarsoprol		+		+		
Eflornithin		+				
Nifurtimox		+			+	+
Benznidazol					+	+

Tabelle 5 Übersicht über Einsatzmöglichkeiten trypanozid wirkender Arzneistoffe ^{39,41}

Die momentan eingesetzten Therapeutika weisen Nachteile auf, durch die eine effiziente Behandlung nicht ausreichend möglich ist. Der Einsatz der Arzneistoffe ist nicht in allen Stadien der Erkrankung möglich (Tabelle 5). Suramin und Pentamidin sind nur wirksam im ersten Stadium einer *Trypanosoma-brucei*-Infektion. Melarsoprol ist zurzeit der einzige verfügbare Arzneistoff, der im fortgeschrittenen, zerebralen Stadium eingesetzt werden kann. Jedoch verursacht dieser Arzneistoff selbst derart toxische Nebenwirkungen, dass während einer Behandlung 4-12 % der Patienten an den Nebenwirkungen des Medikaments versterben.⁴⁰

Mit Eflornithin steht eine zusätzliche Alternative zumindest für die Therapie einer Infektion mit *Trypanosoma brucei gambiense* zur Verfügung. Es ist jedoch aufgrund der komplizierten Handhabung in der Anwendung nur schwer praktikabel.⁴¹

Um Resistenzbildungen zu vermeiden, werden derzeit Kombinationen der genannten Therapeutika eingesetzt, teilweise jedoch mit nur mäßigem Erfolg.⁴²

Für die Therapie von *Trypanosoma-cruzi*-Infektionen gibt es mit Benznidazol und Nifurtimox lediglich zwei Medikamente, die zwar im akuten Stadium eingesetzt ca. 60 % Heilungserfolg bieten, aber wegen der auftretenden Nebenwirkungen keine zufrieden stellende Therapie bieten.⁴³

3.3 Polyaminbiosynthese von Protozoen

Polyamine wie Spermin, Spermidin und Putrescin erfüllen bei Eukaryonten Zellfunktionen, die bei der Zelldifferenzierung, Zellproliferation und der Bildung von Makromolekülen eine essenzielle Rolle spielen. So auch in Plasmodien und Trypanosomen.⁴⁴ Damit eröffnet sich ein neuer Angriffspunkt in der Behandlung von Protozoeninfektionen, denn durch die gezielte, selektive Hemmung der beteiligten Enzyme kann das Protozoenwachstum und somit deren Vermehrung verhindert werden.⁴⁵ Abbildung 12 zeigt im Vergleich die ablaufenden Schritte der Biosynthesewege von *Trypanosoma brucei* und *Plasmodium falciparum*. Die Unterschiede sind farbig hervorgehoben.

Die Synthese von Spermidin verläuft in beiden Fällen über die gleichen Enzyme. Trypanosomen besitzen ein einzigartiges, in seiner Funktion dem humanen Glutathion vergleichbares Redoxsystem, das in der Lage ist, oxidativen Stress abzufangen und somit dessen schädliche Wirkung für den Parasiten zu neutralisieren. Das daran beteiligte Trypanothion wird aus Spermidin gebildet.

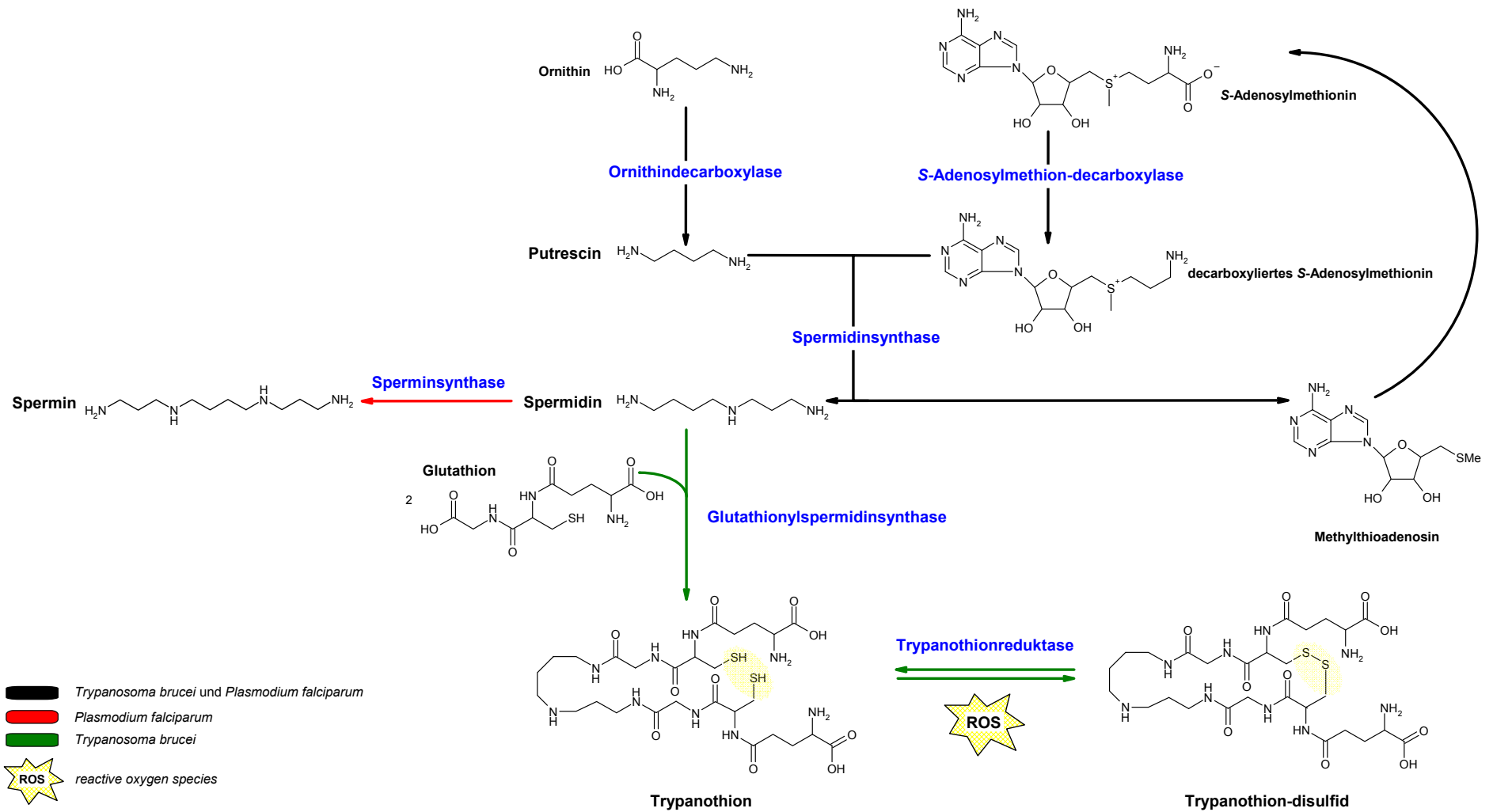


Abbildung 12 Polyaminbiosynthese in *Trypanosoma brucei* und *Plasmodium falciparum* nach⁴⁶

3.4 Spermidinmetabolismus

Spermidin erfüllt allgemein bei Eukaryonten eine weitere wichtige Funktion. Durch die Bildung der seltenen Aminosäure Hypusin ist es wesentlich an der Aktivierung des "eucaryotic initiation factors" (*eIF5A*) beteiligt. Dieser aktivierte Wachstumsfaktor spielt wie die Polyamine selbst eine maßgebliche Rolle bei der Zellteilung. Für die Aktivierung sind zwei Enzyme verantwortlich. Zunächst wird durch die Deoxyhypusinsynthase (*DHS*) NAD-vermittelt eine Aminobutyleinheit aus Spermidin auf den Lysinrest des *eIF5A*-Vorläuferproteins übertragen, wodurch an den Precursor gebundenes Deoxyhypusin entsteht. Die Deoxyhypusinhydroxylase (*DHH*) schließlich überführt das Deoxyhypusin in Hypusin und somit den Wachstumsfaktor in seine aktivierte Form (vgl. Abbildung 13).⁴⁴

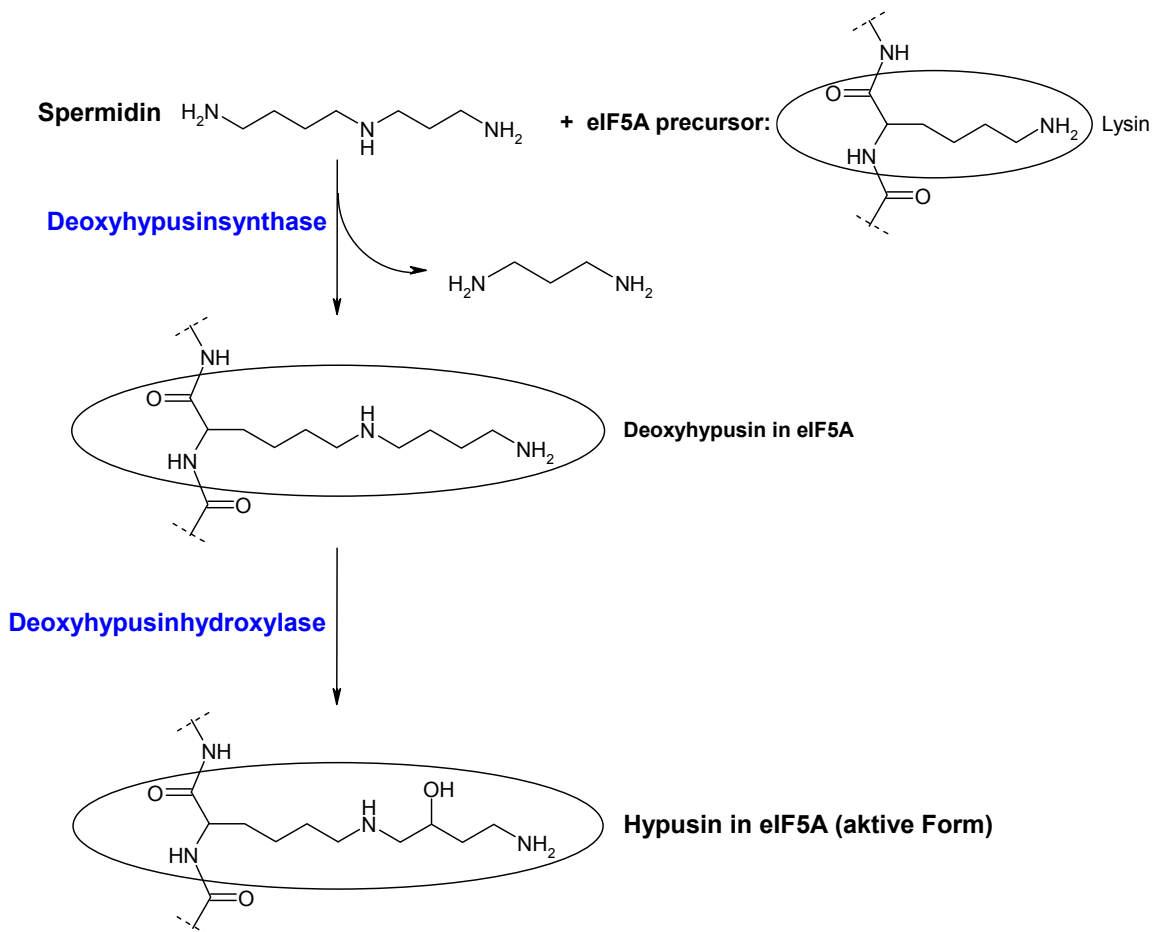


Abbildung 13 Aktivierung des *eIF5A* (eucaryotic initiation factor 5A) in Eukaryonten nach⁴⁴

Aus Testungen an *HUVEC*-Zellen (makrovaskuläre humane Nabelschnurvenen-Endothelzellen) ist bereits bekannt, dass die Pflanzenamino­säure L-Mimosin und das Fungizid Ciclopirox als Inhibitoren der Deoxyhypusinhydroxylase wirken.⁴⁷ *Csonga et al.* konnten mittlerweile durch Untersuchungen an *DHH* mit Ciclopirox, Mimosin und weiteren Metall-Komplex-Bildnern aufklären, dass die Wirkung durch die Chelatisierung des im Enzym vorliegenden Metall-Ions Fe(II)/Fe(III) verursacht wird.⁴⁸ Für 1,7-Diaminoheptan als Substrat-Analogon von Spermidin ist eine Hemmung der humanen Deoxyhypusinsynthase nachgewiesen.⁴⁹

Um deren Hemmwirkung an *Plasmodium falciparum* zu untersuchen und so indirekt das Vorhandensein der bis dahin nicht isolierten *DHS* und *DHH* zu belegen, wurden von *Kaiser et al.* Untersuchungen mit den drei genannten Substanzen durchgeführt. In allen Fällen konnte *in vitro* das Plasmodien-Wachstum verringert werden. In den *In-vivo*-Experimenten konnte allerdings nur für L-Mimosin eine Hemmwirkung festgestellt werden.^{50,51,52}

Aufgrund der viel versprechenden Ergebnisse wurde L-Mimosin als Leitstruktur für die zu synthetisierenden 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester und 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester herangezogen.

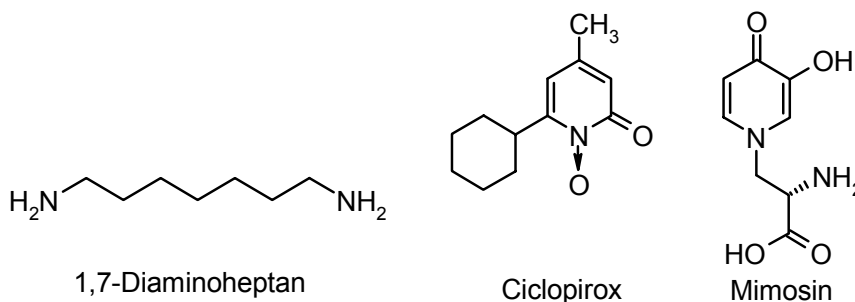


Abbildung 14 Inhibitoren von *DHH* und *DHS*

Inzwischen konnten die Aminosäuresequenzen der *DHS* aus Mensch, *Plasmodium falciparum* und *Trypanosoma brucei* isoliert und aufgeklärt werden. Durch den Abgleich der Sequenzen wurde ermittelt, dass diese zwar hochkonserviert in den Bindungsstellen für NAD und Spermidin vorliegen, sich aber signifikant in der Homologie unterscheiden.^{53,54} Für *Plasmodium falciparum* und *Plasmodium vivax* konnten außerdem die Aminosäuresequenzen der *eIF5A* entschlüsselt werden. In einem Vergleich mit dem humanen *eIF5A* zeigen sich auch hier signifikante Unterschiede.⁵³

Diese Ergebnisse bestätigen die Annahme, dass es sich bei diesem Metabolismus um ein interessantes Ziel für eine neue Arzneistofftherapie bei Trypanosomen- und Plasmodieninfektionen handelt.

Aus der Hemmung der *DHH* oder *DHS* ergibt sich noch ein weiterer, interessanter Therapieaspekt. Auch HI-Viren, die die Autoimmunschwäche AIDS verursachen, benötigen *eIF5A*, und zwar als Cofaktor für das HIV-1-Protein *Rev*, das wesentlich an der Replikation der Viren beteiligt ist. Im Unterschied zu den vorgestellten Protozoen können die Viren diesen Faktor jedoch nicht selbst herstellen, dieser muss aus der Wirtszelle bezogen werden. Kann durch Inhibition von *DHH* oder *DHS* auf Seiten des Wirts eine Ausdünnung des *eIF5A* stattfinden, so wird die Multiplikationsrate der Viren verringert. Hier konnten *Andrus et al.* inzwischen zeigen, dass auch hier eine Hemmung der Virenreplikation durch den *DHH*-Inhibitor L-Mimosin möglich ist. L-Mimosin besitzt demnach nicht nur antiprotozoische, sondern auch antiretrovirale Eigenschaften.^{55,56}

4 Zielsetzung

4.1 ORL1-Liganden

Die Struktur der geplanten Verbindungen basiert auf dem ORL1-Agonisten Ro 64-6198 (Abbildung 15), der eine hohe Affinität zum Rezeptor und Selektivität gegenüber den klassischen Opioid-Rezeptoren aufweist.

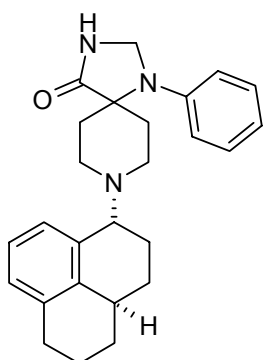


Abbildung 15 Leitstruktur Ro 64-6198

Auf der Basis der genannten Leitstruktur wurden bereits zahlreiche Verbindungen synthetisiert und auf ihre Aktivität getestet, dennoch bestehen hier noch einige Variationsmöglichkeiten.^{57,58,59,62} So sollte hauptsächlich als Neuerung das Piperidongrundgerüst durch die Einführung von unverzweigten Alkylseitenketten in Position 7 und 9 verändert werden, da bislang ausschließlich Spiroverbindungen diesen Typs bekannt sind, deren Piperidongrundgerüst unsubstituiert vorliegt. Weitere Variationsmöglichkeiten bestehen an Position 1, 3 und 8 durch Substitution des jeweiligen Stickstoffs mit verschiedenen aromatischen Resten oder Alkoholfunktionen. Die in der Leitverbindung vorliegende Methylenbrücke an Position 2 sollte durch eine Carbonylfunktion ersetzt werden. Abbildung 16 zeigt die geplanten Variationen.

Durch Kombination der verschiedenen Möglichkeiten sollte versucht werden, eine größere Anzahl neuer Verbindungen herzustellen, um anschließend durch die pharmakologische Untersuchung zu ermitteln, ob es möglich ist, die Affinität und Selektivität zum ORL1-Rezeptor zu erhöhen und wenn ja, welches Substitutionsmuster sich als das Günstigste erweist.

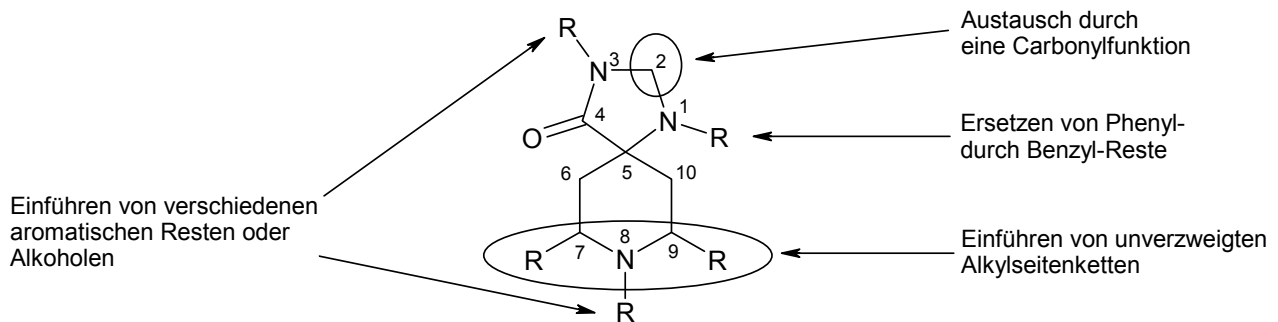


Abbildung 16 Strukturvariationen an der Leitverbindung Ro 64-6198

Da von der Firma Grünenthal GmbH (Aachen, Deutschland) die Testung am ORL1-Rezeptor aus patentrechtlichen Gründen während der Erstellung dieser Arbeit nicht durchgeführt werden durfte, kann im Folgenden leider keine Aussage über eine Aktivität der Substanzen an diesem Opioid-Rezeptor getroffen werden.

4.2 Deoxyhypusinhydroxylase-Inhibitoren

Aufgrund eines Teilprojektes sollten weitere Verbindungen synthetisiert werden, um deren antiprotozoische Eigenschaften an Trypanosomen und Plasmodien zu untersuchen. Bei den hierfür entwickelten Verbindungen handelt es sich ebenfalls um Piperidinabkömmlinge. Die Pflanzen-Aminosäure L-Mimosin stellt die zugrunde gelegte Leitverbindung dar, da sie in den bereits erwähnten Untersuchungen eine gute *In-vitro*- und *In-vivo*-Aktivität gezeigt hatte.

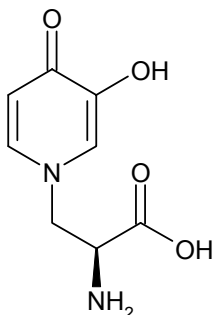


Abbildung 17 Strukturformel der Leitstruktur L-Mimosin

Als geplante Verbindungen sollten gesättigte Derivate des L-Mimosins hergestellt werden. Insbesondere sollten an Position 2 und 6 verschiedene aromatische Reste eingeführt werden und deren Einfluss auf die Aktivität an Protozoen untersucht werden. Die geplanten Strukturveränderungen sind in Abbildung 18 zusammengefasst. Da aus Voruntersuchungen bekannt ist, dass der Substituent am Piperidinstickstoff nur wenig Einfluss auf die Aktivität ausübt, sollten an dieser Stelle des Moleküls Substituenten eingeführt werden, die die Wasserlöslichkeit und damit die Bioverfügbarkeit verbessern.

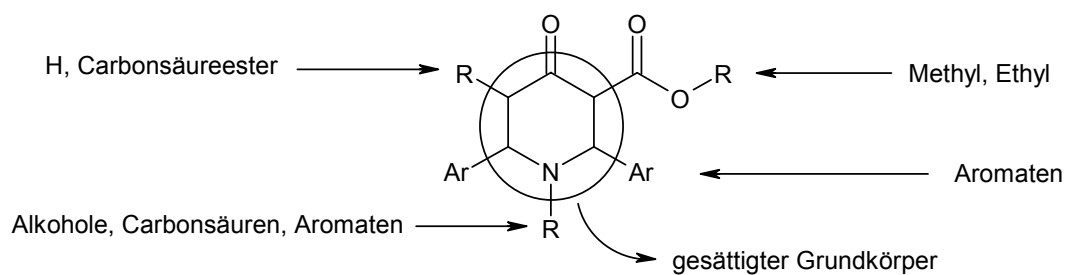


Abbildung 18 Strukturvariationen abgeleitet von der Leitverbindung L-Mimosin

5 Synthese

5.1 Synthesewege – Übersicht

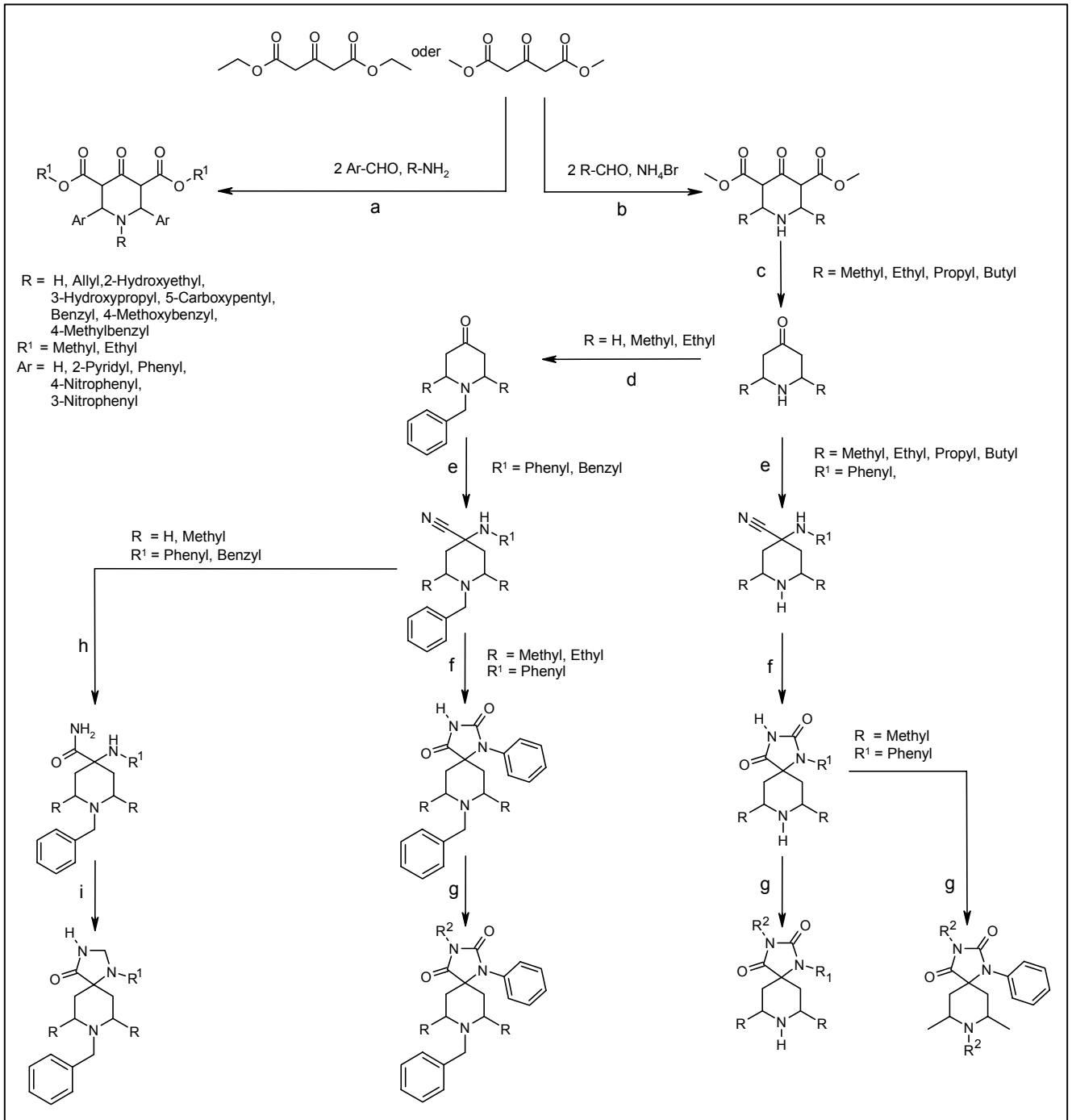


Abbildung 19 Syntheschema

Legende zu Abbildung 19:

- a) MeOH, EtOH, MeOH/H₂O oder THF; 0 - 25 °C
- b) MeOH/H₂O; 25 °C
- c) 37 % HCl; 70 °C
- d) R-Br, K₂CO₃, Acetonitril; 60 °C
- e) HAc glac., TMSCN; 25 °C
- f) 1. Chlorsulfonylisocyanat, CHCl₃ abs.; 25 °C
2. 1 M HCl; Reflux
- g) R²-Br, K₂CO₃, Acetonitril; 60 °C
- h) 1. H₂SO₄ conc.; 25 °C
2. NH₃ conc.; 0 °C
- i) Formamid; 200 °C

5.2 Synthese des 4-Piperidon-Grundgerütes

5.2.1 2,6-Dialkyl-1-benzyl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1a, 1b)

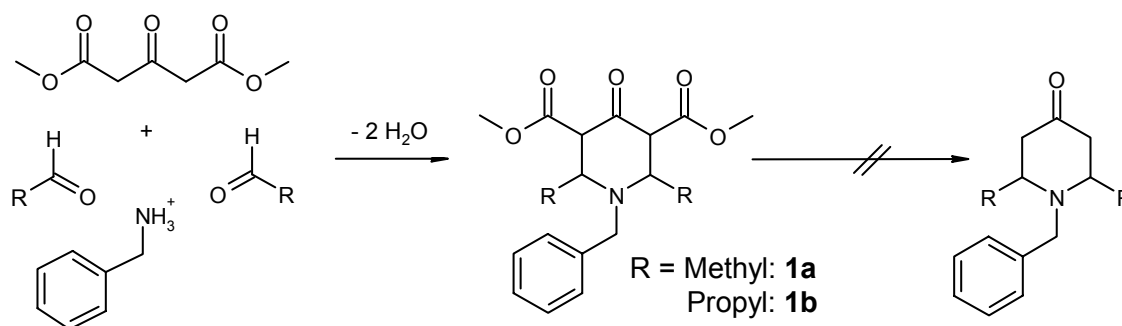


Abbildung 20 Synthese *N*-substituierter Piperidone

Das 4-Piperidon-Grundgerüst sollte im Sinne einer Mannichreaktion aufgebaut werden. Im ersten Schritt kann durch die Kondensation von einem Äquivalent Acetondicarbonsäuredimethylester als CH-acide Verbindung mit einem Äquivalent des entsprechenden primären Ammoniumsalzes und zwei Äquivalenten des Aldehyds das Grundgerüst synthetisiert werden. In einem zweiten Schritt gelangt man durch Esterspaltung und Decarboxylierung zu den geplanten *N*-substituierten Piperidonverbindungen. Auf diese Weise wurden zunächst die Verbindungen **1a** und **1b** synthetisiert (vgl. Experimentaltteil). Die Esterspaltung mit gleichzeitiger Decarboxylierung stellten jedoch ein Problem dar, da es durch die üblicherweise anzuwendenden Verfahren, wie Einsatz verschiedener Säuren bei unterschiedlichen Temperaturbedingungen, nicht möglich war, das gewünschte Produkt zu isolieren. Stattdessen konnte neben polymeren Produkten lediglich die Aminkomponente des ersten Syntheseschrittes isoliert werden, was mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Retro-Mannich-Reaktion zurückzuführen ist.

Es ist anzunehmen, dass vor allem der Stickstoffsubstituent die Stabilität des Piperidons beeinträchtigt und es daher nicht möglich ist, eine Decarboxylierung durchzuführen ohne das Grundgerüst zu zerstören.

5.2.2 2,6-Dialkyl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (2a-d)

5.2.2.1 Synthese

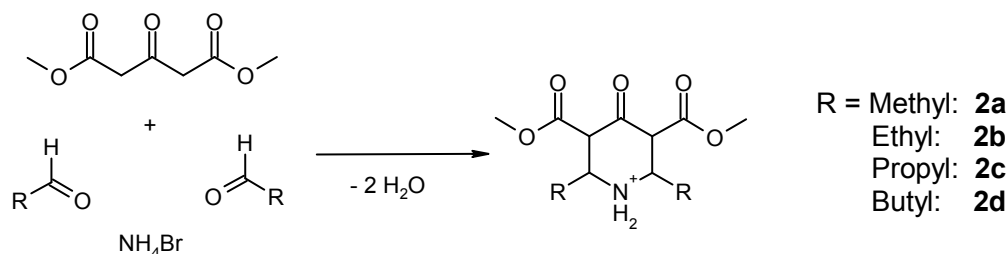


Abbildung 21 Synthese *N*-unsubstituierter Piperidone

Um die Zersetzung des Piperidons bei der Esterspaltung und Decarboxylierung zu vermeiden, wurden *N*-unsubstituierte Piperidone synthetisiert. In Anlehnung an *Mannich* wurden aus Acetondicarbonsäuredimethylester, Ammoniumbromid und Aldehyd im Verhältnis 1:1:2 die Verbindungen **2a**, **2b**, **2c** und **2d** synthetisiert. Bei den hierbei verwendeten Aldehyden handelt es sich um aliphatische, nichtverzweigte Aldehyde. Um hohe Ausbeuten zu erzielen ist es von großer Wichtigkeit, frisch destillierte Aldehyde einzusetzen und dem Ansatz nach der im Experimentaltteil beschriebenen Reaktionsdauer ein zusätzliches Äquivalent Aldehyd zuzusetzen (vgl. 11.3). Das verwendete Methanol-Wasser-Gemisch (1:1) stellte sich im Vergleich zu den reinen Lösungsmitteln als am besten geeignet für diese Reaktion heraus.

5.2.2.2 Stereochemie

Verbindung **2a** stellt in der Synthese der Piperidone eine Ausnahme dar. Hier bildet sich nicht wie bei den Verbindungen **2b**, **2c** und **2d** die Carbonylverbindung bzw. dessen Enol. Vielmehr entsteht durch säurekatalysierte nucleophile Addition von einem Äquivalent Wasser dessen Hydrat.

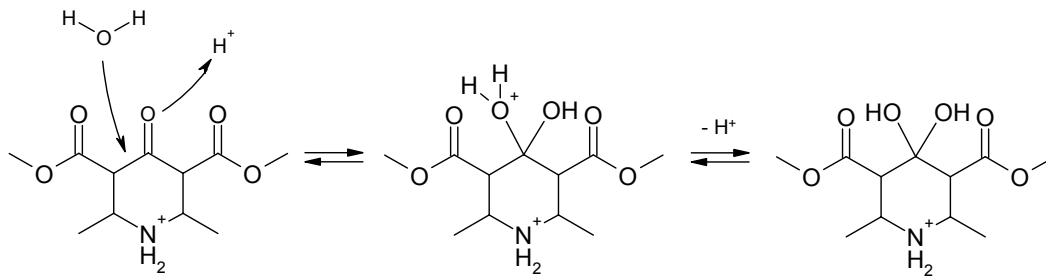


Abbildung 22 Mechanismus der Hydratbildung von 2a

Die Stereochemie dieser Verbindung ist eindeutig. Der halbe Signalsatz im ^{13}C -NMR-Spektrum deutet auf eine symmetrische Verbindung hin (vgl. Abbildung 23). Es handelt sich hier also um eine *cis*-Konfiguration der Methylreste. Die Kopplungskonstante für H3 und H5 stellt mit 11.6 Hz eine *axial-axial*-Kopplung dar. Die Methyl-Substituenten in Position 2 und 6 am Piperidin-Ring liegen demnach *äquatorial* vor.

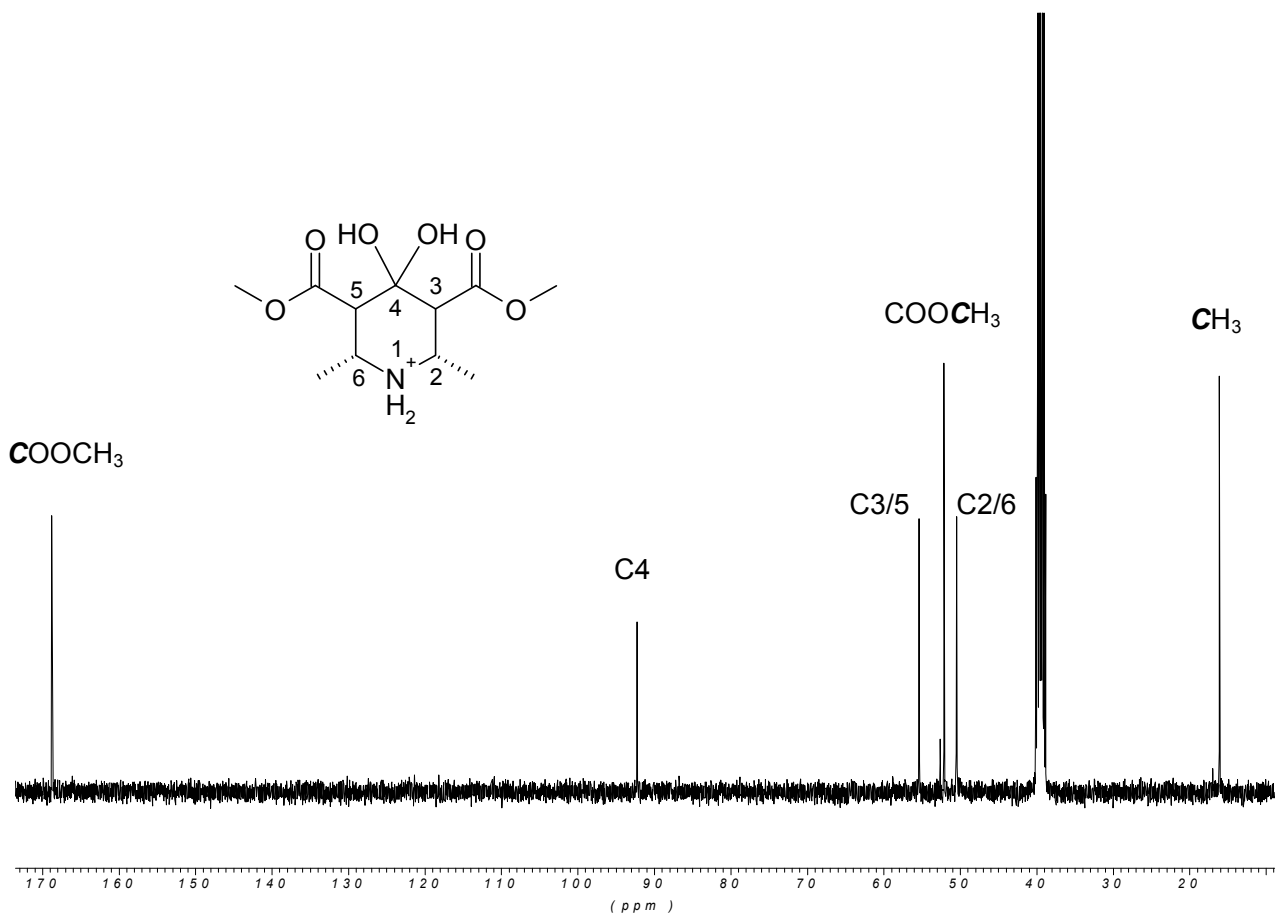


Abbildung 23 ^{13}C -NMR-Spektrum von Verbindung 2a

Alle Substanzen, die in Position 2 und 6 mit Ethyl-, Propyl- oder Butyl-Resten substituiert sind, wurden ausschließlich in der Enol-Form isoliert. Ob die Alkyl-Seitenketten *cis*- oder *trans*-konfiguriert sind, lässt sich aus den spektroskopischen Daten nicht eindeutig belegen. Dieses Problem stellt sich bei allen drei genannten Verbindungen und soll exemplarisch am Beispiel von **2b** näher besprochen werden.

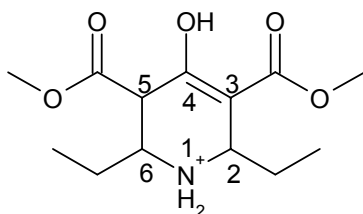


Abbildung 24 Strukturformel von Verbindung **2b**

Da das Molekül im Piperidin-Ring durch die Enol-Form eine Doppelbindung besitzt, ist die Struktur unsymmetrisch. Somit ergeben alle Kohlenstoffe ein separates Signal im ^{13}C -NMR-Spektrum, unabhängig davon, ob eine *cis*- oder *trans*-Konfiguration vorliegt. Aus dem ^1H -NMR-Spektrum erhält man durch die Ermittlung der Kopplungskonstante 3.5 Hz von H5 mit H6 lediglich einen Hinweis darauf, dass der Alkylrest in Position 6 eine axiale Position eingenommen hat. Die Frage, ob der Ethylrest an Position 2 äquatorial oder axial vorliegt, lässt sich nicht ohne weiteres beantworten. Zwar ist eine ebenfalls axiale Stellung unwahrscheinlich, da eine Ethylgruppe einen relativ großen Raum einnimmt und eine *cis*-Konfiguration bedeuten würde, dass zwei raumfüllende Substituenten in *gauche*-Wechselwirkung treten. Diese Möglichkeit lässt sich mit den soweit vorliegenden Daten jedoch nicht vollkommen ausschließen. Deshalb wurde diese Verbindung weiter untersucht, um die tatsächliche Konfiguration zu bestimmen.

Zu diesem Zweck wurde durch Ausschütteln mit gesättigter Natriumcarbonat-Lösung und Dichlormethan die Base von Verbindung **2b** isoliert. Aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum (Abbildung 25) ist ersichtlich, dass neben der Keto-Form ebenfalls die Enol-Form vorliegt. Die Signale für die insgesamt sieben quartären Kohlenstoffe (vier Signale für die Enol-Form und drei für die Keto-Form) im Bereich von 100 bis 200 ppm sprechen eindeutig für die *trans*-Konfiguration, da beide Signalsätze ein unsymmetrisches Molekül beschreiben und dies nur bei einer *trans*-Substitution des Piperidinrings möglich ist.

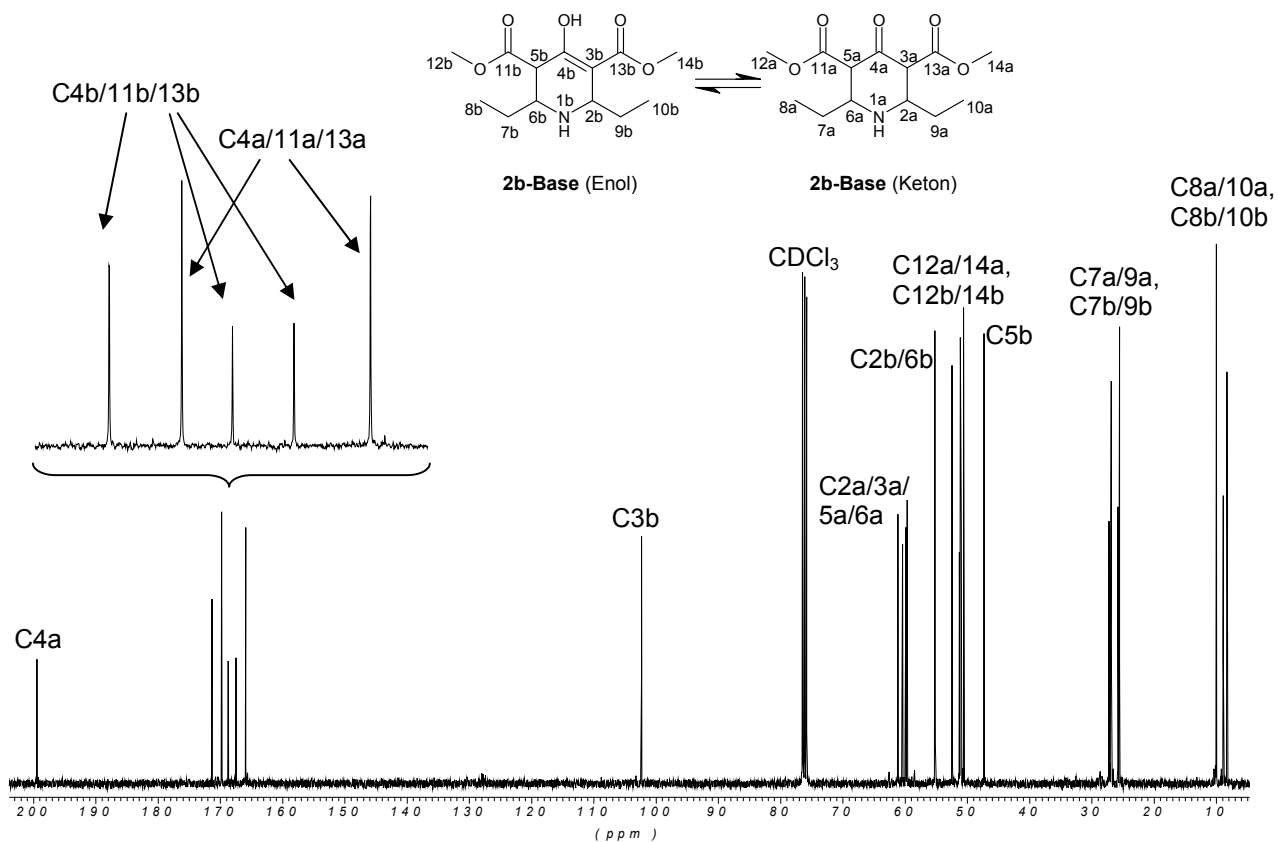
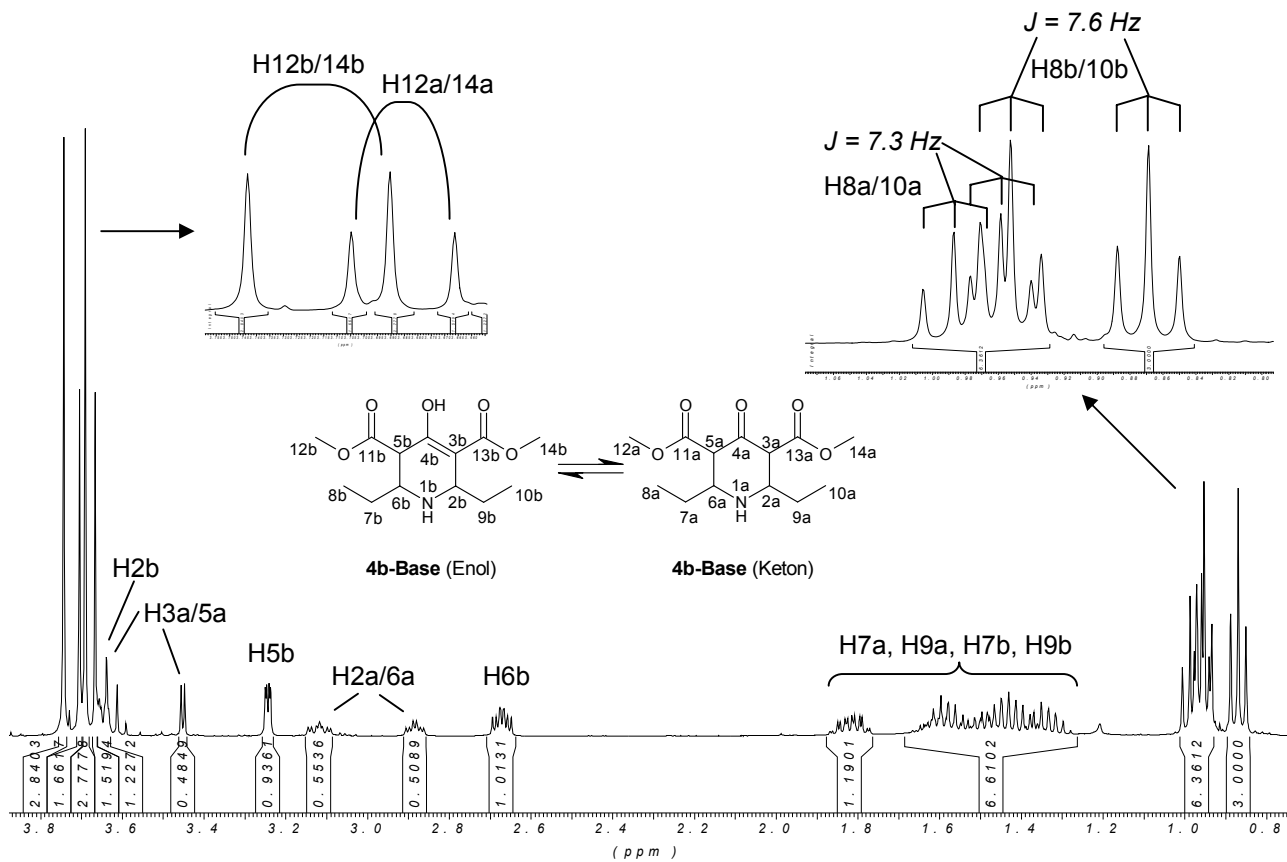


Abbildung 25 ^{13}C -NMR-Spektrum von Verbindung **2b-Base**

Auch im ^1H -NMR-Spektrum (Abbildung 26) ist dies deutlich zu erkennen. Die Signale für OCH_3 und CHCH_3 sind für die Keto- und Enol-Form jeweils doppelt. Das Isomeren-Verhältnis beträgt ca. 1:2. Diese gewonnenen Erkenntnisse stehen im Gegensatz zu den von *Holzgrabe et al.* ermittelten Daten, die beschreiben, dass *N*-unsubstituierte 2,6-Dialkyl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäuredimethylester ausschließlich in der *cis*-Konfiguration isoliert werden konnten.⁶⁰

Abbildung 26 ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung 2b-Base

5.2.3 2,6-Dialkyl-4-piperidone (3a-d)

5.2.3.1 Synthese

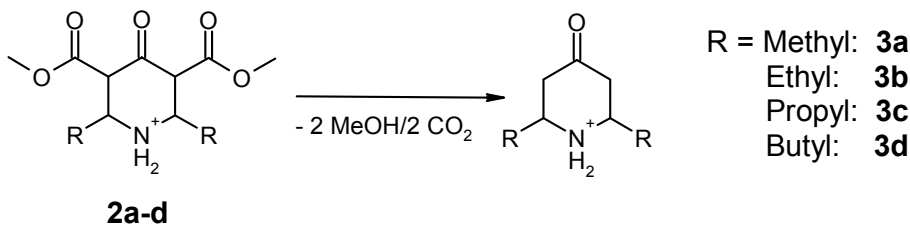


Abbildung 27 Esterspaltung und Decarboxylierung

Die unter 5.2.2 erhaltenen 2,6-Dialkyl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäure-dimethylester **2a-d** können nun durch Erhitzen auf 70 °C in einem Überschuß 37 %iger HCl nahezu quantitativ in die 2,6-Dialkyl-4-piperidone **3a-d** überführt werden.⁸¹ Als β -Ketoester findet während der

Reaktion zunächst eine Spaltung der Ester und anschließend eine spontane Decarboxylierung der entsprechenden Dicarbonsäureverbindung statt.

5.2.3.2 Stereochemie

Verbindung **3a** liegt ausschließlich *cis*-konfiguriert vor und bildet damit die einzige Ausnahme. Im ^{13}C -NMR-Spektrum existiert hier ebenfalls nur ein halber Signalsatz. Die aus dem ^1H -NMR-Spektrum berechneten Kopplungskonstanten für H3 und H5 belegen die äquatoriale Stellung der Methylseitenketten. Für H3/H5_{axial} liegt ein Dublett vom Dublett vor, zusammengesetzt aus der geminalen Kopplung mit 15.4 Hz und der *axial-axial*-Kopplung mit 12.9 Hz. H3/H5_{äquatorial} ist ebenfalls ein Dublett vom Dublett, mit 15.4 Hz als geminale Kopplung und der *axial-äquatorial*-Kopplung von 2.8 Hz (vgl. Abbildung 28).

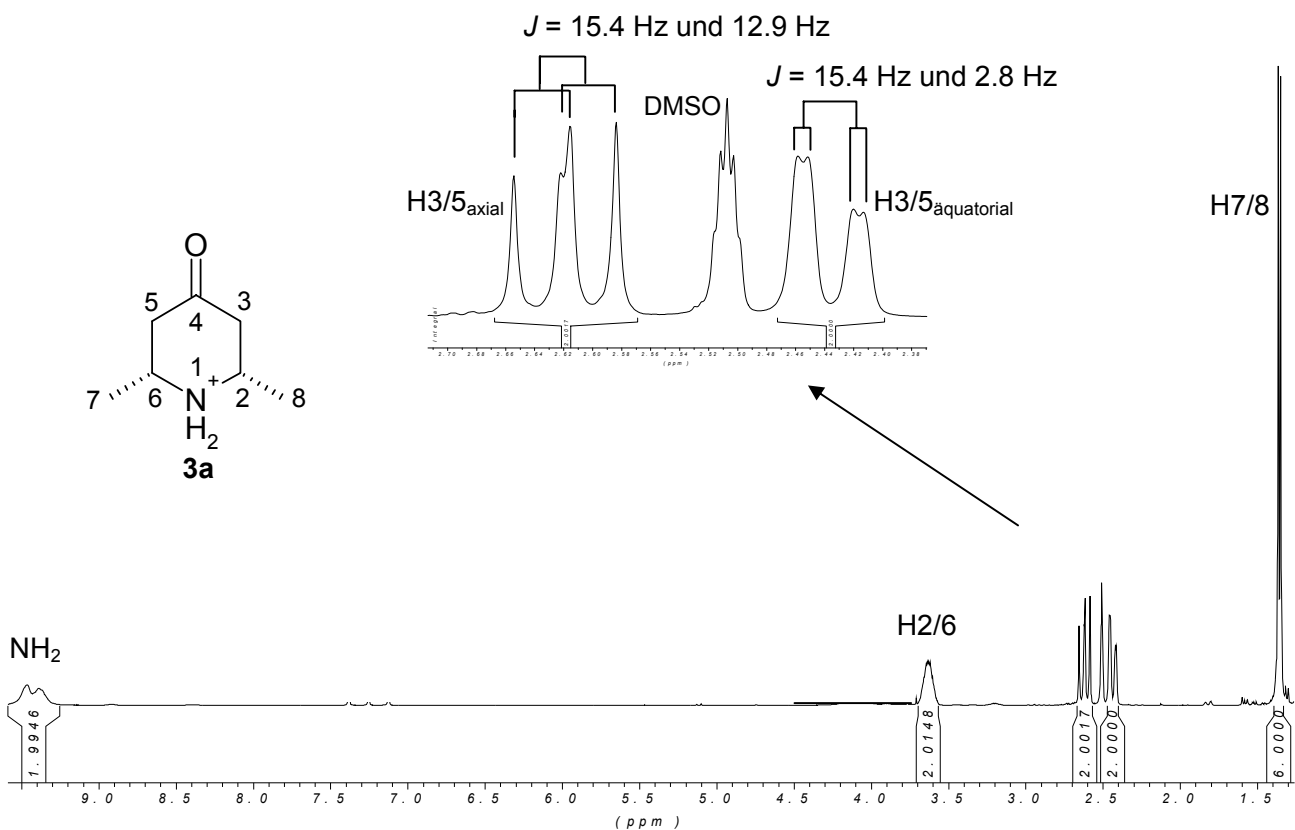


Abbildung 28 ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung **3a**

Tabelle 6 ist zu entnehmen, dass die Verbindungen **3b**, **3c** und **3d** nach diesem Reaktionsschritt in einem Gemisch aus *cis*- und *trans*-Isomer vorliegen. Während der Reaktion findet eine Isomerisierung statt, die über eine Ringöffnung bzw. -neubildung ablaufen muss. Diese Beobachtung wurde bereits bei der Synthese von 2,4-diarylsubstituierten 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on-1,5-diestern durch *Siener et al.*⁶¹ gemacht, die eine Retro-Mannich-Reaktion postulieren.

Verbindung	Substituent an C2 und C6	Verhältnis	
		<i>cis</i>	<i>trans</i>
3a	Methyl	1	--
3b	Ethyl	5	1
3c	Propyl	4	1
3d	Butyl	2	1

Tabelle 6 Isomeren-Verhältnis nach der Decarboxylierung

In Abbildung 29 ist schematisch dieser Mechanismus dargestellt und auf die hier vorliegenden Verbindungen übertragen. Über die Protonierung des Carbonylsauerstoffs der Keto-Funktion bildet sich das Enol und eine Ringöffnung findet statt. Durch Rotation der Enaminbindung und erneutem Ringschluss bildet sich so die *cis*-konfigurierte Verbindung. Sobald die Esterspaltung und Decarboxylierung abgeschlossen sind, ist eine Isomerisierung jedoch kaum noch möglich.

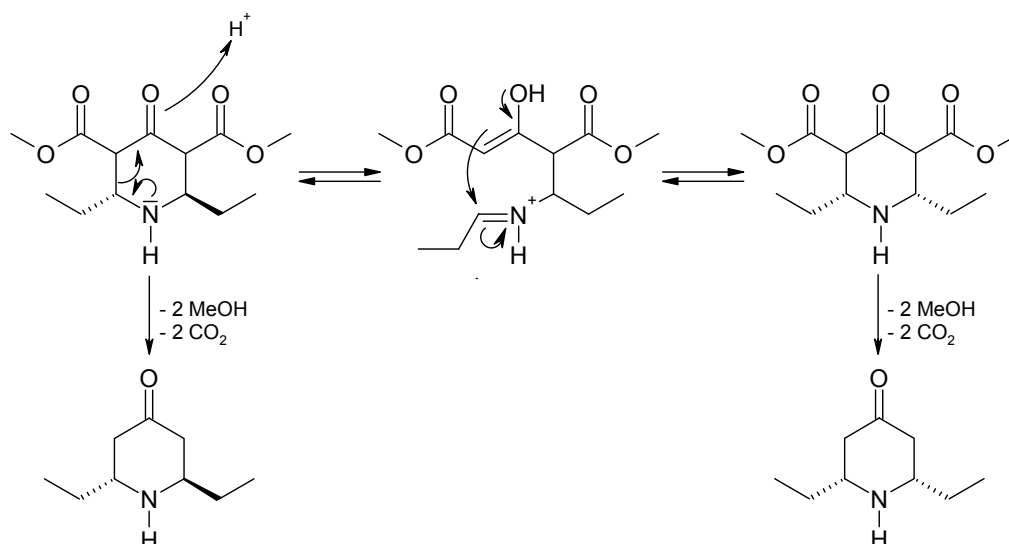


Abbildung 29 Vermuteter Reaktionsmechanismus der Konfigurationsänderung am Beispiel von Verbindung **3b** nach *Siener et al.*⁵⁹

Verbindung **3a** bildet wie bereits erwähnt eine Ausnahme. Hier bleibt die Konfiguration der Ausgangsverbindung vollständig erhalten. Grund dafür ist möglicherweise, dass die genannte Retro-Mannich-Reaktion nur schwer ablaufen kann, da statt des Ketons hier dessen Hydratform vorliegt.

Das Isomerenverhältnis ist für die nachfolgende Reaktion von erheblicher Bedeutung, denn bei der anschließenden Umsetzung zur Nitrilverbindung kann nur das *cis*-Isomer reagieren (vgl. Kapitel 5.3.1.2).

5.2.4 Substitution des Stickstoffs (4a-c)

Ausgehend von den in Position 2 und 6 alkylsubstituierten 4-Piperidonen kann im nachfolgenden Syntheseschritt unter Anwesenheit von K_2CO_3 als schwacher Base die Substitution des Stickstoffs mit Benzylbromid erfolgen (Abbildung 30). Als Lösungsmittel wird Acetonitril verwendet, das aufgrund der besseren Aufarbeitung dem DMF vorzuziehen ist. Die säulenchromatographische Aufreinigung der erhaltenen Öle ist nur unter großem Substanzverlust möglich, da die Produkte starkes Tailing aufweisen (R_f (Produkt) = 0 – 0.7; R_f (Benzylbromid) = 0.9; bas. Alox/Ethylacetat 100 %). Deshalb werden sie als Rohprodukte für die weitere Synthese eingesetzt.

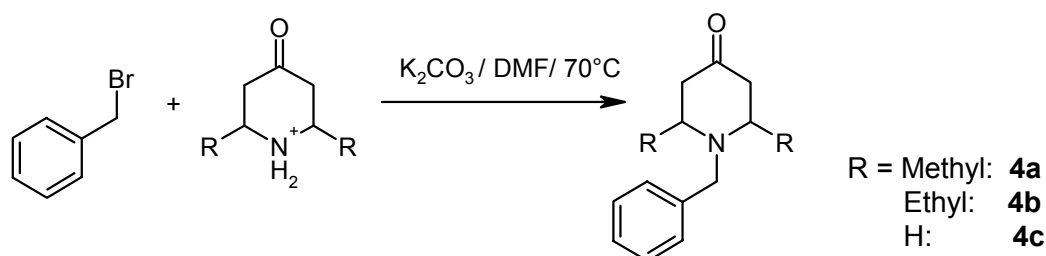


Abbildung 30 Stickstoff-Substitution

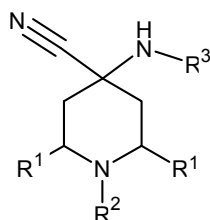
5.3 Synthese des Spirozyklus

Die weiteren Reaktionsschritte erfolgen in Anlehnung an die bei Röver *et al.*⁶² beschriebene Synthese.

5.3.1 Nitrile (5a-k)

5.3.1.1 Synthese

Ausgehend von den unter 5.2.3 und 5.2.4 erhaltenen 4-Piperidone werden im Sinne einer Streckersynthese unter wasserfreien Bedingungen in Eisessig die Nitrilverbindungen synthetisiert. Trimethylsilylcyanid (TMSCN) liefert die Nitril-Teilstruktur, Anilin oder Benzylamin werden als Aminkomponente eingesetzt. Zur Aufarbeitung wird der Reaktionsansatz in eisgekühlte Ammoniaklösung eingetropfelt, um die Hydrolyse des Nitrils zur Carbonsäure zu verhindern. Die gewonnenen Verbindungen sind in Tabelle 7 zusammengefasst.



Substanz	R ¹	R ²	R ³
5a	CH ₃	H	Phenyl
5b	CH ₃	H	Benzyl
5c	C ₂ H ₅	H	Phenyl
5d	C ₂ H ₅	H	Benzyl
5e	C ₃ H ₇	H	Phenyl
5f	C ₄ H ₉	H	Phenyl
5g	H	Benzyl	Phenyl
5h	H	Benzyl	Benzyl
5i	CH ₃	Benzyl	Phenyl
5k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl

Tabelle 7 Synthetisierte Nitrilverbindungen

5.3.1.2 Stereochemie

Als Produkt wurde ausschließlich eines von vier möglichen Isomeren isoliert. Dabei handelt es sich um das *cis*-Isomer, bei dem der eingeführte Aromat (Benzylamin bzw. Anilin) in äquatorialer und der Cyanid-Substituent in axialer Position vorliegen. Diese Anordnung der Substituenten an C4 wurde bereits durch *Sulsky et al.* mittels Röntgenstrukturanalyse an vergleichbaren Cyclohexanderivaten aufgeklärt.⁶³ Das *trans*-Isomer reagiert nicht zur Nitrilverbindung, da der axial stehende Alkylrest in Position 2 offensichtlich den Angriff auf den Carbonylkohlenstoff C4 behindert. Im Folgenden sollen die NMR-Daten der Verbindung **5a** beispielhaft für alle restlichen Verbindungen betrachtet werden (Abbildungen 31 und 32).

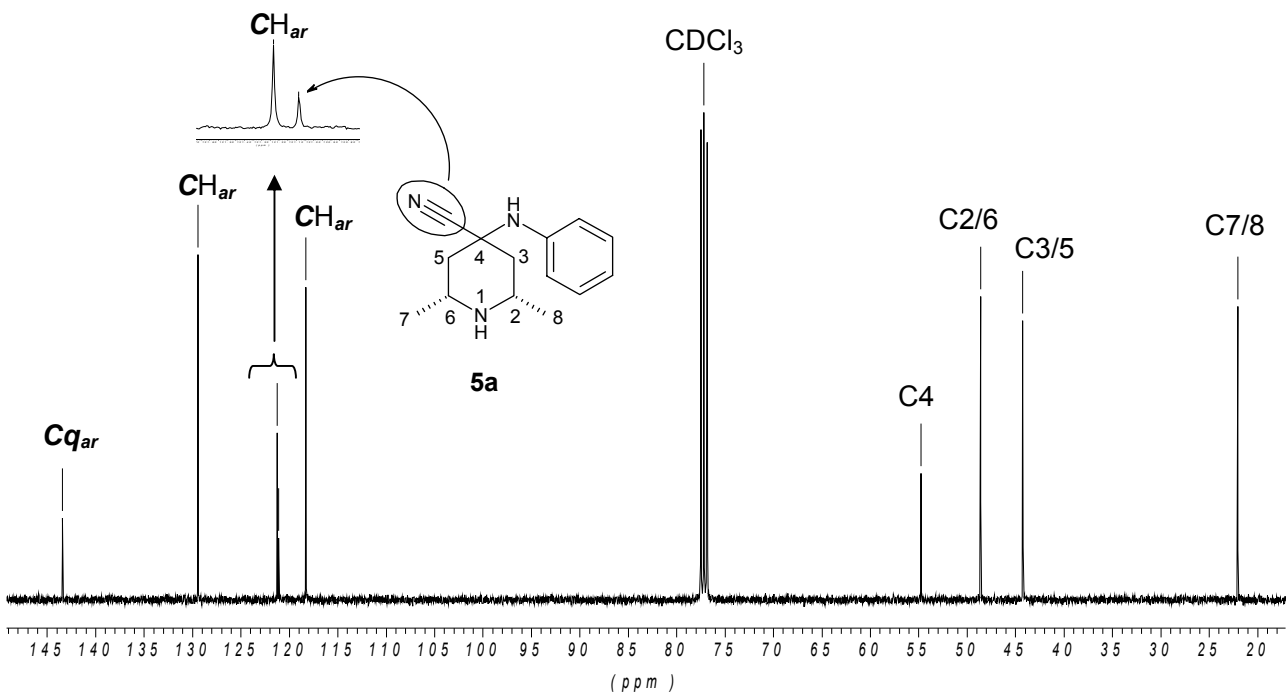


Abbildung 31 ^{13}C -NMR-Spektrum von Verbindung **5a**

Im ^{13}C -Spektrum ist nur ein halber Signalsatz zu erkennen, sodass nur die symmetrische Verbindung vorliegen kann. Durch das ^1H -NMR-Spektrum kann die *cis*-Konfiguration bestätigt werden. Das Kopplungsmuster von H3/H5_{axial} (doppeltes Dublett) beschreibt die äquatoriale Stellung der Methylsubstituenten an C2 und C6. Mit $J = 11.6 \text{ Hz}$ für H5/H3_{axial} liegt eine *axial-axial*-Kopplung vor (siehe Abbildung 32). Für $\text{H3/H5}_{äquatorial}$ liegt statt des zu erwartenden doppelten Dubletts nur ein Duplett (mit $J = 12.6$ für die *geminale* Kopplung) vor. Die *axial-äquatorial*-Kopplung ist für eine weitere Aufspaltung des Signals zu klein. *Vicinale* Kopplungskonstanten 3J sind abhängig vom Diederwinkel Φ , der in diesem Fall einen Wert von ca. 90° betragen muss und damit für die Kopplungskonstante einen Wert nahe Null ergibt.

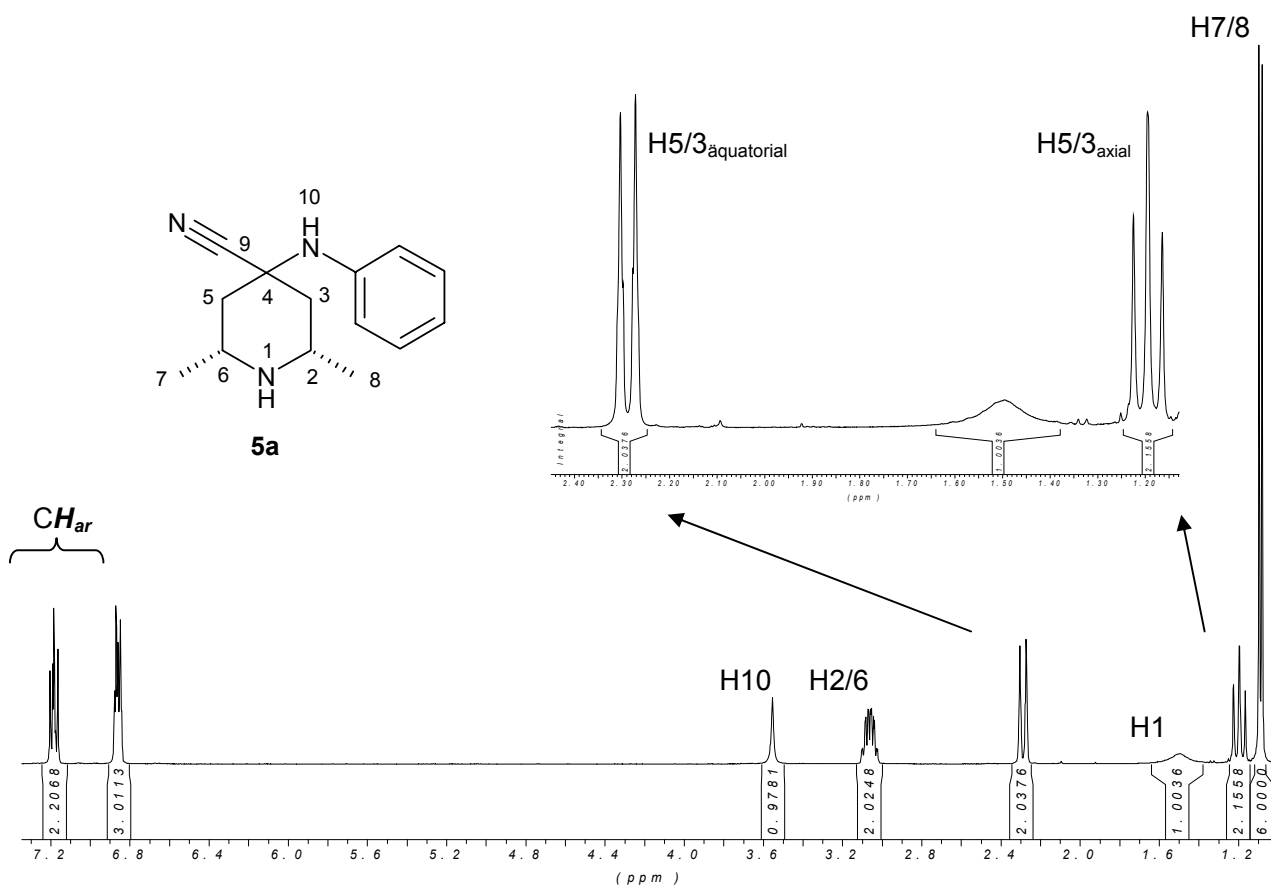


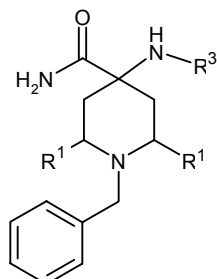
Abbildung 32 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **5a**

5.3.2 Amide (6g-i)

Der nachfolgende Schritt besteht aus der Hydrolyse des Nitrils zum Amid. Im Zuge dieser Arbeit konnten die bei Röver *et al.*^{62,64,65} beschriebenen, dafür erforderlichen Syntheseschritte deutlich vereinfacht werden. Ursprünglich wird zunächst eine Formylschutzgruppe am Amin eingeführt, um bei der Hydrolyse eine Retro-Strecker-Synthese zu vermeiden. Die Hydrolyse selbst erfolgt hier mittels Wasserstoffperoxid und conc. Ammoniak. Währenddessen wird die Formylfunktion abgespalten.

Dieser Syntheseschritt wurde nach Janssen^{66,67} vereinfacht. Durch Umsetzen mit conc. Schwefelsäure und anschließendem Aufarbeiten mit conc. Ammoniak kann auf das Einführen

einer Schutzgruppe verzichtet werden. Die Amide **6g-i** (Tabelle 8) können als saubere Feststoffe in nahezu quantitativem Ausmaß isoliert werden.



Substanz	R ¹	R ³
6g	H	Phenyl
6h	H	Benzyl
6i	CH ₃	Phenyl

Tabelle 8 Synthetisierte Amidverbindungen

5.3.3 Ringschluss zum 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-4-on (**7g-i**)

Der Ringschluss erfolgt analog der bei Röver *et al.*⁶² beschriebenen Synthese mit Formamid im Überschuss unter Reflux bei 200 °C. Statt der beschriebenen Doppelbindung im Fünfring wird stets die bereits reduzierte, hydrierte Verbindung isoliert (vgl. Abbildung 33).

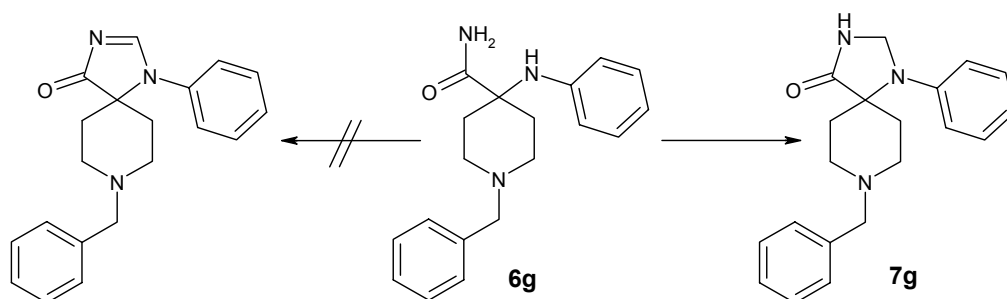


Abbildung 33 Ringschluss nach Röver *et al.*⁶⁰ am Beispiel von Verbindung **7g**

Die in der Literatur angegebene anschließende Reduktion mit Natriumborhydrid ist somit nicht notwendig. Durch die nähere Betrachtung der angewendeten Reaktionsbedingungen kann dieser Sachverhalt folgendermaßen erklärt werden: Während der Reaktion werden zwei Äquivalente Wasser frei, welche das im Überschuss vorhandene Formamid zu Ammoniumformiat hydrolysieren. Somit ist ein Hydriddonor vorhanden, der in der Lage ist, die Doppelbindung zu reduzieren. Dieser Mechanismus ist aus der Leuckart-Wallach-Reaktion bekannt.

Der beschriebene Syntheseweg ist reproduzierbar anwendbar für alle Verbindungen, die am Piperidin-Ring nicht alkyliert sind.

Für die am Piperidin-Ring alkylierten Verbindungen ist der Ringschluss nicht bzw. nur in sehr geringen Ausbeuten möglich. Lediglich Verbindung **7i** konnte nach säulenchromatographischer Aufarbeitung (bas. Alox, EtOAc 100 %, $R_f = 0.7$) isoliert werden (vgl. Abbildung 34).

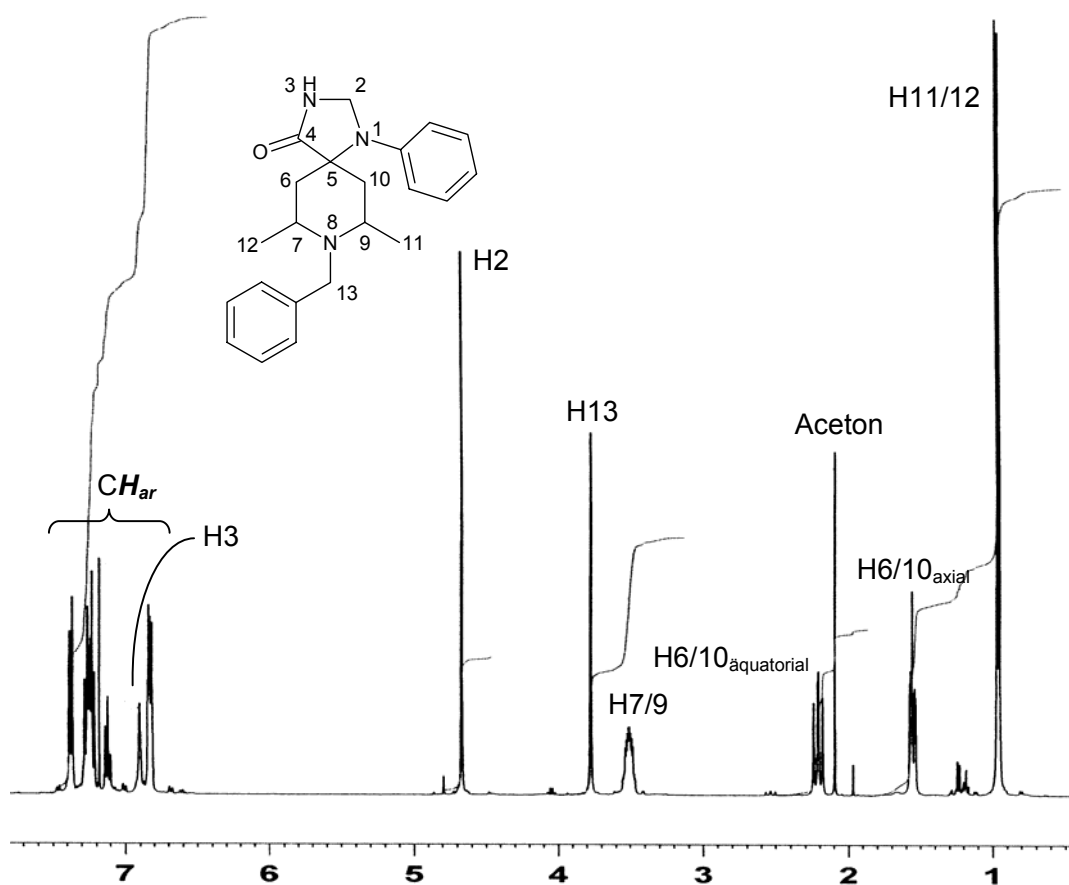
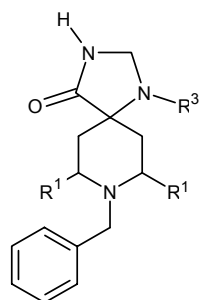


Abbildung 34 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **7i**

Um die Ausbeute zu steigern bzw. eine Umsetzung zu ermöglichen, wurde der Ringschluss in mehreren Varianten, allerdings ohne Erfolg, versucht. So wurde unter Verwendung von Paraformaldehyd eine Festphasenreaktion im Mikrowellenfeld durchgeführt.⁶⁸ Auch der Versuch, zunächst den Ringschluss mit Orthoameisensäuretriethylester zu erreichen,⁶⁹ blieb erfolglos. Die so erhaltene ungesättigte Verbindung mit Doppelbindung zwischen C2-N3 hätte im Anschluss reduziert werden sollen. Eine weitere Variante wurde nach *Roth et al.* mit

Formamid und konzentrierter Ameisensäure in DMF unter Rückfluss ausgeführt, brachte jedoch ebenfalls nicht das gewünschte Ergebnis.⁷⁰

Die synthetisierten 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-4-one sind in der nachfolgenden Tabelle 9 zusammengefasst



Substanz	R ¹	R ³
7g	H	Phenyl
7h	H	Benzyl
7i	CH ₃	Phenyl

Tabelle 9 Synthetisierte 1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one

5.3.4 Ringschluss zum 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8a-f, 8i,k)

Ausgehend von den unter 5.3.1 erhaltenen Nitrilverbindungen besteht eine weitere Synthesemöglichkeit. Durch Umsetzen mit Chlorsulfonylisocyanat und anschließendem Refluxieren mit 1M HCl erhält man Spiroverbindungen mit Hydantointeilstruktur.⁷¹

Wie Abbildung 35 zeigt, werden die am Piperidinstickstoff benzylierten Nitrilverbindungen mit einem Äquivalent Chlorsulfonylisocyanat versetzt und anschließend der Ringschluss durchgeführt.

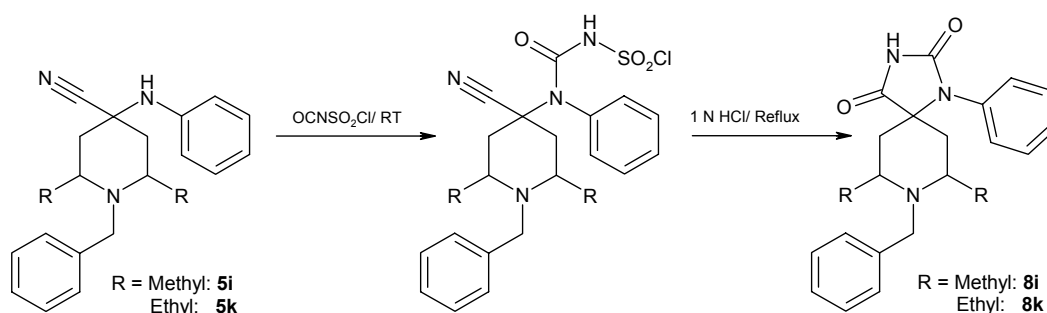


Abbildung 35 Ringschluss der am Piperidinstickstoff benzylierten Nitrilverbindungen **8i** und **8k** aus **5i** und **5k**

Verbindungen ohne Substituent an N8 wie beispielsweise **5a** (siehe Abbildung 36) werden durch Zugabe von zwei statt einem Äquivalent Chlorsulfonylisocyanat an N3 und N8 sulfoniert. Die nachfolgenden HCl-sauren Bedingungen führen am Nitril-Kohlenstoff zum Ringschluss. Der Substituent am Piperidinstickstoff hingegen wird hydrolytisch wieder abgespalten.

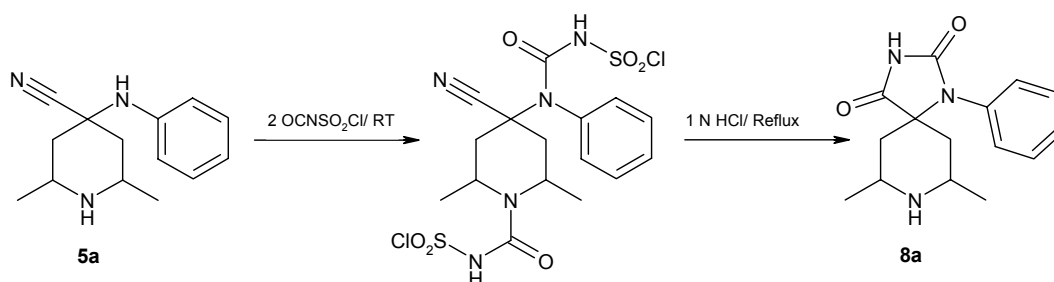
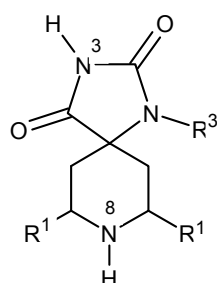


Abbildung 36 Ringschluss am Beispiel von Verbindung **5a**

Zusammenfassend sind die auf diese Weise synthetisierten 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dione ohne Substituent an N3 und N8 in der folgenden Tabelle gezeigt.



Substanz	R ¹	R ³
8a	CH ₃	Phenyl
8b	CH ₃	Benzyl
8c	C ₂ H ₅	Phenyl
8d	C ₂ H ₅	Benzyl
8e	C ₃ H ₇	Phenyl
8f	C ₄ H ₉	Phenyl

Tabelle 10 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dione ohne Substituent an N3 und N8

5.3.5 Substitution am Spirozyklus (9a-f, 9k)

An den unter 5.3.4 erhaltenen 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dionen wurde versucht, unter den gleichen Bedingungen wie in 5.2.4 bereits beschrieben die Substitution der freien Stickstoffposition(en) durchzuführen. Dafür wurden 2-Bromethanol, 4-Nitrobenzylbromid, Benzylbromid, Phenylethylbromid und Phenylpropylbromid verwendet. Für die an N3 und N8

nicht substituierte Verbindung **8c** wurde zunächst ein 2.3 facher Überschuss an Phenylethylbromid eingesetzt, um beide Stickstoff-Positionen zu substituieren. Durch Auswerten der spektroskopischen Daten stellte sich jedoch heraus, dass eine Reaktion nur am N3-Stickstoff stattfand.

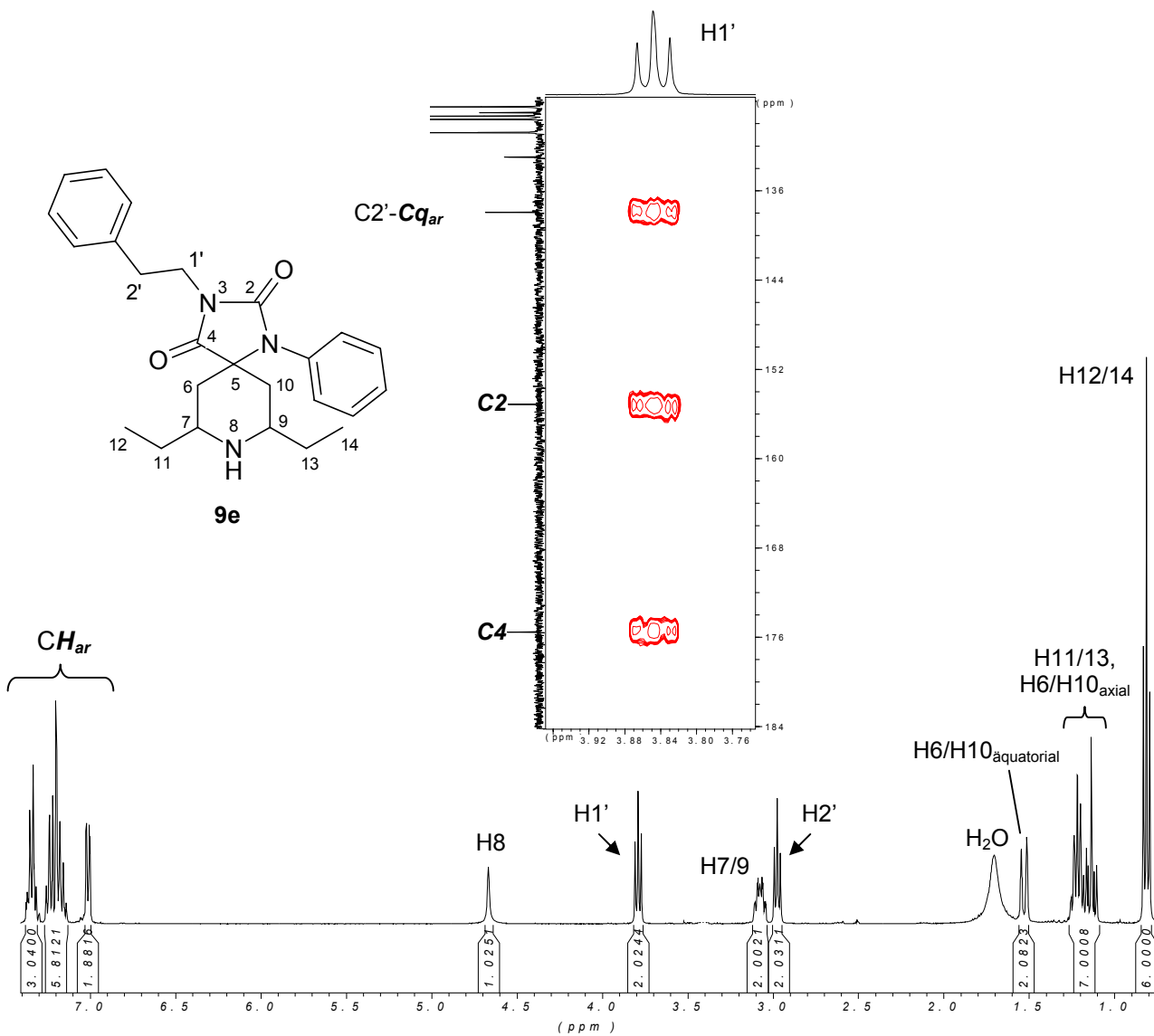


Abbildung 37 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **9e** und Ausschnitt aus dem HMBC-Experiment

Im HMBC-Diagramm sind die Kreuzsignale des Substituenten-Kohlenstoffs C1' zu den Carbonylkohlenstoffen C2 und C4, sowie dem quaternären Kohlenstoff des Phenylethyl-

Restes zu sehen (siehe Abbildung 37), was eindeutig für die Substitution an N3 und nicht an N8 spricht.

Der Versuch, mit *n*-Butyllithium zu deprotonieren und so nachfolgend die Substitution an N8 dennoch durchzuführen, schlug fehl. Es findet unter diesen Bedingungen keine Reaktion statt. Aus Tabelle 11 ist zu entnehmen, dass alle weiteren Reaktionen mit den entsprechend eingesetzten Bromverbindungen (Benzyl- und Phenylpropylbromid) ebenfalls nur eine Substitution an der N3-Position ergaben. Die Reaktionen von **8b** resultierten ebenfalls ausschließlich in einer N3-Substitution.

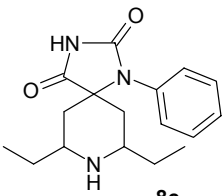
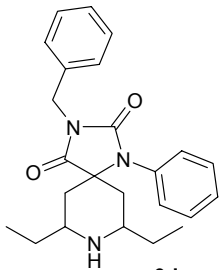
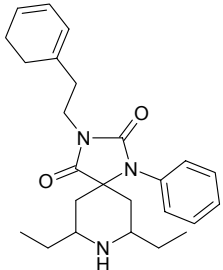
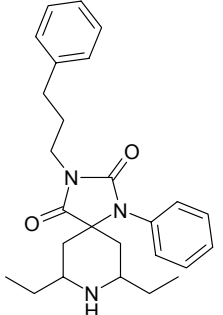
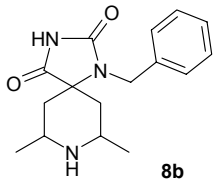
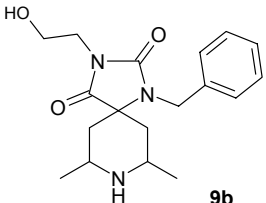
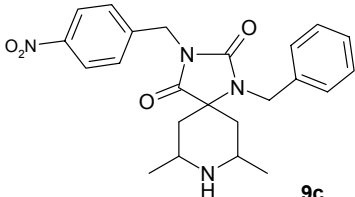
Ausgangsverbindung	Synthetisierte Verbindungen		
 <p style="text-align: center;">8c</p>	 <p style="text-align: center;">9d</p>	 <p style="text-align: center;">9e</p>	 <p style="text-align: center;">9f</p>
 <p style="text-align: center;">8b</p>	 <p style="text-align: center;">9b</p>		 <p style="text-align: center;">9c</p>

Tabelle 11 N3-Substitution der Verbindungen **8c** und **8b**

Als einzige Ausnahme kann ausgehend von Verbindung **8a** durch Versetzen mit 2.3 Äquivalenten 4-Nitrobenzylbromid an beiden Stickstoffpositionen substituiert und daraus Verbindung **9a** erhalten werden (siehe Abbildung 38).

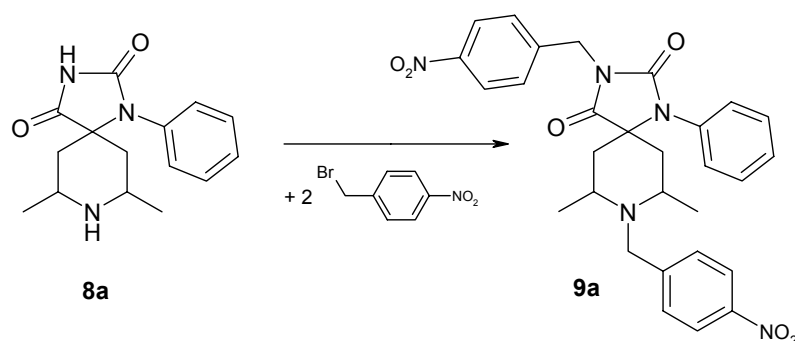


Abbildung 38 Reaktion von **8a** führt zu der an N3 und N8 substituierten Verbindung **9a**

Diese Ergebnisse lassen sich möglicherweise durch eine sterische Abschirmung der N8-Stickstoff-Position erklären, die für alle Verbindungen vorliegt, deren Seitenkette an C7 und C9 größer als eine Methylgruppe ist. Zusätzlich scheint auch der Substituent an N1 einen Einfluss auf die Reaktivität an N8 auszuüben, denn Reaktionen von Verbindung **8b** ergaben wie bereits erläutert ebenfalls nur die jeweils an N3-substituierte Verbindung. Der Unterschied zu **8a** liegt hier lediglich an einer Benzyl- statt Phenyl-Substitution des N1.

Das bedeutet schlussendlich für weitere Synthesen, dass der N8-Substituent schon zu Beginn der Synthese auf der Stufe der 2,6-Dialkyl-4-piperidone eingeführt werden muss, sofern man zu Verbindungen gelangen will, die an N3 **und** N8 substituiert sind, und/oder **unterschiedliche** Substituenten aufweisen sollen.

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse wurde die an N3 und N8 unterschiedlich substituierte Verbindung **9k** synthetisiert (Abbildung 39).

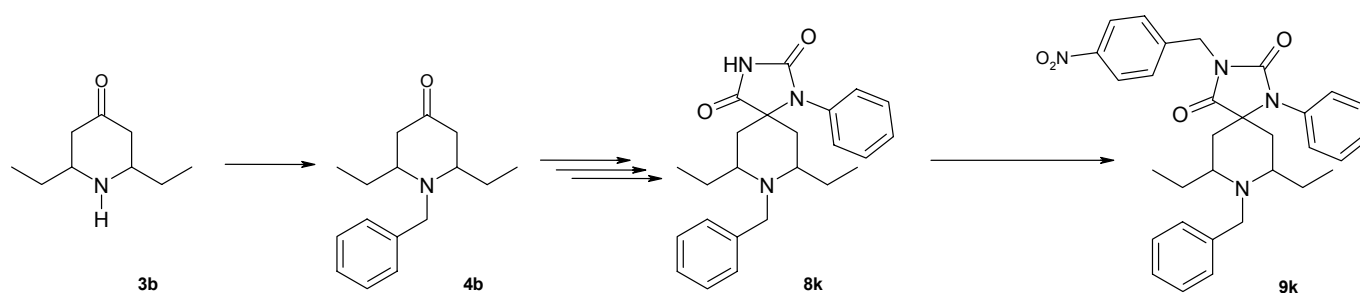
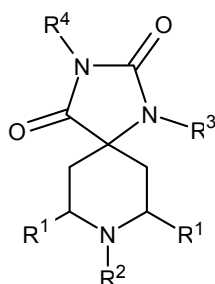


Abbildung 39 Synthese von Verbindung **9k**

Tabelle 12 stellt abschließend alle gewonnenen 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dione zusammenfassend dar.



Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
8a	CH ₃	H	Phenyl	H
8b	CH ₃	H	Benzyl	H
9b	CH ₃	H	Benzyl	C ₂ H ₄ OH
9c	CH ₃	H	Benzyl	4-Nitrobenzyl
8i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H
9a	CH ₃	4-Nitrobenzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl
8c	C ₂ H ₅	H	Phenyl	H
8d	C ₂ H ₅	H	Benzyl	H
8k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	H
9k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl
9d	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Benzyl
9e	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylethyl
9f	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylpropyl
8e	C ₃ H ₇	H	Phenyl	H
8f	C ₄ H ₉	H	Phenyl	H

Tabelle 12 Übersicht über alle synthetisierten 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dione, geordnet nach steigender Kettenlänge an R¹ und Substitution an R² und R⁴

5.4 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester (10a-n)

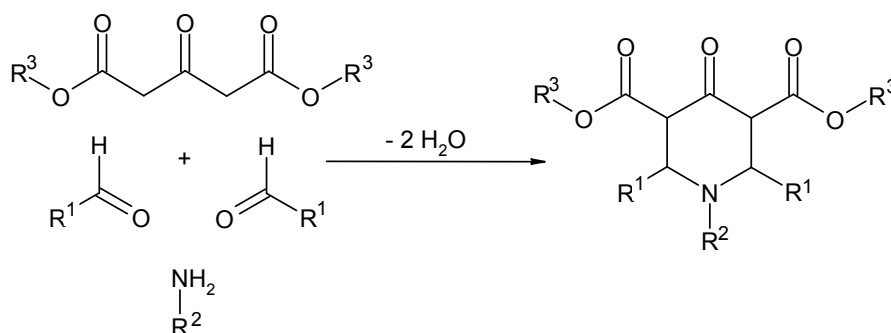


Abbildung 40 Synthese der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester

Die 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester wurden ebenfalls in einer Mannich-Reaktion aus 2 Äquivalenten aromatischem Aldehyd R^1 -CHO, einem Äquivalent Amin R^2 -NH₂ (vgl. hierzu R^1 und R^2 aus Tabelle 13) und einem Äquivalent Acetondicarbonsäuredimethylester bzw. -diethylester synthetisiert. Die hierdurch gewonnenen Verbindungen sind der Tabelle 13 zu entnehmen.

Substanz	R ¹	R ²	R ³
10a	2-Pyridyl	C ₇ H ₁₄ COOH	CH ₃
10b	2-Pyridyl	C ₃ H ₆ OH	CH ₃
10c	2-Pyridyl	H	CH ₃
10d	2-Pyridyl	C ₂ H ₄ OH	CH ₃
10e	2-Pyridyl	Allyl	CH ₃
10f	Phenyl	Allyl	CH ₃
10g	4-Nitrophenyl	Allyl	CH ₃
10h	4-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃
10i	4-Nitrophenyl	Benzyl	C ₂ H ₅
10k	4-Nitrophenyl	Allyl	C ₂ H ₅
10l	3-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃
10m	3-Nitrophenyl	4-Methylbenzyl	CH ₃
10n	3-Nitrophenyl	4-Methoxybenzyl	CH ₃

Tabelle 13 Synthetisierte 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester

5.5 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester (11a-d)

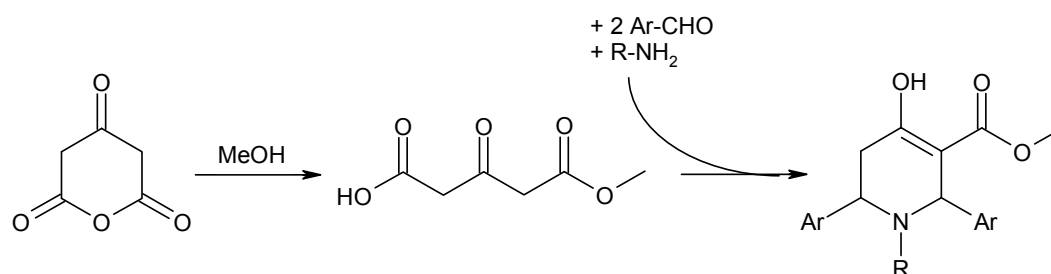


Abbildung 41 Synthese der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester

Aus dem Anhydrid der Aceton-1,3-dicarbonsäure, 2-Pyridylcarbaldehyd und R-NH₂ im Verhältnis 1:2:1 wurden bei -20 °C die in Tabelle 14 zusammengefassten Derivate der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester synthetisiert.

Substanz	R	Ar
11a	Benzyl	2-Pyridyl
11b	4-Methylbenzyl	2-Pyridyl
11c	4-Cl-Benzyl	2-Pyridyl
11d	4-Methoxybenzyl	2-Pyridyl

Tabelle 14 Synthetisierte 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester

Analog dieser literaturbekannten 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäure-methylester sollten weitere Verbindungen synthetisiert werden. Statt des bisher eingesetzten Pyridin-2-carbaldehyd sollten 3-Nitrobenzaldehyd, 4-Nitrobenzaldehyd und Benzaldehyd verwendet werden und mit den als Aminkomponente unter 5.4 eingesetzten Aminen kombiniert werden. Die Synthese blieb trotz verschiedenster Modifikationen in Bezug auf Reaktionstemperatur (-20 - +25 °C), Lösungsmittel (MeOH/THF; EtOH/THF; EtOH) und Reihenfolge der zugegebenen Reaktionspartner ohne Erfolg. Die gewünschten Produkte konnten nicht isoliert werden.

6 Physikalisch-chemische Eigenschaften – Bestimmung von pK_a-Werten

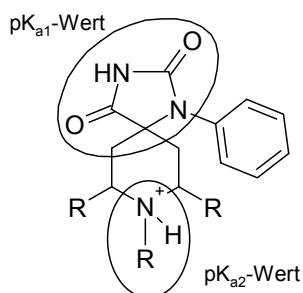


Abbildung 42 Teilstrukturen der zu bestimmenden pK_a-Werte

Bestimmt werden sollten die pK_a-Werte der Hydantoin-Teilstruktur pK_{a1} und des Piperidin-Stickstoffs pK_{a2} (siehe Abbildung 42). Innerhalb der synthetisierten Spiroverbindungen ist die strukturelle Ähnlichkeit sehr hoch, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass sich die pK_a-Werte nur wenig voneinander unterscheiden. Für die Bestimmung wurden daher exemplarisch **8a**, **8c**, **8k** und **9f** ausgewählt.

Die pK_a-Werte dieser Verbindungen wurden durch eine potentiometrische Titration mit dem Sirius PCA 101 Mikrotitrator (Sirius Analytical Instruments Ltd., Forrest Row, E. Sussex, UK) bestimmt. Das Gerät arbeitet mit einer kombinierten Glaselektrode, die als Referenzelektrode eine Silber/Silberchlorid-Elektrode enthält. Die für die Titration erforderlichen Lösungen wurden frisch hergestellt bzw. 0.5 M HCl als Fertiglösung eingesetzt:

0.15 M KCl: 11.185 g KCl ad 1000.0 ml Aqua dem.

0.5 M KOH: Titrisol®-Ampulle zur Herstellung einer 0.5 M KOH-Lösung (Merck, Darmstadt, Deutschland) ad 1000.0 ml Aqua dem.

0.5 M HCl: Fertiglösung (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland)

Die Messungen wurden unter Argon-Atmosphäre in einem temperierten Probengefäß bei 25°C durchgeführt. Ca. 2.5 mmol der zu testenden Substanz wurden eingewogen und automatisiert in 20 ml 0.15 M KCl-Lösung als Grundelektrolyt suspendiert. Im Anschluss wurde die Lösung mit 0.5 M HCl auf einen pH-Wert von 1.80 eingestellt. Im sauren Medium

lagen alle untersuchten Verbindungen gelöst vor. Mit 0.5 M KOH wurde bis zu einem pH-Wert von 12.20 titriert.

Die erhaltenen Titrationskurven aus jeweils drei Einzelmessungen wurden mit der entsprechenden Software (pKaLOGP V5.1) von Sirius ausgewertet. Für die Verbindung **8k** konnte nur der pK_a-Wert für die Piperidin-Teilstruktur bestimmt werden, da die Verbindung während der Titration ausfiel. Zusätzlich wurde Phenytoin als Vergleichssubstanz vermessen. Da dieser Arzneistoff nur im Basischen löslich ist, wurde die Titration von pH 12.20 bis pH 1.80 durchgeführt.

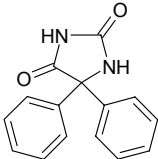
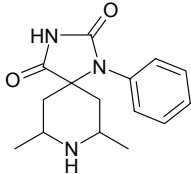
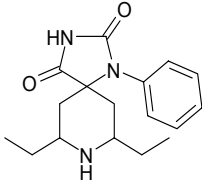
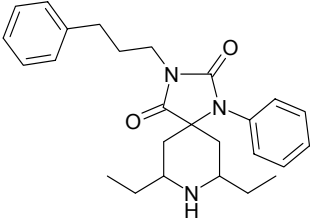
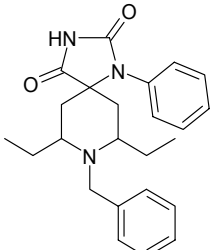
		Einzelmessungen			Mittelwert	
Phenytoin		pK _{a1} :	8.21	8.22	8.24	8.22
8a		pK _{a1} :	9.78	9.72	9.72	9.74
		pK _{a2} :	7.87	7.85	7.86	7.86
8c		pK _{a1} :	9.68	9.59	9.66	9.64
		pK _{a2} :	7.79	7.77	7.76	7.77
9f		pK _{a2} :	8.17	8.16	8.21	8.18
8k		pK _{a2} :	7.25	7.24	7.22	7.24

Abbildung 43 Messergebnisse der pK_a-Wert-Bestimmung

Die ermittelten pK_a-Werte korrespondieren mit den aus der Literatur bekannten Daten.

Bei Substanz **9f** ist der pK_{a2}-Wert von 8.18 eindeutig dem sekundären Amin zuzuordnen, da in diesem Molekül der Hydantoin-Stickstoff durch einen Phenylethyl-Rest substituiert ist. Dieser Wert ist zwar außergewöhnlich niedrig - üblicherweise ist der pK_a-Wert für ein sekundäres Amin eher im Bereich um 10 anzusiedeln - jedoch sind in der Literatur auch 9-Azabicyclo[3.3.1]nonan-3-one beschrieben, bei denen die pK_a-Werte für das sekundäre Amin um einen Wert von 7 liegen.⁷² Auch für Piperidinderivate wurden pK_a-Werte im Bereich von ca. 7 bis 8 ermittelt.⁷³

Betrachtet man weiter den ermittelten pK_{a2}-Wert von **8k**, so ist er im Vergleich zu **9f** um fast eine Einheit kleiner. Dass eine Benzyl-Substitution am Stickstoff den pK_a-Wert um solch ein beträchtliches Maß erniedrigen kann, ist durch Untersuchungen an Piperidinderivaten durch *Lewin et al.*⁷³ bereits bekannt und liegt am -I-Effekt des Benzyl-Restes, der die Elektronendichte am Stickstoff und somit dessen Basizität verringert.

Da sich die Verbindungen **8a** und **8c** am Piperidin-Grundgerüst nicht deutlich von **9f** unterscheiden, lassen sich hier die pK_{a2}-Werte von 7.86 bzw. 7.77 dem Piperidin-Stickstoff zuordnen. Demzufolge gehören die pK_{a1}-Werte von 9.74 bzw. 9.66 zur Hydantoin-Teilstruktur. Sie liegen damit deutlich über dem Wert von Phenytoin.

Für Hydantoin im Allgemeinen sind in der Literatur Werte zwischen 8.21 und 9.97 angegeben.^{74,75,76} Phenytoin ist unter den Hydantoinen die Struktur mit dem niedrigsten pK_a-Wert (Literatur-Wert: 8.21)⁷⁵. Ursache dafür ist, dass der -I-Effekt von zwei Phenylresten deutlich die Elektronendichte am NH verringert und somit die Säurestärke zunimmt. Dieses Strukturmerkmal ist jedoch bei den synthetisierten Verbindungen nicht vorhanden, somit sind hierfür deutlich höhere Werte zu erwarten. Die Acidität wird zusätzlich noch durch den aliphatischen Rest des Moleküls abgeschwächt. Der -I-Effekt des Phenyl-Restes in Position N1 spielt hierbei auf die Basizität des Stickstoffs N3 eine unbedeutende Rolle, da sich die Delokalisation von Elektronen auf das freie Elektronenpaar am N1 beschränkt und somit kaum Einfluss auf die Basizität von N3 nimmt.

7 Pharmakologische Untersuchungen

7.1 *In-vitro*-Untersuchung an *Trypanosoma brucei brucei*

Die *In-vitro*-Untersuchung an *Trypanosoma brucei brucei* wurde am Missionsärztlichen Institut, Würzburg, durchgeführt.

Verwendet wurde die trypomastigote Form des Trypanosomen-Stamms *TC 221*. In 96-Well Mikrotiterplatten werden pro well 10^4 Trypanosomen einpipettiert, mit verschiedenen Konzentrationen an Inhibitorlösung versetzt und mit Baltz-Medium auf ein Endvolumen von 200 μ l dispergiert. Zur Herstellung der Inhibitorlösungen werden die Testverbindungen in einer Konzentration von 10 mM in DMSO gelöst. Diese Stammlösung wird 1:10 mit Baltz-Medium verdünnt und daraus eine Verdünnungsreihe erstellt. Die Lösungen der Verdünnungsreihe werden so zur Trypanosomensuspension pipettiert, dass nach Auffüllen auf das Endvolumen Proben in Konzentrationen von 100 μ M, 10 μ M, 1 μ M, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM und 10 pM vorliegen. Pro Konzentration werden jeweils drei Experimente durchgeführt. Als Positiv- und Negativkontrolle werden in jeweils drei Versuchen Trypanosomen mit reinem Kulturmedium bzw. Testsubstanz ohne Trypanosomen untersucht. Nach 48-stündiger Inkubation der Mikrotiterplatten bei 37 °C wird die Anzahl der verbliebenen Parasiten mittels Alamar-Blue-Assay bestimmt. Die Aktivitäten der Testsubstanzen werden als IC_{50} -Werte durch lineare Interpolation der erhaltenen Daten aus jeweils drei Experimenten pro Wirkstoffkonzentration ermittelt (vgl. entsprechende Tabellen).⁷⁷

Um die Zytotoxizität der Verbindungen zu bestimmen, wurden zusätzliche Untersuchungen an Makrophagen der Zelllinie *J774.1* durchgeführt. Die Herstellung der Inhibitorlösungen, die Zubereitung der Proben und die Inkubation der Mikrotiterplatten erfolgt analog zu den beschriebenen Experimenten mit Trypanosomen, bis auf die Ausnahme, dass pro Well 10^5 Makrophagen eingesetzt werden und mit *RPMI*-Medium (ohne Phenolrot) auf 200 μ l Envolumen ergänzt wird. Der Inhibitor-Assay und dessen Auswertung erfolgt auf die bereits beschriebene Weise. Die entsprechenden Ergebnisse sind den Tabellen zu entnehmen.

Zum Vergleich der Aktivitäten sind in der nachfolgenden Tabelle 15 die IC_{50} -Werte der aktuell in der Therapie eingesetzten trypanoziden Wirkstoffe und der als DHH-Inhibitoren identifizierten Substanzen L-Mimosin und Ciclopiroxolamin sowie deren Zytotoxizität angegeben.

Substanz	<i>Trypanosoma brucei</i> <i>brucei</i> TC221 IC ₅₀ -Wert [μM]	Zytotoxizität Makrophagen (J774.1) IC ₅₀ -Wert [μM]
Pentamidin- diisethionat	0.0029	41.6
Eflornithin-HCl	22.9	>100
Suramin-Na	0.31	>100
Melarsoprol	0.0026	4.3
Nifurtimox	3.4	>100
L-Mimosin	>100	>100
Ciclopiroxolamin	0.62	4.62

Tabelle 15 Inhibitorische Aktivität und Zytotoxizität von trypanozid wirkenden Arzneistoffen, L-Mimosin und Ciclopiroxolamin

7.1.1 Spiroverbindungen

Zunächst sollen die ursprünglich für den ORL1-Rezeptor konzipierten Spiroverbindungen betrachtet werden. In der nachfolgenden Tabelle 16 sind die entsprechenden Ergebnisse zur inhibitorischen Aktivität und Zytotoxizität dargestellt. Aus Tabelle 16 ist zu entnehmen, dass die trypanozid wirkenden Spiroverbindungen eine Aktivität im Bereich von Eflornithin-HCl und Nifurtimox aufweisen. Abbildung 44 zeigt die für die Aktivität verantwortlichen Strukturelemente.

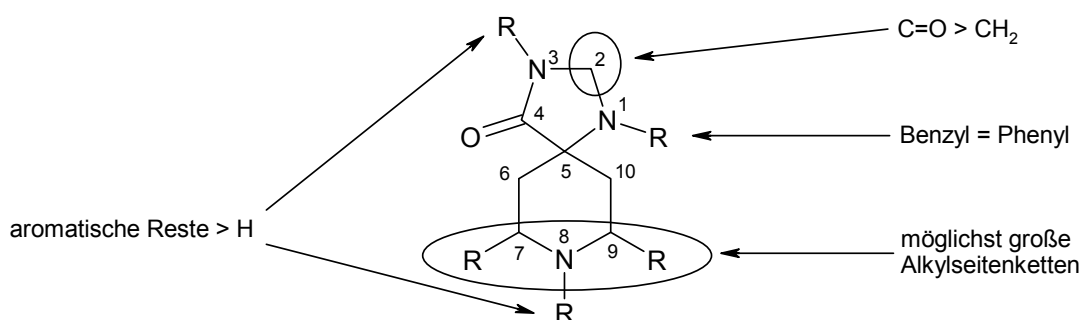
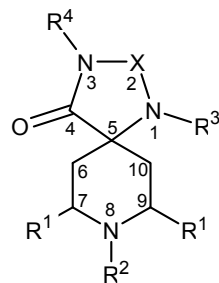


Abbildung 44 Strukturelemente der Spiroverbindungen, die für eine Hemmung des Trypanosomenwachstums erforderlich sind

Die in der Reihe der synthetisierten Spiroverbindungen eingeführten Substituenten an N1 (Benzyl und Phenyl) scheinen keinen unterschiedlichen Einfluss auf die Aktivität auszuüben.



Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X	IC ₅₀ -Wert [µM] <i>Trypanosoma brucei</i> <i>brucei</i> (48 h)	IC ₅₀ -Wert [µM] Makrophagen (48 h)
7g	H	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂	44.65	>100
7h	H	Benzyl	Benzyl	H	CH ₂	40.69	>100
8a	CH ₃	H	Phenyl	H	C=O	>100	>100
8b	CH ₃	H	Benzyl	H	C=O	>100	>100
9b	CH ₃	H	Benzyl	C ₂ H ₄ OH	C=O	>100	>100
9c	CH ₃	H	Benzyl	4-Nitrobenzyl	C=O	3.74	42.44
7i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂	29.70	>100
8i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	C=O	11.35	75.55
9a	CH ₃	4-Nitrobenzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O	>100	>100
8c	C ₂ H ₅	H	Phenyl	H	C=O	>100	>100
8d	C ₂ H ₅	H	Benzyl	H	C=O	>100	>100
8k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	H	C=O	30.97	>100
9k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O	25.37	>100
9d	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Benzyl	C=O	20.28	>100
9e	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylethyl	C=O	18.05	>100
9f	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylpropyl	C=O	13.44	35.15
8e	C ₃ H ₇	H	Phenyl	H	C=O	>100	>100
8f	C ₄ H ₉	H	Phenyl	H	C=O	24.36	>100

Tabelle 16 IC₅₀-Werte der Spiroverbindungen nach 48h auf *Trypanosoma brucei brucei* TC221 und Makrophagen

Bei den Verbindungen **7g** und **7h**, die sich ausschließlich an dieser Position unterscheiden, wurden vergleichbare IC_{50} -Werte ermittelt. Für Verbindungen ohne Substituent an N3 und N8 erweisen sich große Alkylreste an C7 und C9 als besonders vorteilhaft, da erst ab einer Kettenlänge von C4 eine inhibitorische Aktivität festzustellen war (vgl. Verbindungen **8a**, **8c**, **8e** und **8f**). Betrachtet man weiter die Substitution an N3 und N8, so ist abzuleiten, dass in beiden Fällen aromatische Reste für die Aktivität erforderlich sind, die sich jedoch durch eine gleichzeitige Substitution nicht weiter steigern lässt bzw. vollständig aufgehoben wird (vgl. Verbindungen **8i**, **8k**, **9a**, **9d**, **9k**). Als günstige Substituenten an N3 konnten Phenylalkyl-Reste ermittelt werden. Mit zunehmendem Abstand des Aromaten zum Rest des Moleküls steigt tendenziell die inhibitorische Aktivität (vgl. Verbindungen **9d**, **9e**, **9f**). Die wirksamste Verbindung konnte durch eine 4-Nitrobenzyl-Substitution an dieser Position erhalten werden (vgl. Verbindung **9c**). Stellt man die Substanzen gegenüber, die sich nur in Position C2 unterscheiden, so lässt sich erkennen, dass eine C=O-Teilstruktur im Vergleich zur Methylen-Teilstruktur die inhibitorische Aktivität verbessert (vgl. Verbindungen **7i**, **8i**).

Um beurteilen zu können, ob eine Verbindung aufgrund genügend geringer Toxizität gegenüber einem Säugetierorganismus für eine Therapie in Frage kommen kann, wird gemeinhin der Quotient der IC_{50} -Werte an Makrophagen zu Trypanosomen (in diesen Untersuchungen) herangezogen, der mindestens einen Wert von 100 haben sollte. Für die drei Verbindungen mit der höchsten inhibitorischen Aktivität auf das Trypanosomen-Wachstum (**8i**, **9c**, **9f**) ergeben sich Quotienten von ca. 7, 10, bzw. 3. Diese liegen somit deutlich zu niedrig. Für die übrigen aktiven Substanzen, deren Toxizität in den Untersuchungen an Makrophagen über 100 μ M lag, sollten die genauen IC_{50} -Werte bestimmt werden, um ein besseres Bild davon zu bekommen, welche Substituenten für eine eventuell geringere Zytotoxizität verantwortlich sind.

7.1.2 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester

Die nachfolgend betrachteten Substanzen liegen in ihrer Aktivität ebenfalls im Bereich von Nifurtimox und Eflornithin-HCl. In Tabelle 17 sind die synthetisierten Verbindungen und die jeweiligen Werte zu Aktivität und Zytotoxizität dargestellt.

Substanz	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ -Wert [µM] <i>Trypanosoma brucei</i> <i>brucei</i> (48 h)	IC ₅₀ -Wert [µM] Makrophagen (48 h)
10a	2-Pyridyl	C ₇ H ₁₄ COOH	CH ₃	n.d.	n.d.
10b	2-Pyridyl	C ₃ H ₆ OH	CH ₃	18.29	33.33
10c	2-Pyridyl	H	CH ₃	28.09	> 100
10d	2-Pyridyl	C ₂ H ₄ OH	CH ₃	22.84	85.63
10e	2-Pyridyl	Allyl	CH ₃	26.48	> 100
10f	Phenyl	Allyl	CH ₃	4.86	> 100
10g	4-Nitrophenyl	Allyl	CH ₃	2.71	50.29
10h	4-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃	3.01	15.06
10i	4-Nitrophenyl	Benzyl	C ₂ H ₅	2.72	> 100
10k	4-Nitrophenyl	Allyl	C ₂ H ₅	3.06	> 100
10l	3-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃	2.40	> 100
10m	3-Nitrophenyl	4-Methylbenzyl	CH ₃	2.66	> 100
10n	3-Nitrophenyl	4-Methoxybenzyl	CH ₃	3.93	> 100

Tabelle 17 IC₅₀-Werte der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester nach 48h auf *Trypanosoma brucei brucei* TC221 und Makrophagen (n.d. = nicht bestimmt)

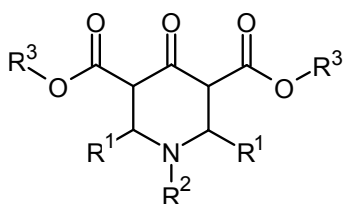


Abbildung 45 Allgemeine Strukturformel der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester

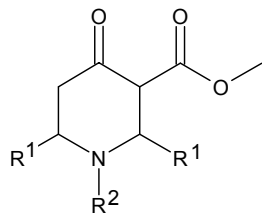
Der Stickstoff-Substituent R² spielt in Bezug auf die Aktivität keine besondere Rolle. Für Substanzreihen mit ansonsten gleichem Substitutionsmuster sind auch mit

unterschiedlichsten Resten an N1, wie Alkoholen, Säuren und verschiedenen substituierten Aromaten keine Änderungen in der Wirkstärke zu beobachten. Die hier eingeführten Reste können allerdings zur Verbesserung der Löslichkeit und Bioverfügbarkeit beitragen.

Ausschlaggebend für eine hohe Aktivität sind die Substituenten R² in Position C2 und C6. Im Vergleich zu einer 2-Pyridyl-Substitution lässt sich durch Phenyl-Reste oder Nitro-Aromaten die Aktivität durchschnittlich auf das 5- bis 10-fache steigern. Die Esterfunktion scheint hierauf keinerlei Einfluss zu nehmen. Betrachtet man allerdings die Daten zur Zytotoxizität der Methylester **10g** und **10k** bzw. Ethylester **10h** und **10i**, so erweisen sich die Ethylester als die offensichtlich günstigere Variante, da sie um einen Faktor von mindestens 50 weniger toxisch auf Makrophagen wirken. Betrachtet man weiter die Verbindungen **10h** und **10i**, die sich lediglich in der Position der Nitro-Funktion am Aromaten unterscheiden, so ist zu erkennen, dass die Aktivitäten an Trypanosomen vergleichbar sind, die Toxizität an Makrophagen der 3-Nitro- im Vergleich zur 4-Nitroverbindung jedoch um mindestens das sechsfache geringer ist. Somit scheint diese Art Aromat von Vorteil für eine geringe Aktivität an Makrophagen zu sein. Auch hier sollten für die Verbindungen mit IC₅₀-Werten (Makrophagen) über 100 µM die tatsächlichen Werte bestimmt werden, um die für eine geringe Zytotoxizität günstigsten Substituenten herauszufinden.

7.1.3 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester

Bei den 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylestern handelt es sich in Bezug auf die inhibitorische Aktivität auf das Trypanosomenwachstum um die aktivsten aller synthetisierten Substanzen. Sie liegen im submikromolaren Bereich von Suramin-Na und Ciclopiroxolamin (vgl. Tabelle 18).



Substanz	R ¹	R ²	IC ₅₀ -Wert [µM] <i>Trypanosoma brucei brucei</i> (48 h)	IC ₅₀ -Wert [µM] Makrophagen (48 h)
11a	Benzyl	2-Pyridyl	1.37	32.78
11b	4-Methylbenzyl	2-Pyridyl	0.47	35.20
11c	4-Cl-benzyl	2-Pyridyl	0.32	29.59
11d	4-Methoxybenzyl	2-Pyridyl	0.43	29.86

Tabelle 18 IC₅₀-Werte der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester nach 48 h auf *Trypanosoma brucei brucei* TC221 und Makrophagen

Geht man davon aus, dass der Einfluss des Stickstoff-Substituenten auf die Aktivität der Monoester-Verbindungen so gering ist wie bei den Diester-Verbindungen, so lässt sich im direkten Vergleich sagen, dass für die 10- bis 100-fach gesteigerte Aktivität maßgeblich die fehlende, zweite Esterfunktion verantwortlich ist. Unter 7.1.2 wurde außerdem für die Diester-Verbindungen die Beobachtung beschrieben, dass Nitroaromaten und Phenyl-Substituenten in Position 2 und 6 im Vergleich zu 2-Pyridyl-Resten einen erheblichen Anteil zu der hohen Aktivität beitragen. Vorausgesetzt, diese Eigenschaft ist auch auf die Monoester-Verbindungen übertragbar, so sind durch das Ersetzen der 2-Pyridyl-Reste durch Nitro- bzw. Phenylaromaten eventuell zukünftig Substanzen möglich, die eine weitere Wirksteigerung zeigen.

Der Quotient von Zytotoxizität/trypanozide Aktivität ergibt für die Verbindungen **11c**, **11d** und **11b** einen Faktor von nahezu 100. Das weist darauf hin, dass dieser Substanztyp eine interessante Struktur für die Arzneistoffentwicklung darstellt. Die Zytotoxizität der bislang hergestellten Verbindungen ist im Hinblick auf die Erkenntnisse aus den Untersuchungen der Diester-Verbindungen eventuell noch verbesserungsfähig. Wie dort beschrieben, weisen die Ethylester-Derivate bessere toxikologische Eigenschaften auf, sind aber gleichzeitig nicht weniger wirksam. Auch die erwähnten günstigen Eigenschaften der 3-Nitrophenyl-Reste lassen den Schluss zu, dass diese in Monoester-Verbindungen eingeführt, neben einer möglicherweise höheren Wirkstärke auch ein noch geringeres zytotoxisches Potential aufzeigen könnten.

Aus der Kombination der geschilderten Ergebnisse aus den pharmakologischen Untersuchungen an Trypanosomen ergibt sich der in Abbildung 46 schematisch zusammengefasste Vorschlag für zukünftige Strukturvariationen von Monoethylester-Derivaten, die möglicherweise in ihren toxikologischen und inhibitorischen Eigenschaften bessere Ergebnisse liefern.

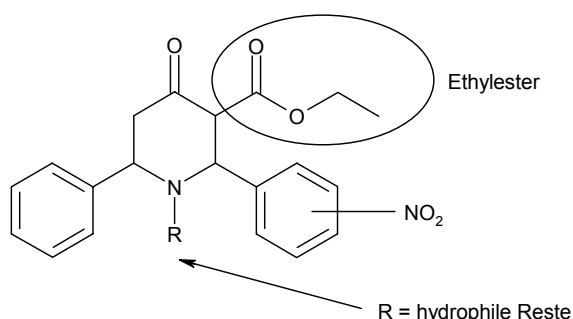


Abbildung 46 Weitere mögliche Strukturvarianten der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäure-methylester

7.2 Untersuchung an *Plasmodium falciparum*

Die Untersuchungen an Plasmodien wurden vom Institut für Medizinische Parasitologie, Universität Bonn, durchgeführt.

7.2.1 *In-vitro*-Untersuchung

Als Modell wurde der chloroquinsensitive Stamm *Plasmodium falciparum* NF54 verwendet, der nach Traeger et al.⁷⁸ und Moloney et al.⁷⁹ in humanen Erythrozyten kultiviert wurde. Bei einer auf ca. 0.5 % eingestellten Parasitämie (Anteil parasitenhaltiger Erythrozyten) werden die Kulturen auf 12-Well-Mikrotiterplatten aliquotiert, mit RPMI-Medium 1:10 verdünnt, mit Inhibitor versetzt und bei 37 °C inkubiert. Die Testsubstanzen werden in DMSO gelöst und zunächst in einer Konzentration von 20 µM dem Medium zugesetzt. Ein Inhibitorexperiment wird über 96 h durchgeführt, wobei täglich vierfach das Ausmaß der Parasitämie ermittelt wird. Die Anzahl der infizierten Zellen wird nach Anfärben mit Giemsa mikroskopisch durch Auszählen von 1000 Erythrozyten bestimmt. Als Kontrollexperiment wird eine unbehandelte Probe untersucht. Zeigt ein Inhibitor in der untersuchten Konzentration von 20 µM nach vier Tagen eine Hemmung des Plasmodienwachstums, so wird der Versuch unter den gleichen Bedingungen wie oben beschrieben wiederholt. Statt 20 µM Konzentration wird eine Verdünnungsreihe der Inhibitorlösung eingesetzt und dessen IC₅₀-Wert mittels linearer Regression bestimmt.

Zum Vergleich der erhaltenen Daten zur inhibitorischen Aktivität sind nachfolgend die IC₅₀-Werte der als DHH-Inhibitoren identifizierten Verbindungen Ciclopiroxolamin und L-Mimosin angegeben.

Vergleichssubstanz	IC ₅₀ [µM] <i>Plasmodium falciparum</i>
Ciclopiroxolamin	8.2
L-Mimosin	32

Tabelle 19 IC₅₀-Werte der Vergleichssubstanzen Ciclopiroxolamin und L-Mimosin

7.2.1.1 Spiroverbindungen

Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X	<i>In-vitro</i> - Aktivität an <i>Plasmodium</i> <i>falciparum</i>	IC ₅₀ [µM] <i>Plasmodium</i> <i>falciparum</i>
7g	H	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂	–	n.d.
7h	H	Benzyl	Benzyl	H	CH ₂	–	n.d.
8a	CH ₃	H	Phenyl	H	C=O	–	n.d.
8b	CH ₃	H	Benzyl	H	C=O	–	n.d.
9b	CH ₃	H	Benzyl	C ₂ H ₄ OH	C=O	–	n.d.
9c	CH ₃	H	Benzyl	4-Nitrobenzyl	C=O	+	18.4
7i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂	–	n.d.
8i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	C=O	–	n.d.
9a	CH ₃	4-Nitrobenzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O	+	23.1
8c	C ₂ H ₅	H	Phenyl	H	C=O	–	n.d.
8d	C ₂ H ₅	H	Benzyl	H	C=O	–	n.d.
8k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	H	C=O	–	n.d.
9k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O	–	n.d.
9d	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Benzyl	C=O	–	n.d.
9e	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylethyl	C=O	–	n.d.
9f	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylpropyl	C=O	+	23.1
8e	C ₃ H ₇	H	Phenyl	H	C=O	–	n.d.
8f	C ₄ H ₉	H	Phenyl	H	C=O	–	n.d.

Tabelle 20 *In-vitro*-Effekte der Spiroverbindungen auf Pf NF54 (Konzentration jeweils 20 µM; + = Hemmung des Plasmodienwachstums; – = keine Hemmung des Plasmodienwachstums; n.d. = nicht bestimmt)

Wie Tabelle 20 zu entnehmen ist, zeigen lediglich drei der getesteten Spiroverbindungen eine inhibitorische Aktivität auf das Plasmodienwachstums. Die Substanzen **9a**, **9c** und **9f** sind in Abbildung 47 dargestellt. Dort ist auch eine Graphik abgebildet, die den Einfluss dieser drei Verbindungen auf die Parasitämie beschreibt. Im Vergleich zur Kontrolle, bei der nach vier Tagen die Parasitämie auf über 4 % steigt, sind die inhibitorisch aktiven Verbindungen **9a**, **9c** und **9f** in der Lage, die Zahl der infizierten Erythrozyten unterhalb von 1.25 % zu halten. Bei **9c** ist sogar eine nahezu vollständige Beseitigung der Infektion an Tag vier zu beobachten.

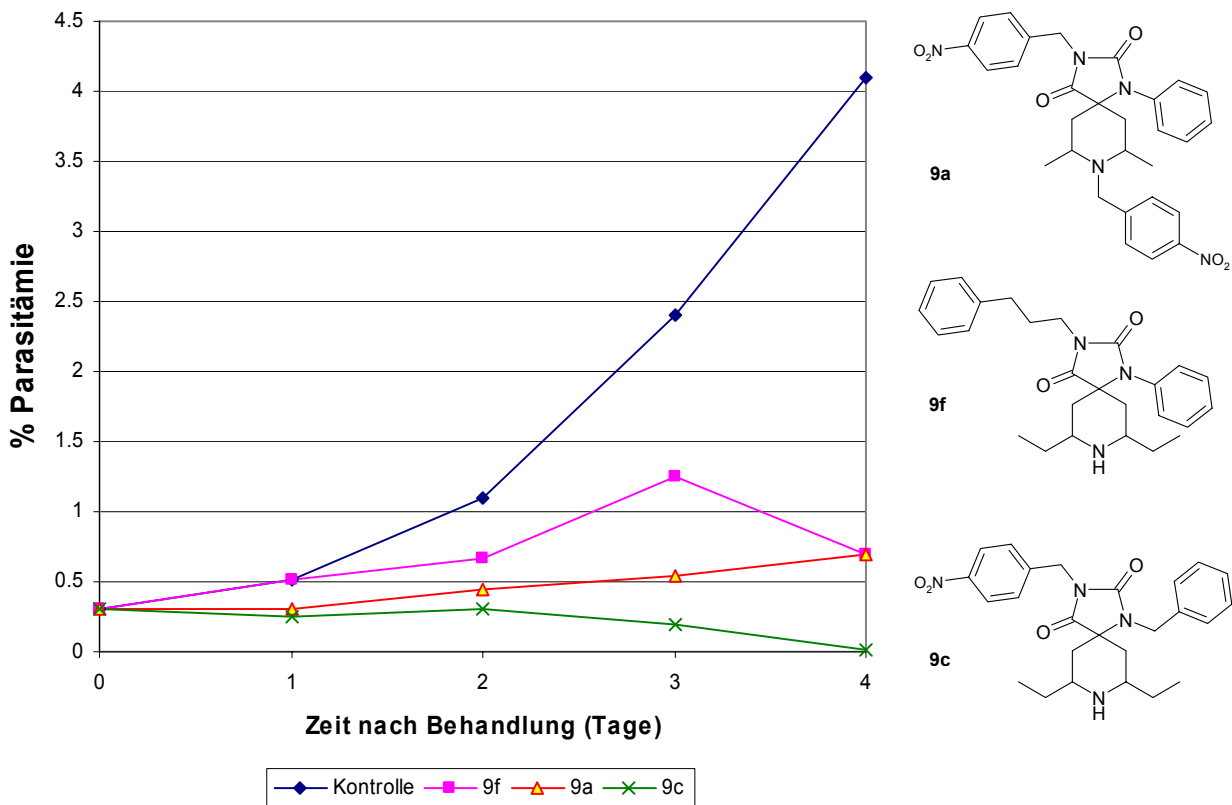


Abbildung 47 Inhibitorische Aktivität der Verbindungen **9a**, **9c** und **9f** auf Pf NF54 (Konzentration jeweils 20 μM)

Bei Verbindung **9c** und **9f** handelt es sich um Derivate, die, wie bereits beschrieben, auch an Trypanosomen eine hohe Aktivität aufweisen. Ausschlaggebend für die Aktivität scheint die Art des aromatischen Substituenten in Position 3 zu sein, da ausschließlich Verbindungen mit 4-Nitrophenyl- oder Phenylpropyl-Rest an N3 eine Inhibition zeigen. Die Ausnahme stellt hier Verbindung **9k** dar, die trotz 4-Nitrophenyl-Substitution an N3 keine inhibitorischen Eigenschaften besitzt. Demzufolge ist offensichtlich auch der Substituent an N8 von Bedeutung für die Aktivität. Wird der hier vorliegende Benzylrest an N8 durch eine 4-Nitrophenyl-Gruppe ausgetauscht (Verbindung **9a**), so liegt wiederum eine aktive Substanz vor.

7.2.1.2 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester

Die inhibitorisch aktiven Verbindungen **10h**, **10i** und **10k** und deren Einfluss auf den Anteil der infizierten roten Blutkörperchen sind in Abbildung 48 dargestellt. Alle drei Substanzen zeigen eine Hemmung der Parasitenwachstums nach vier Tagen, wobei der Wert bei allen höchstens 0.5 % beträgt. Beim Kontrolllexperiment liegt der Wert zu diesem Zeitpunkt bei bereits über 2.5 %. Verbindung **10h** ist sogar in der Lage, die Parasitämie vollständig zu beseitigen.

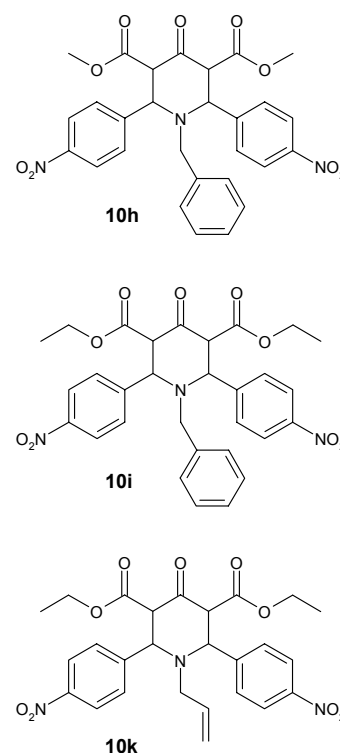
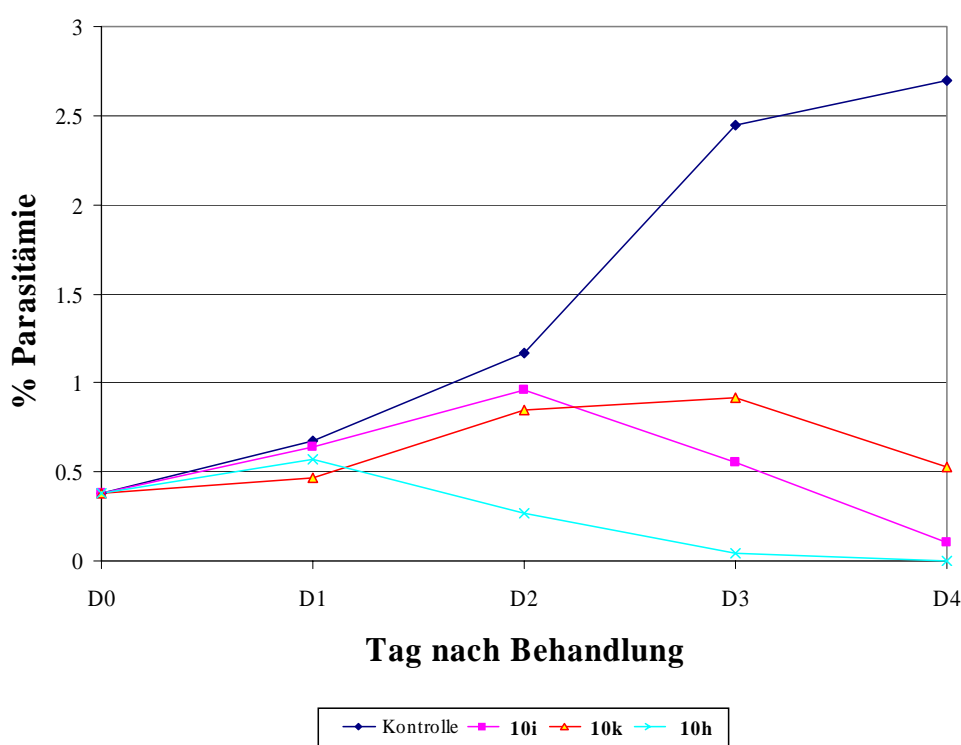


Abbildung 48 Inhibitorische Aktivität der Verbindungen **10h**, **10i** und **10k** auf Pf NF54 (Konzentration jeweils 20 μM)

Wie Tabelle 21 zu entnehmen ist, wirken alle restlichen Derivate in dieser Konzentration nicht hemmend auf das Plasmodienwachstum. Auffällig ist, dass sich unter den aktiven Verbindungen ausschließlich Derivate befinden, die in Position 2 und 6 mit 4-Nitrophenyl-Resten substituiert sind. Für eine Aktivität ist also offensichtlich diese Art aromatischer Rest erforderlich, da alle 2-Pyridyl-substituierten Verbindungen unwirksam sind. Auch die Position der Nitro-Funktion scheint von Bedeutung, da die 3-Nitro- anstelle einer 4-Nitro-Substitution

bereits zu inaktiven Substanzen führt (vgl. Verbindungen **10h** und **10l**). Die Frage, ob die Art des Esters eine Rolle für die Aktivität spielt, kann nur spekulativ beantwortet werden, da nur zwei Verbindungen als Ethylester synthetisiert wurden. Dennoch ist auffällig, dass es sich bei zwei von drei aktiven Verbindungen um Ethylester handelt (**10i** und **10k**). Einen weiteren Hinweis, dass möglicherweise Ethylester den Methylestern überlegen sind, gibt der Vergleich von Verbindung **10k** mit **10g**. Die ansonsten gleichen Moleküle unterscheiden sich nur an R³. Der Methylester ist unwirksam.

Substanz	R ¹	R ²	R ³	Aktivität <i>in vitro</i> auf <i>Plasmodium falciparum</i>	IC ₅₀ -Wert [μM]
10a	2-Pyridyl	C ₇ H ₁₄ COOH	CH ₃	n.d.	n.d.
10b	2-Pyridyl	C ₃ H ₆ OH	CH ₃	–	n.d.
10c	2-Pyridyl	H	CH ₃	–	n.d.
10d	2-Pyridyl	C ₂ H ₄ OH	CH ₃	–	n.d.
10e	2-Pyridyl	Allyl	CH ₃	–	n.d.
10f	Phenyl	Allyl	CH ₃	–	n.d.
10g	4-Nitrophenyl	Allyl	CH ₃	–	n.d.
10h	4-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃	+	23.8
10i	4-Nitrophenyl	Benzyl	C ₂ H ₅	+	16.2
10k	4-Nitrophenyl	Allyl	C ₂ H ₅	+	16.8
10l	3-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃	–	n.d.
10m	3-Nitrophenyl	4-Methylbenzyl	CH ₃	–	n.d.
10n	3-Nitrophenyl	4-Methoxybenzyl	CH ₃	–	n.d.

Tabelle 21 *In-vitro*-Effekte der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester auf Pf NF54
(Konzentration jeweils 20 μM; + = Hemmung des Plasmodienwachstums; – = keine Hemmung des Plasmodienwachstums, n.d. = nicht bestimmt)

In zukünftigen Synthesen von Diester-Derivaten sollten daher weitere Verbindungen hergestellt werden, die Ethyl- an R³ und 4-Nitrophenyl-Reste an R¹ besitzen. Die Substitution des Stickstoffs durch hydrophile Reste könnte für eine verbesserte Wasserlöslichkeit sorgen. Welche Rolle er für die Aktivität der Verbindungen übernimmt, kann aus den vorliegenden Ergebnissen nicht entnommen werden.

7.2.1.3 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester

Alle synthetisierten Derivate wurden auf eine *in-vitro*-Aktivität an *Pf NF54* getestet. Lediglich Verbindung **11c** zeigte eine Hemmung des Plasmodienwachstums. Hierfür wurde ein IC_{50} -Wert von 1.4 μ M bestimmt. Da keine weiteren Derivate synthetisiert werden konnten, kann keine abschließende Aussage über eine Struktur-Wirkungs-Beziehung getroffen werden.

Substanz	R	R'	Aktivität <i>in vitro</i>	IC_{50} [μ M]
11a	Benzyl	2-Pyridyl	—	n.d.
11b	4-Methylbenzyl	2-Pyridyl	—	n.d.
11c	4-Cl-benzyl	2-Pyridyl	+	1.4
11d	4-Methoxybenzyl	2-Pyridyl	—	n.d.

Tabelle 22 *In-vitro*-Effekte der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester auf *Pf NF54*

(Konzentration jeweils 20 μ M; + = Hemmung des Plasmodienwachstums; — = keine Hemmung des Plasmodienwachstums, n.d. = nicht bestimmt)

Wie in Abbildung 49 zu sehen ist, handelt es sich bei Verbindung **11c** um eine sehr aktive Verbindung. Schon nach einem Behandlungstag sinkt die Anzahl der infizierten Erythrozyten deutlich. Nach drei Tagen ist keine Parasitämie mehr festzustellen. Dagegen nimmt die Infektion im Kontrollexperiment kontinuierlich zu.

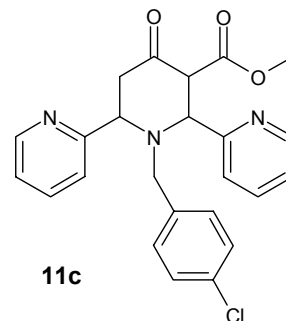
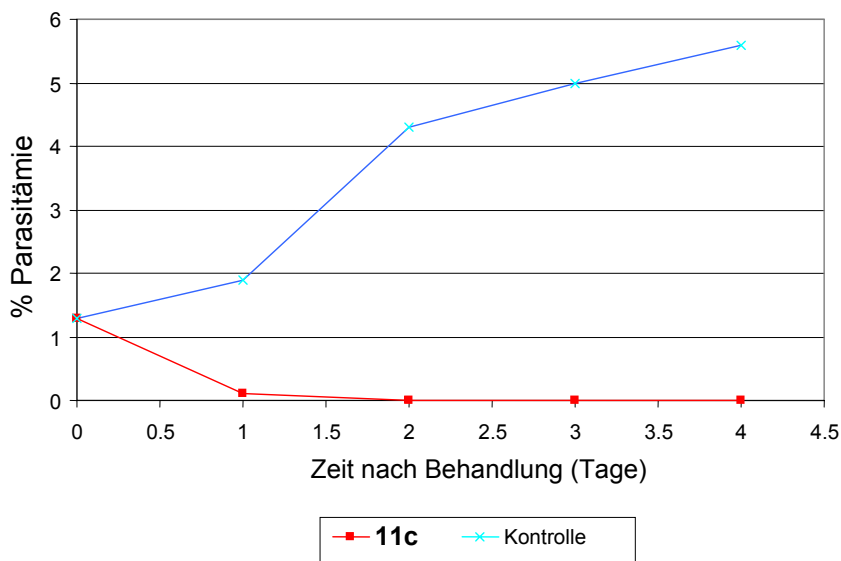


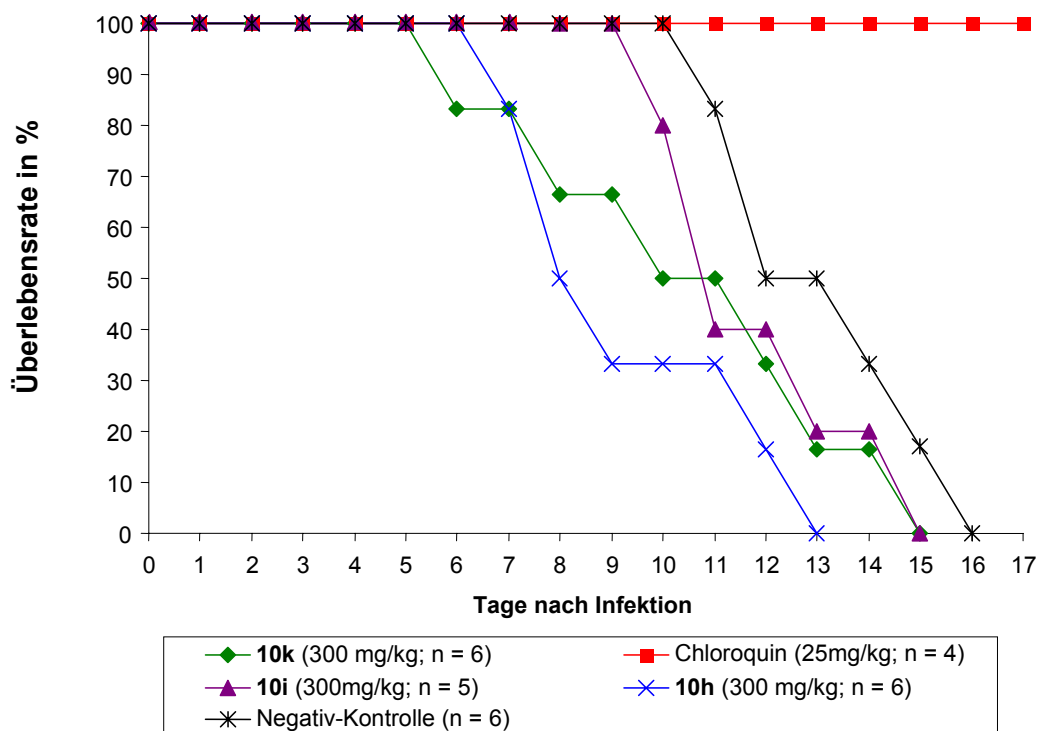
Abbildung 49 *In-vitro*-Effekt von Verbindung **11c** auf Pf NF54 (Konzentration 1.4 μ M)

Die Aktivität dieser Monoester-Verbindung liegt im Vergleich zu den aktiven Diester-Derivaten um ein zehnfaches höher. Möglicherweise stellen diese auch hier, wie bei den Trypanosomen-Untersuchungen, die aktivere Verbindungsklasse dar. Aufgrund der geringen Datenlage kann jedoch keine absolute Aussage getroffen werden.

7.2.2 *In-vivo*-Testung

Für die *In-vivo*-Testung werden mit *Plasmodium berghei* (ANKA-Stamm) infizierte BALB/c-Mäuse verwendet. Die Inhibitorexperimente werden bei einer Parasitämie von 5 % begonnen. Die Inhibitoren werden in einer Dosis von 300 mg/kg (gelöst in 200 μ l PBS mit 10 % (v/v) DMSO) i.p. appliziert. Als Negativ-Kontrolle werden Mäuse mit 10 % DMSO in PBS ohne Inhibitor i.p. behandelt. Als Positiv-Kontrolle wird Mäusen Chloroquin in einer Dosis von 25 mg/kg (gelöst in PBS) i.p. verabreicht. Das Ausmaß der Parasitämie wird mit Beginn der Infektion täglich bestimmt. Nach Anfärben der entnommenen Blutproben mit Giemsa werden 500 Erythrozyten mikroskopisch ausgezählt und der Prozentsatz der infizierten Erythrozyten festgestellt.

Es wurden Experimente mit den Verbindungen **10h**, **10i** und **10k** durchgeführt. Diese hatten, wie unter 7.2.1.2 beschrieben, in den *In-vitro*-Untersuchungen eine gute inhibitorische Aktivität gezeigt. Wie aus Abbildung 50 zu entnehmen ist, zeigen alle drei Derivate jedoch keine Verlängerung der Überlebensrate der Versuchstiere. In Gegenüberstellung zu den Chloroquin-behandelten Tieren, die alle das Experiment überleben, versterben alle übrigen infizierten Mäuse spätestens am Tag 16. Die Tiere unter Behandlung mit den Verbindungen **10h**, **10i** und **10k** sogar ein bis fünf Tage vor den nicht behandelten Kontroll-Tieren.



0

Abbildung 50 Effekte der getesteten Substanzen auf die Überlebensrate der infizierten Mäuse
(n = Anzahl der Tiere)

Woran dies liegt, kann nicht beurteilt werden. Zumindest geht aus Abbildung 51 hervor, dass es nicht durch eine im Vergleich zu den Negativ-Kontroll-Mäusen höhere Parasitämie hervorgerufen wird. Ab Tag 9 liegen die Werte der mit den Verbindungen **10h**, **10i** und **10k** behandelten Tiere teilweise deutlich (ca. 5 - 45 %) unter dem Wert der Negativ-Kontrolle.

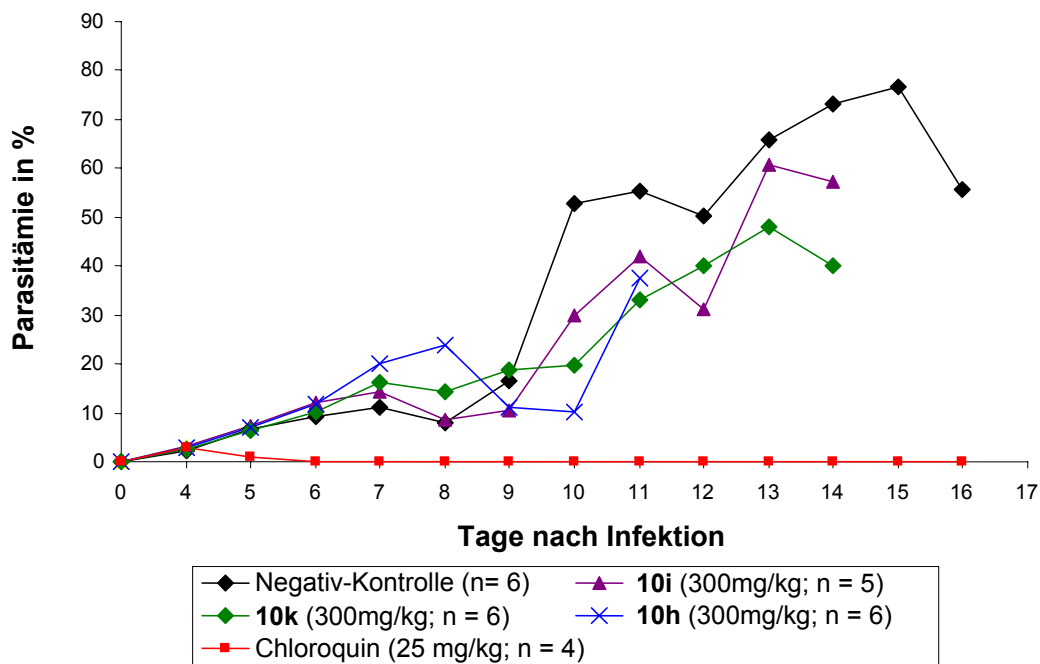


Abbildung 51 Effekte der getesteten Substanzen auf die Parasitämie der infizierten Mäuse ($n =$ Anzahl der Tiere)

7.3 *In-vitro*-Untersuchung an HIV

Die Derivate aus der Reihe der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester, die an Plasmodien als aktive Substanzen identifiziert werden konnten (Verbindungen **10h**, **10i** und **10k**), wurden am Heinrich-Pette-Institut für Experimentelle Virologie und Immunologie der Universität Hamburg (Abt. Zellbiologie und Virologie) auf eine inhibitorische Aktivität an HIV-infizierten Zellen untersucht.

Die Experimente wurden mit den Viren-Stämmen *HIV-1 BaL* (langsam replizierend) und *HIV-1 NL4/3* (aggressiv replizierend) durchgeführt. Die damit infizierten Zellen der humanen T-Zelllinie *PM1* werden aliquotiert (5×10^5 /ml) und in *RPMI*-Medium, das in verschiedenen Konzentrationen den in DMSO gelösten Inhibitor enthält, kultiviert. Als Kontrolle wird eine Zellsuspension mit DMSO ohne Inhibitor verwendet. Die Hemmung der Virusreplikation wird für *HIV-1 BaL* an Tag 4, 7, 11, 14 und 18 nach Infektion und für *HIV-1 NL4/3* an Tag 3, 6 und 9 nach Infektion mittels Alamar-Blue-Assay bestimmt.

Um die Zytotoxizität der Verbindungen zu bestimmen, werden nichtinfizierte *PM1*-Zellen mit den gleichen Konzentrationen an Inhibitorlösung wie in den Experimenten mit den Viren-Stämmen versetzt und kultiviert. Die Auswertung erfolgt ebenfalls mittels Alamar-Blue-Assay an Tag 3, 6, 9 und 13 nach Inkubation.

7.3.1 *HIV-1 BaL* (langsam replizierend)

In Tabelle 23 sind die Ergebnisse aus der pharmakologischen Untersuchung der Verbindungen **10h**, **10i** und **10k** zusammengefasst.

Substanz	Konzentration [µM]	Effekt <i>in vitro</i>
10h	1	(+)
10i	1	(+)
10k	1	—
10k	5	+

Tabelle 23 *In-vitro*-Effekte der untersuchten 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonyl-diester auf *HIV-1 BaL* ((+) = schlechte Hemmung der Virusreplikation; + = Hemmung der Virusreplikation; — = keine Hemmung der Virusreplikation)

Die Substanzen zeigen bei einer Konzentration von 1 µM keine oder lediglich eine schlechte Hemmung der Virusvermehrung. Da nur Verbindung **10k** bei einer Konzentration von 5 µM keine zytotoxischen Effekte besitzt, konnte in diesem Bereich ein weiteres Experiment durchgeführt werden. Hier zeigte sich eine gute Inhibition der Replikation. Die gesamten Ergebnisse sind in der nachfolgenden Abbildung 52 graphisch dargestellt.

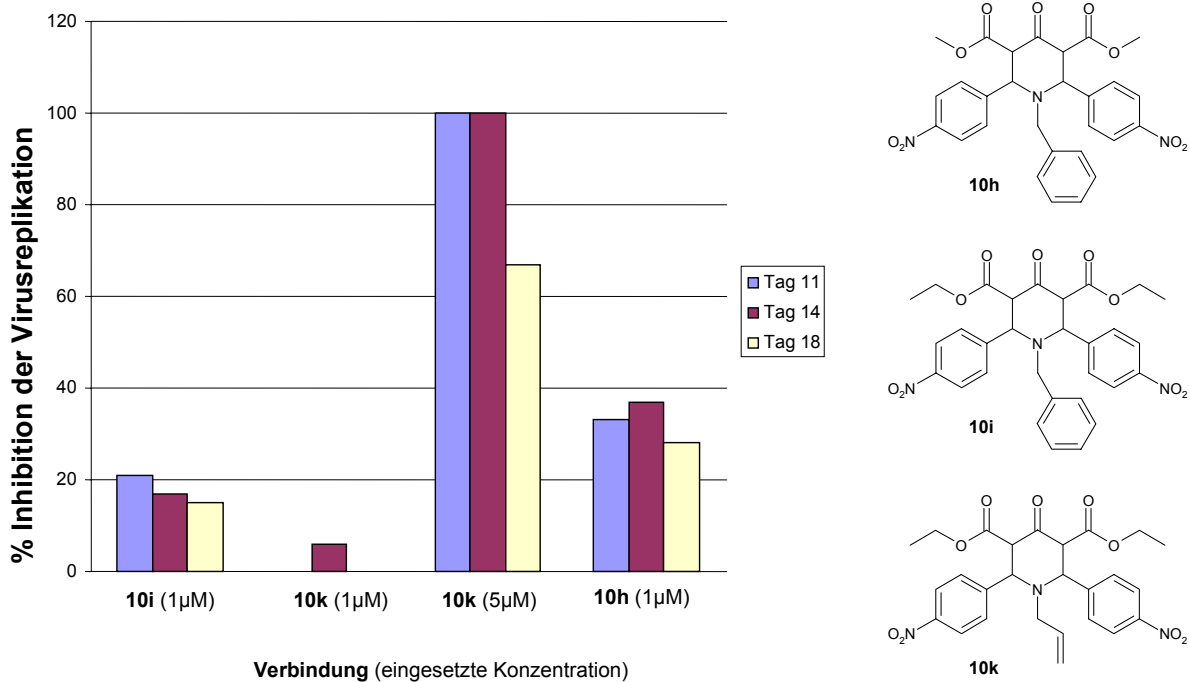


Abbildung 52 Graphische Darstellung der In-vitro-Effekte auf HIV-1 BaL

7.3.2 HIV-1 NL4/3 (aggressiv replizierend)

Da in den Tests an *HIV-1 BaL* lediglich Verbindung **10k** eine gute Inhibition der Virusreplikation zeigte, wurden mit dieser Substanz weitere Untersuchungen in den Konzentrationen 2, 4 und 6 μM am aggressiv replizierenden Stamm *HIV-1 NL4/3* durchgeführt. Die Ergebnisse in Abbildung 53 zeigen, dass eine 100 %ige Hemmung schon ab Tag 6 mit einer Konzentration von 6 μM zu erreichen ist. Dagegen ist aus den Experimenten mit 2 und 4 μM ersichtlich, dass die Hemmung hierdurch nicht vollständig möglich ist, aber keine zeit- und konzentrationsabhängige kontinuierliche Steigerung abzulesen ist.

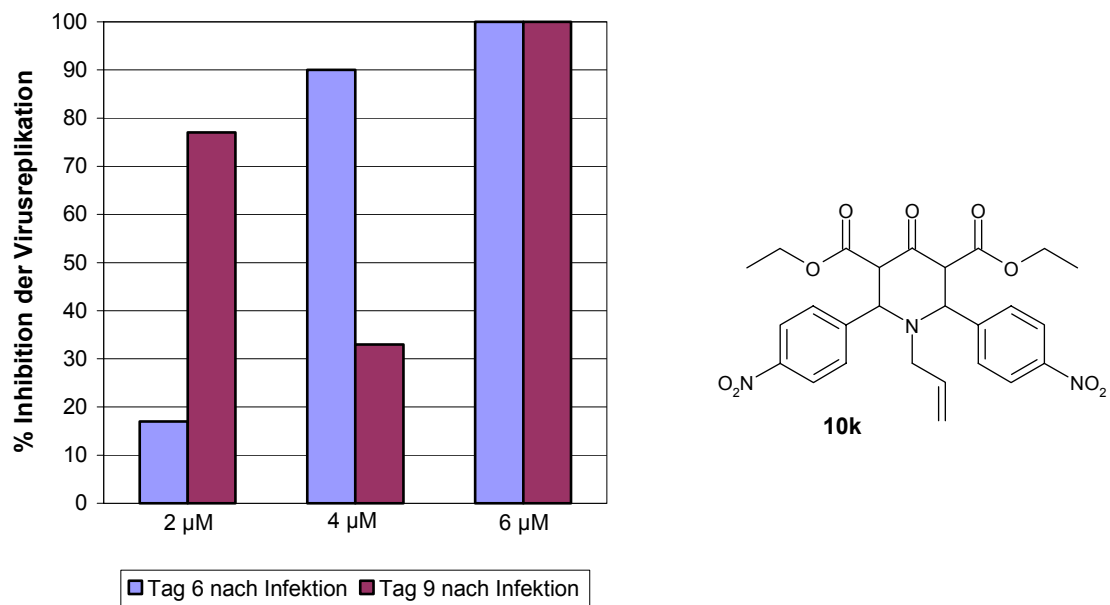


Abbildung 53 *In-vitro*-Effekte von Verbindung 10k auf HIV-1 NL4/3

8 Ausblick

Die pharmakologischen Untersuchungen an Trypanosomen und Plasmodien haben ergeben, dass die Monoester-Derivate die besten inhibitorischen Eigenschaften besitzen. Daher sollten vornehmlich Derivate dieses Strukturtyps weiter untersucht werden. In Kombination mit den Ergebnissen aus den Experimenten mit den Diester-Verbindungen sollte es möglich sein, zukünftig Verbindungen zu synthetisieren, die eine noch höhere Aktivität aufweisen. In nahezu allen Fällen scheinen Nitroaromaten für die Aktivität der Moleküle vorteilhaft zu sein. Nitroaromaten erfüllen offensichtlich eine wichtige Funktion für die Wechselwirkungen zwischen Molekül und Zielstruktur. Neben der guten Affinität spielt wahrscheinlich die durch diese Substituenten verbesserte Wasserlöslichkeit eine zusätzliche, wichtige Rolle. In den *In-vivo*-Experimenten hat sich gezeigt, dass das Hauptproblem der *in vitro* aktiven Derivate in der noch immer ungenügenden Löslichkeit und damit schlechten Bioverfügbarkeit liegt. Deshalb sollte bei weiteren Synthesen darauf geachtet werden, diese Eigenschaft weiter zu steigern. Aus den genauen Betrachtungen der Ergebnisse geht hervor, dass der Stickstoffsubstituent für die Aktivität offensichtlich eher von untergeordneter Bedeutung ist. An dieser Stelle kann durch das Einführen von hydrophilen Resten, wie Carbonsäuren oder Alkoholen, möglicherweise eine Zunahme der Wasserlöslichkeit und damit eine Aktivität *in vivo* erreicht werden. Da in den Untersuchungen an Makrophagen die Ethylester-Derivate im Vergleich zu den Methylester-Verbindungen tendenziell geringere zytotoxische Eigenschaften aufweisen, sollten weitere Derivate synthetisiert und pharmakologisch untersucht werden, um die Rolle des Esters in Bezug auf die Zytotoxizität an Makrophagen weiter abklären zu können. Eine zusätzliche Variante wäre das Einführen von noch voluminöseren Resten, wie beispielsweise Isopropyl- oder tert-Butyl-Ester. Die beschriebenen Strukturelemente sind in der nachfolgenden Abbildung 54 zusammengefasst.

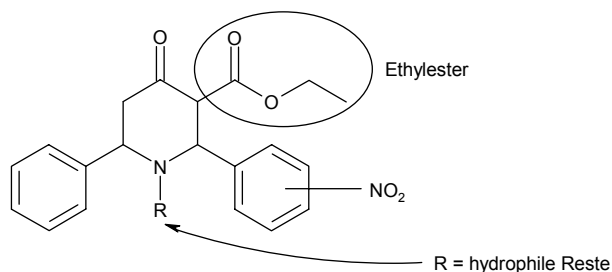


Abbildung 54 Strukturvorschlag für die zukünftige Synthese von 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäureestern

In Bezug auf die Untersuchungen der Spiroverbindungen an Protozoen kann festgehalten werden, dass 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dione im Vergleich zu den 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-4-onen bessere inhibitorische Eigenschaften aufweisen. Auffälligerweise wirken sich auch hier 4-Nitrobenzyl-Reste positiv auf die Aktivität aus. Daher empfiehlt es sich für zukünftige Synthesen, weitere Derivate mit diesem aromatischen Rest herzustellen. Des Weiteren hat sich gezeigt, dass große Alkylreste in Position 7 und 9 vorteilhaft zu sein scheinen. Daher könnte man versuchen, an dieser Stelle noch größere, eventuell verzweigte Alkylreste einzuführen.

Aromat, vorzugsweise 4-Nitrobenzyl

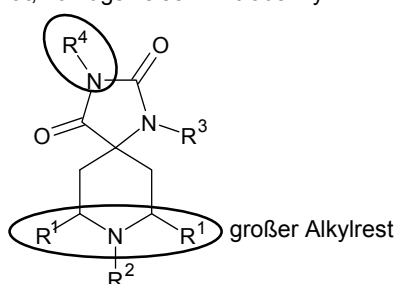


Abbildung 55 Wichtigste Varianten für künftige Synthesen von 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dionen

Eine weitere Abwandlung wäre die Synthese von Verbindungen mit unterschiedlichen Alkylresten in Position 7 und 9. Die dafür erforderlichen, entsprechend substituierten 4-Piperidon-Grundgerüste könnten nach *Edwards et al.* aus einem α,β -ungesättigten Keton, Aldehyd und primärem Amin gewonnen werden.⁸⁰

Da die Aktivität der Spiroverbindungen an den Opioid-Rezeptoren noch unbekannt ist, kann momentan noch keine Aussage über eine Struktur-Optimierung getroffen werden. Hier bleibt offen, ob sich unter den synthetisierten Verbindungen aktive Derivate befinden, und wenn ja, welche Strukturelemente dafür verantwortlich sind.

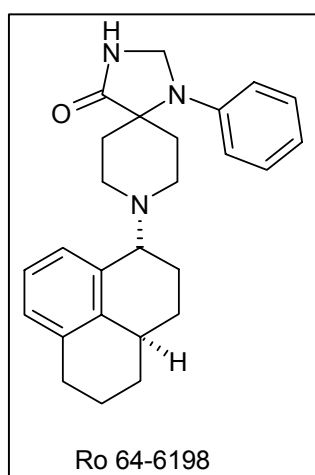
Insgesamt betrachtet sind in nahezu allen inhibitorisch aktiven Verbindungen Nitroaromaten enthalten. Daher wäre zusätzlich in Betracht zu ziehen, Strukturdatenbanken auf Verbindungen zu überprüfen, die dieses Strukturmerkmal enthalten und diese ebenfalls auf ihre pharmakologische Aktivität zu untersuchen.

9 Zusammenfassung

Der Piperidin-Heterozyklus kann als wichtiger, multifunktionaler Arzneistoffbaustein angesehen werden, da eine große Anzahl derzeit eingesetzter Arzneistoffe den Piperidin-Derivaten zuzuordnen ist. Dabei kommen diese Substanzen bei einer Vielzahl verschiedenster Indikationen zum Einsatz.

Aus diesem Grund wurden im Zuge dieser Arbeit ebenfalls Piperidin-Derivate synthetisiert, und zwar zum einen 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester und 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester, die auf ihre antiproliferativen Eigenschaften an Protozoen untersucht werden sollten, und zum anderen Spiropiperidinderivate, die als Liganden des Opioidrezeptors ORL1 synthetisiert worden sind.

Die synthetisierten Spiropiperidin-Derivate basieren auf der Leitverbindung Ro 64-6198, einem selektiven und hochaffinen Agonisten am ORL1-Rezeptor, welcher als viertes Mitglied



der Opioidrezeptor-Familie zugeordnet wurde. Die bisherigen pharmakologischen Untersuchungen konnten ein breites Wirkprofil seines endogenen Liganden Nociceptin aufdecken. Da jedoch aus der Literatur gerade im Bereich der Schmerzmodulation teilweise kontroverse Ergebnisse vorliegen und nur wenig über die Wirkmechanismen bekannt ist, ist die Synthese selektiver Agonisten und Antagonisten notwendig. Ziel dieser Arbeit war es, Derivate der Leitverbindung zu synthetisieren. Die wesentlichste Änderung stellte die Substitution des Piperidin-Grundgerüsts durch Alkylseitenketten dar. Ausgehend von den durch eine

Mannichreaktion mit anschließender Esterspaltung und Decarboxylierung gewonnenen 2,6-Dialkyl-4-piperidonen wurde der Spirozyklus zunächst nach einer Vorschrift von Röver *et al.* aufgebaut. Da der letzte Schritt der Synthese für die 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-4-one nicht oder nur mit sehr schlechter Ausbeute durchzuführen war (Verbindungen **7g-7i**), wurde ein alternativer Ringschluss durchgeführt. So konnten die 1,3,8-Triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dione **8a-8f**, **9a-9f** und **9k** erhalten werden (siehe Tabelle 24). Der Unterschied zu den nach Röver *et al.* synthetisierten Substanzen liegt hier lediglich in einer Carbonyl- statt Methylengruppe in Position 2. Die pharmakologischen Untersuchungen am ORL1-Rezeptor sind jedoch bislang noch nicht abgeschlossen.

Substanz	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X
7g	H	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂
7h	H	Benzyl	Benzyl	H	CH ₂
8a	CH ₃	H	Phenyl	H	C=O
8b	CH ₃	H	Benzyl	H	C=O
9b	CH ₃	H	Benzyl	C ₂ H ₄ OH	C=O
9c	CH ₃	H	Benzyl	4-Nitrobenzyl	C=O
7i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂
8i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	C=O
9a	CH ₃	4-Nitrobenzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O
8c	C ₂ H ₅	H	Phenyl	H	C=O
8d	C ₂ H ₅	H	Benzyl	H	C=O
8k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	H	C=O
9k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O
9d	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Benzyl	C=O
9e	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylethyl	C=O
9f	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylpropyl	C=O
8e	C ₃ H ₇	H	Phenyl	H	C=O
8f	C ₄ H ₉	H	Phenyl	H	C=O

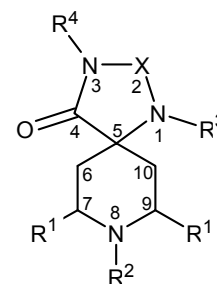
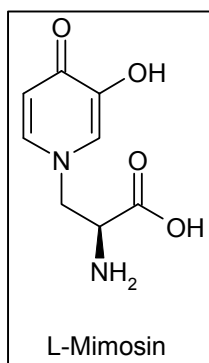


Tabelle 24 Synthetisierte Spiropiperidin-Derivate

Unter den Infektionskrankheiten stellt vor allem Malaria eine große Belastung für die hauptsächlich in tropischen Gebieten lebende Bevölkerung dar. Das gleiche gilt für Trypanosomeninfektionen (afrikanische Schlafkrankheit und Chagas-Erkrankung). Das Hauptproblem in der Therapie dieser Infektionen besteht in der zunehmenden Resistenzbildung der Erreger gegenüber den derzeit eingesetzten Arzneistoffen. Die



Aufklärung des Polyaminstoffwechsels von Protozoen bietet einen neuen Ansatzpunkt, denn die Unterbrechung dieses Metabolismus durch gezielte Hemmung der beteiligten Enzyme kann die Vermehrung der Protozoen verhindern. Polyamine wie Putrescin, Spermin und Spermidin spielen bei der Zellteilung und -proliferation von Eukaryonten eine maßgebliche Rolle. Gleiches gilt für den durch Metabolisierung des Spermidins aktivierten "eukaryotic initiation factor" (eIF5A). Dessen Aktivierung verläuft über die beiden Enzyme Deoxyhypusinsynthase (DHS) und Deoxyhypusin-

hydroxylase (DHH). Für die Pflanzenaminosäure L-Mimosin und das Fungizid Ciclopirox ist

an Plasmodien bereits eine inhibitorische Wirkung der Deoxyhypusinhydroxylase *in vitro* und damit verbunden die Hemmung des Plasmodienwachstums nachgewiesen. Beide entfalten ihre Wirkung über die Chelatisierung des im Enzym vorliegenden Metall-Ions Fe(II)/Fe(III). Da nur L-Mimosin *in vivo* eine inhibitorische Aktivität zeigt, wurde dieses als Leitstruktur für die zu synthetisierenden 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester und 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylester herangezogen. Im Zuge dieser Arbeit konnten diverse Derivate beider Verbindungstypen synthetisiert werden, deren inhibitorische Aktivität *in vitro* an *Plasmodium falciparum* und *Trypanosoma brucei brucei* und deren Zytotoxizität an Makrophagen getestet wurden. Die Synthese erfolgte in beiden Fällen über eine Mannichreaktion. Die 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester **10a-10n** wurden durch die Kondensation von Aceton-1,3-dicarbonsäurediester, aromatischem Aldehyd und primärem Amin im Verhältnis 1:2:1 erhalten (siehe Tabelle 25).

Substanz	R ¹	R ²	R ³
10a	2-Pyridyl	C ₇ H ₁₄ COOH	CH ₃
10b	2-Pyridyl	C ₃ H ₆ OH	CH ₃
10c	2-Pyridyl	H	CH ₃
10d	2-Pyridyl	C ₂ H ₄ OH	CH ₃
10e	2-Pyridyl	Allyl	CH ₃
10f	Phenyl	Allyl	CH ₃
10g	4-Nitrophenyl	Allyl	CH ₃
10h	4-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃
10i	4-Nitrophenyl	Benzyl	C ₂ H ₅
10k	4-Nitrophenyl	Allyl	C ₂ H ₅
10l	3-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃
10m	3-Nitrophenyl	4-Methylbenzyl	CH ₃
10n	3-Nitrophenyl	4-Methoxybenzyl	CH ₃

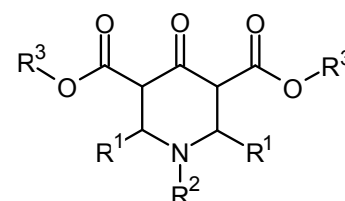


Tabelle 25 Synthetisierte 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester

Die 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäure-methylester **11a-11d** konnten aus dem Anhydrid der Aceton-1,3-dicarbonsäure, Pyridin-2-carbaldehyd und primärem Amin im Verhältnis 1:2:1 gewonnen werden (siehe Tabelle 26).

Substanz	R	Ar
11a	Benzyl	2-Pyridyl
11b	4-Methylbenzyl	2-Pyridyl
11c	4-Cl-Benzyl	2-Pyridyl
11d	4-Methoxybenzyl	2-Pyridyl

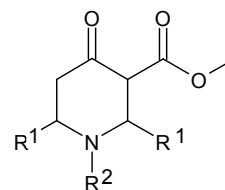


Tabelle 26 Synthetisierte 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäure-methylester

Die IC_{50} -Werte dieser an *Trypanosoma brucei brucei* untersuchten Verbindungen liegen im Bereich der Aktivität der derzeit bei Trypanosomeninfektionen eingesetzten Arzneistoffe Eflornithin-HCl und Nifurtimox für die Verbindungen **10a-10n** bzw. Suramin-Na und Nifurtimox für **11a-11d**. Somit stellen die Monoester-Verbindungen die potentere Substanzklasse dar.

Die an *Plasmodium falciparum* getesteten und als inhibitorisch aktiv identifizierten 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonyldiestern sind die Derivate **10h-10k**. Unter den 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3-carbonsäuremethylestern konnte **11c** als aktive Verbindung identifiziert werden. Diese Monoester-Verbindung weist im Vergleich zu den aktiven Diester-Derivaten eine 10-fach höhere Potenz auf. Daher ist anzunehmen, dass die Monoester-Derivate auch an Plasmodien die aktivere Substanzklasse darstellen.

Die Verbindungen **10h-10k** wurden wegen ihrer guten *In-vitro*-Aktivität an *Plasmodium falciparum* weiter untersucht. Allerdings konnte in den *In-vivo*-Versuchen an *Plasmodium berghei*-infizierten Mäusen keine Hemmung der Parasitämie festgestellt werden.

Da die Vermehrung von HI-Viren ebenfalls von eIF5A abhängig ist und L-Mimosin in der Lage ist, deren Replikation zu hemmen, wurden die Verbindungen **10h-10k** auch an diesen auf ihre inhibitorischen Eigenschaften getestet. Die Experimente ergaben, dass **10k** *in vitro* in der Lage ist, sowohl langsam als auch aggressiv replizierende HI-Viren zu hemmen.

Für die bereits beschriebenen und ursprünglich für den ORL1-Rezeptor hergestellten Spiropiperidinderivate wurden ebenfalls *In-vitro*-Daten zur Wirksamkeit an Protozoen erhoben und die Substanzen **7g-i**, **8f**, **8i**, **8k** und **9c-f**, **9k** als inhibitorisch aktiv an *Trypanosoma brucei brucei* identifiziert. Deren Aktivität liegt im Bereich der Arzneistoffe Eflornithin-HCl und Nifurtimox.

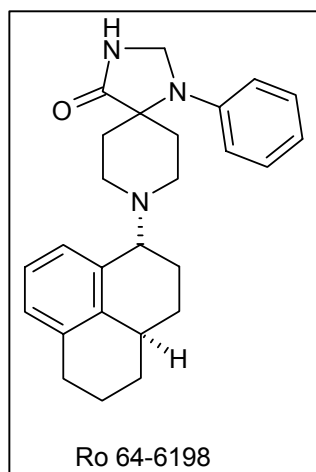
Von den synthetisierten Derivaten hemmen *in vitro* die Verbindungen **9a**, **9c** und **9f** die Proliferation von *Plasmodium falciparum*.

10 Summary

The piperidine heterocycle can be seen as an important and multifunctional drug component as many currently used drugs can be classified as piperidine derivatives. These substances are used in a manifold of pharmacological indications.

Therefore, piperidine derivatives were synthesised within the course of this work, on the one hand 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3,5-dicarboxylates and 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3-carboxylates whose antiproliferative properties against protozoa were investigated, and on the other hand, spiro-piperidines which were synthesised as ligands for the opioid receptor ORL1.

The spiro-compounds planned are based on the lead structure Ro 64-6198, an agonist at the ORL1-receptor with good selectivity and high affinity. This receptor was classified as the



fourth member of the opioid receptor family. The so far investigated pharmacological properties of its endogenous ligand nociceptin showed versatile therapeutic possibilities. However there is too little knowledge about mode of action yet. Especially in terms of pain modulation controversial opinions exist. To clarify these different opinions selective agonists and antagonists are necessary. The aim of this work was to create new derivatives of the lead structure with alkyl residues in position 7 and 9 as the substantial change. By means of a Mannich-condensation followed by saponification and decarboxylation 2,6-dialkyl-4-

piperidones were formed. In the next steps the spirocyclisation was accomplished according to the procedure reported by Röver *et al.* Because the last step of the synthesis of the 1,3,8-triaza-spiro[4.5]decane-4-ones did not yield any or good results (compounds **7g-7i**) a different ring closure was tried. This led to the 1,3,8-triaza-spiro[4.5]decane-2,4-diones **8a-8f**, **9a-9f** and **9k** (see table 1). The difference to the compounds synthesised according to Röver *et al.* is a carbonyl instead of a methylene group at position 2. The pharmacological assays concerning the ORL1-receptor could not be carried out yet.

compound	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X
7g	H	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂
7h	H	Benzyl	Benzyl	H	CH ₂
8a	CH ₃	H	Phenyl	H	C=O
8b	CH ₃	H	Benzyl	H	C=O
9b	CH ₃	H	Benzyl	C ₂ H ₄ OH	C=O
9c	CH ₃	H	Benzyl	4-Nitrobenzyl	C=O
7i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	CH ₂
8i	CH ₃	Benzyl	Phenyl	H	C=O
9a	CH ₃	4-Nitrobenzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O
8c	C ₂ H ₅	H	Phenyl	H	C=O
8d	C ₂ H ₅	H	Benzyl	H	C=O
8k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	H	C=O
9k	C ₂ H ₅	Benzyl	Phenyl	4-Nitrobenzyl	C=O
9d	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Benzyl	C=O
9e	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylethyl	C=O
9f	C ₂ H ₅	H	Phenyl	Phenylpropyl	C=O
8e	C ₃ H ₇	H	Phenyl	H	C=O
8f	C ₄ H ₉	H	Phenyl	H	C=O

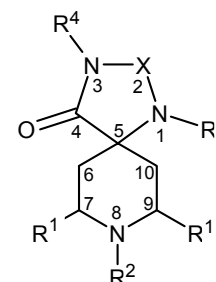
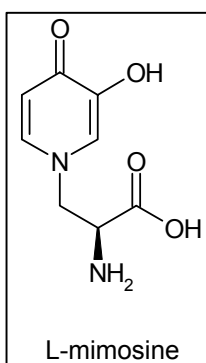


table 1 Synthesised spiroperidines

Among infectious diseases, malaria represents the main burden for the population in tropical areas. Besides this, trypanosomal infections like African trypanosomiasis and chagas disease also turn out to be difficult in therapy. The major problem is increasing resistance of the protozoan organisms against current therapeutics.

To solve this problem there are great efforts in finding new drug targets. A new strategy is to elucidate the polyamine metabolism of protozoa. By interrupting this pathway by specific



inhibition of involved enzymes it is possible to stop protozoan growth.

Polyamines like spermine, spermidine and putrescine play an important role in cell differentiation and proliferation within all eukaryotes. The *eukaryotic initiation factor eIF5A* which is activated by spermidine metabolism is also important in this field. Its activation is catalysed by *deoxyhypusine synthase (dhs)* and *deoxyhypusine hydroxylase (dhh)*.

The plant amino acid L-mimosine and the fungicide ciclopirox both inhibit *dhh in vitro* and due to this protozoan growth. The effect is caused by

building a chelate with the enzyme's metal-ion Fe(II)/Fe(III). As only L-mimosine showed good inhibitory qualities in the *in vivo* experiments, we used L-mimosine as the lead structure for the synthesis of 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3,5-dicarboxylates and 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3-carboxylates. In both cases several compounds have been prepared by means of a Mannich-condensation. The pharmacological experiments for inhibitory activity were carried out at *Trypanosoma brucei brucei* and *Plasmodium falciparum* and for cytotoxicity at macrophages. The 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3,5-dicarboxylates **10a-10n** were synthesised from acetone-1,3-dicarboxylic acid dimethyl- or diethylester, aromatic aldehyde and a primary amine at the ratio of 1:2:1 (see table 2).

compound	R ¹	R ²	R ³
10a	2-Pyridyl	C ₇ H ₁₄ COOH	CH ₃
10b	2-Pyridyl	C ₃ H ₆ OH	CH ₃
10c	2-Pyridyl	H	CH ₃
10d	2-Pyridyl	C ₂ H ₄ OH	CH ₃
10e	2-Pyridyl	Allyl	CH ₃
10f	Phenyl	Allyl	CH ₃
10g	4-Nitrophenyl	Allyl	CH ₃
10h	4-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃
10i	4-Nitrophenyl	Benzyl	C ₂ H ₅
10k	4-Nitrophenyl	Allyl	C ₂ H ₅
10l	3-Nitrophenyl	Benzyl	CH ₃
10m	3-Nitrophenyl	4-Methylbenzyl	CH ₃
10n	3-Nitrophenyl	4-Methoxybenzyl	CH ₃

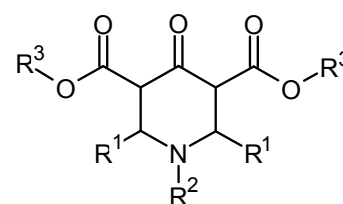


table 2 Synthesised 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3,5-dicarboxylates

2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3-carboxylates **11a-11d** were prepared from the anhydride of acetone-1,3-dicarboxylic acid, pyridine-2-carbaldehyde and primary amine at the ratio 1:2:1 (see table 3).

compound	R	Ar
11a	Benzyl	2-Pyridyl
11b	4-Methylbenzyl	2-Pyridyl
11c	4-Cl-Benzyl	2-Pyridyl
11d	4-Methoxybenzyl	2-Pyridyl

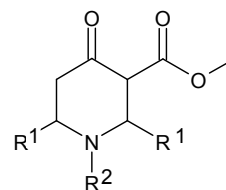


table 3 Synthesised 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3-carboxylates

The IC₅₀ values against *Trypanosoma brucei brucei* acquired for **10a-10n** are comparable to the commonly used antitrypanosomal drugs eflornithin-HCl and nifurtimox. Those acquired for **11a-11d** are similar to suramine-Na and nifurtimox. Therefore the monoesters are presumably the more active class of compounds.

Further investigation with *Plasmodium falciparum* showed that the 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3,5-dicarboxylates **10h-10k** have inhibitory effects. Among the 2,6-diaryl-4-oxo-piperidine-3-carboxylates only compound **11c** could be identified as an active inhibitor. This monoester derivative shows a ten-fold higher potency in comparison to the diesters and presumably represents the more potent class of compounds. This finding corresponds with the experiments with Trypanosomes.

Because of their good inhibitory qualities *in vitro* at *Plasmodium falciparum* the compounds **10h-10k** were analysed at *Plasmodium berghei* infected mice *in vivo*. But no inhibitory effect could be detected.

Replication of HI-viruses is also dependent on *eIF5A*. As L-mimosine can inhibit their growth, the activity of the compounds **10h-10k** were analysed in this field. **10k** showed inhibitory properties *in vitro* at two types of HI-viruses: slow and aggressive growing species.

The spiropiperidines which were primarily synthesised for the ORL1-receptor were analysed in *in vitro* experiments with protozoa. The results demonstrate that the compounds **7g-i**, **8f**, **8i**, **8k** and **9c-f**, **9k** are inhibitors of *Trypanosoma brucei brucei*. Their activity is comparable to the drugs eflornithine-HCl and nifurtimox.

The compounds **9a**, **9c** und **9f** inhibit growth of *Plasmodium falciparum in vitro*.

11 Experimenteller Teil

11.1 Allgemeine Angaben

Die angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert und wurden mit einer Schmelzpunktapparatur MPD350:BM 3.5 (Sanyo Gallenkamp BV, Holland) gemessen.

^1H -NMR-Spektren (400.132 MHz) wurden mit einem Bruker Kernresonanzspektrometer Avance 400 (Bruker BioSpin MRI GmbH, Ettlingen, Deutschland) aufgenommen. Als interner Standard wurde zur Kalibrierung der Mittelpunkt des deuterierten Lösungsmittelsignals verwendet (CDCl_3 : 7.26 ppm; DMSO-d_6 : 2.50 ppm; MeOD: 3.31 ppm).

^{13}C -NMR-Spektren (100.623 MHz) wurde ebenfalls mit einem Bruker Kernresonanzspektrometer Avance 400 gemessen. Als interner Standard wurde der Mittelpunkt der deuterierten Lösungsmittelsignale verwendet (CDCl_3 : 77.16 ppm; DMSO-d_6 : 39.52 ppm; MeOD: 49.00 ppm).

Für die spektroskopischen Daten wurden folgende Abkürzungen verwendet:

s = Singulett; d = Dublett; dd = Dublett von Dublett; ddd = Doppeltes Dublett von Dubletts; t = Triplett; dt = doppeltes Triplett; q = Quartett; quin = Quintett; br = breites Signal; m = Multiplett; Cq = quartärer Kohlenstoff; C/H_{ar} = aromatischer Kohlenstoff/Wasserstoff

IR-Spektren wurden mittels einer ATR-Einheit mit einem Biorad-PharmalyzIR FT-IR-Spektrometer (Digilab GmbH, Krefeld, Deutschland) aufgenommen. Die Spektren der Nitrilverbindungen (**5a-5k**) wurden am gleichen Gerät mittels KBr-Platten aufgenommen.

Zur Reaktionskontrolle wurde Dünnschichtchromatographie mit DC-Platten, ALOX-25 UV₂₅₄, pH 9, Macherey und Nagel, Düren, Deutschland verwendet.

Zur Aufreinigung der Produkte wurde präparative Säulenchromatographie an basischem Aluminiumoxid 90, 0.05-0.2 mm, Macherey und Nagel, Düren, Deutschland durchgeführt.

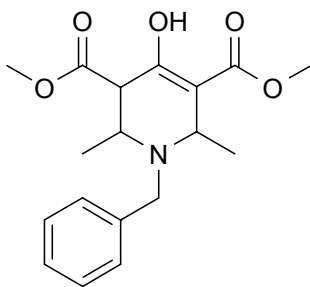
Es wurden für die Synthese getrocknete Lösungsmittel verwendet. Alle Chemikalien wurden in analytisch reiner Qualität eingesetzt. Die benötigten Aldehyde und Amine wurden stets frisch destilliert.

11.2 Synthese der 2,6-Dialkyl-1-benzyl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäure-dimethylester (1a, 1b)

Allgemeine Synthesevorschrift (modifiziert nach^{81,82}):

8.62 g (60 mmol) Benzylamin-HCl werden in 40 ml H₂O/MeOH (1:1) gelöst und zu einem Gemisch aus 8.96 ml (60 mmol) Aceton-1,3-dicarbonsäuredimethylester und 180 mmol Aldehyd langsam zugetropft. Nach 48 h Rühren bei 25 °C wird vom Reaktionsgemisch unter Vakuum das Lösungsmittel abdestilliert. Um überschüssigen Aldehyd vollständig zu entfernen wird der zähe, ölige Rückstand zwei Mal in 50 ml H₂O aufgenommen und im Vakuum abdestilliert. Anschließend werden 50 ml H₂O zugegeben und die Lösung unter Rühren mit conc. HCl auf einen pH-Wert von 1 eingestellt. Es wird drei Mal mit 50 ml Diethylether ausgeschüttelt und die organische Phase verworfen. Unter starkem Rühren wird zur wässrigen Phase in kleinen Portionen K₂CO₃ zugegeben (starke Gasentwicklung!). Während des Alkalisierens fällt das Produkt als gelblicher Feststoff an und kann abfiltriert und im Vakuum getrocknet werden.

11.2.1 (2*R*,6*S*)-1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-dimethyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1a)



Summenformel:	C ₁₈ H ₂₃ NO ₅
Molare Masse:	333.4 g/mol
Ausbeute:	71 %
Schmelzpunkt:	103-105 °C (97-98 °C) ⁸¹

¹H-NMR (MeOD, δ = ppm, J = Hz)

1.25 (d, 3H, J = 4.0, CH₃); 1.26 (d, 3H, J = 3.8, CH₃); 3.30-3.35 (m, 2H, NCH, CHCOOCH₃); 3.50 (q, 1H, J = 6.7, CqCHCH₃); 3.60-3.67 (m, 1H, CHCHCH₃); 3.74, 3.75 (2s, je 3H, COOCH₃); 3.84 (d, 1H, ²J = 13.9, NCH₂); 7.21-7.33 (m, 5H, CH_{ar})

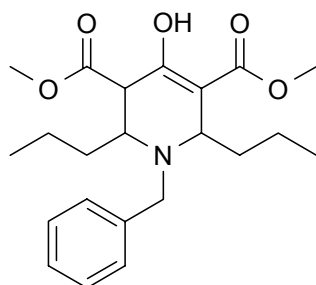
¹³C-NMR (MeOD, δ = ppm)

17.1, 20.6 (**CH₃**); 50.6 (**CH**); 51.1 (**NCH₂**); 51.2, 51.7 (**CH**); 52.2, 52.8 (**COOCH₃**); 102.6 (**C=COH**); 127.9, 129.3, 129.5 (**CH_{ar}**); 141.1 (**C_{qar}**); 167.0 (**C=COH**), 173.1, 173.4 (**C=O**)

IR (cm⁻¹)

2978; 2949; 1736; 1649; 1614; 1435; 1258; 1207; 1140; 737; 699

11.2.2 (2R,6S)-1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1b)



Summenformel:	C ₂₂ H ₃₁ NO ₅
Molare Masse:	389.5 g/mol
Ausbeute:	54 %
Schmelzpunkt:	102-104 °C

¹H-NMR (MeOD, δ = ppm, J = Hz)

0.84 (t, 3H, J = 7.3, CqCHCH₂CH₂CH₃); 1.04 (t, 3H, J = 7.3, CHCHCH₂CH₂CH₃); 1.20-1.32 (m, 2H, CqCHCH₂CH₂CH₃); 1.38-1.51 (m, 2H, CHCHCH₂CH₂CH₃); 1.84-1.96 (m, 1H, CqCHCH₂CH₂CH₃); 1.98-2.17 (m, 1H, CHCHCH₂CH₂CH₃ und 1H, CqCHCH₂CH₂CH₃); 2.26-2.37 (m, 1H, CHCHCH₂CH₂CH₃); 3.66 (s, 3H, CqCOOCH₃); 3.85 (s, 3H, CHCOOCH₃); 3.86-3.92 (m, 1H, CqCHCH₂CH₂CH₃); 4.02-4.14 (m, 1H, NCH₂, 1H, CHCOOCH₃); 4.26-4.35 (m, 1H, CHCHCH₂CH₂CH₃); 4.66 (d, 1H, ² J = 13.1, NCH₂); 7.44-7.52 (m, 5H, CH_{ar})

¹³C-NMR (MeOD, δ = ppm)

13.8 (CqCHCH₂CH₂CH₃); 14.1 (CHCHCH₂CH₂CH₃); 20.2 (CH₂CH₃); 34.8 (CHCHCH₂CH₂CH₃); 37.8 (CqCHCH₂CH₂CH₃); 49.4 (CHCOOCH₃); 52.6 (NCH₂); 52.7 (CqCOOCH₃); 54.2 (CHCOOCH₃); 56.2 (CqCHCH₂CH₂CH₃); 58.5 (CHCHCH₂CH₂CH₃); 97.7 (**C=COH**); 130.3, 131.3, 132.4 (**CH_{ar}**); 166.5 (**C=COH**); 170.4, 170.7 (**C=O**)

IR (cm⁻¹)

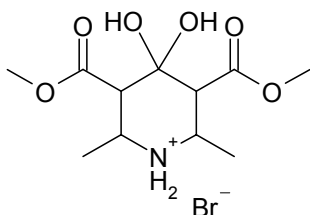
2974; 2951; 1739; 1651; 1614; 1435; 1264; 1207; 1140; 737; 698

11.3 Synthese der 2,6-Dialkyl-3,5-dicarbonsäuredimethylester-4-piperidone ohne Stickstoffsubstituent (2a-2d)

Allgemeine Synthesevorschrift (modifiziert nach^{81,82}):

8,96 g (60 mmol) Aceton-1,3-dicarbonsäuredimethylester und 120 mmol des entsprechenden aliphatischen Aldehyds werden bei 25 °C vorgelegt. 5,88 g (60 mmol) Ammoniumbromid werden in 20 ml MeOH/H₂O (1:1) gelöst und in 30 min dem Ansatz zugetropft. Nach 3 Tagen Rühren bei 25 °C werden zum Reaktionsgemisch weitere 60 mmol des Aldehyds zugegeben und für zwei weitere Tage gerührt. Die Lösung wird unter Vakuum fast bis zur Trockene eingengt und mit wenig Ethylacetat überschichtet. Ausfallendes Produkt wird abfiltriert und mit Ethylacetat gewaschen. Im Produkt enthaltenes nicht umgesetztes Ammoniumbromid wird durch Suspendieren des gewonnenen Feststoffs mit Chloroform abgetrennt und das Produkt aus der organischen Phase durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum isoliert.

11.3.1 (2R,6S)-4,4-Dihydroxy-3,5-bis-methoxycarbonyl-2,6-dimethyl-piperidiniumbromid (2a)



Summenformel:	C ₁₁ H ₂₀ NO ₆ Br
Molare Masse:	342.2 g/mol
Ausbeute:	62 %
Schmelzpunkt:	178-182 °C (Zers.)

¹H-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm, J = Hz)

1.16 (d, 6H, J = 6.6, CHCH₃); 2.81 (d, 2H, ³J_{aa} = 11.6, CHCOOCH₃); 3.57 (m, 2H, CHCH₃); 3.67 (s, 6H, COOCH₃); 5.70, 6.43 (2s, je 1H, OH); 8.83, 9.17 (2s, je 1H, NH₂⁺)

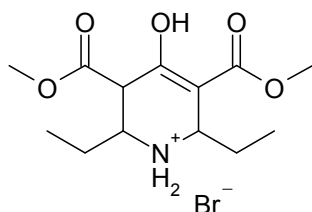
¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm)

16.4 (CHCH₃); 50.4 (CHCH₃); 52.1 (COOCH₃); 55.9 (CHCOOCH₃); 92.3 (HO-C-OH); 168.7 (C=O)

IR (cm⁻¹)

3489; 2943; 2888; 2780; 2736; 2477; 1744; 1719; 1383; 1221; 1024

11.3.2 (2*RS*,6*RS*)-2,6-Diethyl-3,5-bis-methoxycarbonyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-hydrobromid (2b)



Summenformel:	C ₁₃ H ₂₂ NO ₅ Br
Molare Masse:	352.2 g/mol
Ausbeute:	29 %
Schmelzpunkt:	146-150 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

1.01 (t, 3H, J = 7.6, CqCHCH₂CH₃); 1.03 (t, 3H, J = 7.6, CHCHCH₂CH₃); 1.68-1.81, 2.51-2.64 (2m, je 1H, CqCHCH₂CH₃); 2.05-2.24 (m, 2H, CHCHCH₂CH₃); 3.37-3.47 (m, 1H, CHCHCH₂CH₃); 3.56 (d, 1H, ³J_{ae} = 3.5, CHCOOCH₃); 3.81 (s, 3H, CHCOOCH₃); 3.88 (s, 3H, CqCOOCH₃); 4.56-4.65 (m, 1H, CqCHCH₂CH₃); 6.96, 11.19 (2s, je 1H, NH₂⁺); 12.25 (s, 1H, OH)

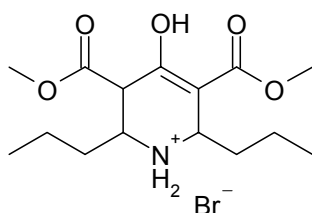
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

8.2 (CqCHCH₂CH₃); 10.0 (CHCHCH₂CH₃); 23.1 (CHCHCH₂CH₃); 25.3 (CqCHCH₂CH₃); 44.9 (CHCOOCH₃); 52.7 (CqCOOCH₃); 53.9 (CqCHCH₂CH₃); 54.2 (CHCOOCH₃); 55.7 (CHCHCH₂CH₃); 97.9 (Cq=C-OH); 164.5 (Cq=C-OH); 168.9 (CHCOOCH₃); 170.1 (CqCOOCH₃)

IR (cm⁻¹)

3081; 2972; 2770; 2693, 2642; 1747; 1685; 1631; 1533; 1437

11.3.3 (2*RS*,6*RS*)-2,6-Dipropyl-3,5-bis-methoxycarbonyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-hydrobromid (2c)



Summenformel:	C ₁₅ H ₂₆ NO ₅ Br
Molare Masse:	380.3 g/mol
Ausbeute:	50 %
Schmelzpunkt:	142-143 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

0.96 (t, 3H, J = 7.2, CqCHCH₂CH₂CH₃); 0.98 (t, 3H, J = 7.2, CHCHCH₂CH₂CH₃); 1.28-1.73 (m, 4H, CH₂CH₂CH₃ und 1H, CHCHCH₂CH₂CH₃); 1.93-2.19 (m, 2H, CqCHCH₂CH₂CH₃); 2.45-2.57 (m, 1H, CHCHCH₂CH₂CH₃); 3.42-3.52 (m, 1H, CHCHCH₂CH₂CH₃); 3.52-3.57 (d, 1H, ³J_{ae} = 2.8, CHCOOCH₃); 3.84 (s, 3H, CqCOOCH₃); 3.89 (s, 3H, CHCOOCH₃); 4.57-4.67 (m, 1H, CqCHCH₂CH₂CH₃); 7.86, 11.45 (2s, je 1H, NH₂⁺); 12.23 (s, 1H, OH)

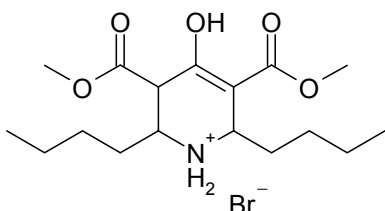
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

13.6, 14.0 (CH₂CH₃); 17.2, 18.8 (CH₂CH₃); 31.4, 34.8 (CH₂CH₂CH₃); 45.5 (CHCOOCH₃); 52.7 (CqCOOCH₃); 52.9 (CqCHCH₂CH₃); 52.6 (CHCOOCH₃); 53.5 (CHCHCH₂CH₃); 98.9 (Cq=C-OH); 164.6 (Cq=C-OH); 169.1 (CHCOOCH₃); 169.8 (CqCOOCH₃)

IR (cm⁻¹)

3064; 2958, 2933; 2756; 2633; 1747; 1678; 1630; 1533; 1437

11.3.4 (2RS,6RS)-2,6-Dibutyl-3,5-bis-methoxycarbonyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-hydrobromid (2d)



Summenformel: C₁₇H₃₀NO₅Br

Molare Masse: 408.3 g/mol

Ausbeute: 24 %

Schmelzpunkt: 144-146 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

0.91 (t, 6H, J = 7.2, CHCH₂CH₂CH₃); 1.19-1.63, 1.97-2.19 und 2.55-2.66 (3m, 12H, CHCH₂CH₂CH₂CH₃); 3.39-3.49 (m, 1H, CHCHCH₂CH₂CH₂CH₃); 3.54-3.58 (d, 1H, ³J_{ae} = 3.3, CHCOOCH₃); 3.85 (s, 3H, CqCOOCH₃); 3.90 (s, 3H, CHCOOCH₃); 4.58-4.71 (m, 1H, CqCHCH₂CH₂CH₃); 6.52, 11.85 (2s, je 1H, NH₂⁺); 12.27 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

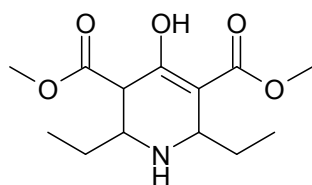
13.8, 13.9 (CH₂CH₃); 22.1, 22.4 (CH₂CH₃); 25.4, 27.5 (CH₂CH₂CH₃); 29.2, 32.3 (CH₂CH₂CH₂CH₃); 44.8 (CHCOOCH₃); 52.8 (CqCOOCH₃); 52.9 (CqCHCH₂CH₂CH₂CH₃);

54.2 (CHCOOCH₃); 54.5 (CHCHCH₂CH₂CH₂CH₃); 98.5 (Cq=C-OH); 164.1 (Cq=C-OH); 170.1 (CHCOOCH₃); 170.3 (CqCOOCH₃)

IR (cm⁻¹)

3080; 2957; 2929; 2864; 2638; 1748; 1666; 1630; 1534; 1440

11.4 (2*RS*,6*RS*)-2,6-Diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbon säuredimethylester (2b-Base)



Summenformel:	C ₁₃ H ₂₁ NO ₅
Molare Masse:	271.3 g/mol
Ausbeute:	97 %

650 mg (1.85 mmol) **2b** werden in 50 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 100 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird noch zwei Mal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Nach Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel unter schwachem Vakuum entfernt. Man erhält die Base als schwach graues, zähes Öl.

Verhältnis Keton : Enol: 1:2 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale CHCOOCH₃)

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

0.84 (t, 3H, J = 7.6, CHCH₂CH₃, Enol); 0.93 (t, 3H, J = 7.5, CHCH₂CH₃, Enol); 0.94 (t, 3H, J = 7.3, CHCH₂CH₃, Keton); 0.96 (t, 3H, J = 7.3, CHCH₂CH₃, Keton); 1.24-1.66 (m, 7H, CH₂CH₃, Keton, CH₂CH₃, Enol); 1.74-1.85 (m, 1H, CH₂CH₃, Enol); 2.61-2.68 (m, 1H, CHCHCH₂CH₃, Enol); 2.84-2.89, 3.06-3.13 (2m, je 1H, CHCH₂CH₃, Keton); 3.22 (dd, 1H, ³J_{ae} = 3.8, ³J = 1.5, CHCOOCH₃, Enol); 3.43 (d, 1H, ³J_{ae} = 3.3, CHCOOCH₃, Keton); 3.58-3.64 (m, 2H, CHCHCH₂CH₃, Enol, CHCOOCH₃, Keton); 3.64, 3.68 (2s, je 3H, COOCH₃, Keton); 3.67, 3.72 (2s, je 3H, COOCH₃, Enol); 11.9 (brs, 1H, OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

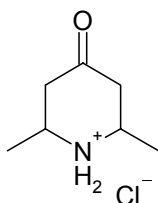
9.3 (CHCH_2CH_3 , Enol); 9.9 (CHCH_2CH_3 , Keton); 11.0 (CHCH_2CH_3 , Enol und CHCH_2CH_3 , Keton); 26.6, 27.9 (CHCH_2CH_3 , Enol); 26.8, 28.3 (CHCH_2CH_3 , Keton); 48.3 (CHCOOCH_3 , Enol); 51.6, 52.2 (COOCH_3 , Enol); 52.0, 52.3 (COOCH_3 , Keton); 53.5 ($\text{CqCHCH}_2\text{CH}_3$, Enol); 56.2 ($\text{CHCHCH}_2\text{CH}_3$, Enol); 60.7, 61.5 (CHCOOCH_3 , Keton); 60.9, 62.2 (CHCH_2CH_3 , Keton); 103.4 ($\text{Cq}=\text{C-OH}$); 166.9 ($\text{Cq}=\text{C-OH}$, Enol); 168.5, 169.8 (COOCH_3 , Keton); 170.8, 172.3 (COOCH_3 , Enol); 200.5 (C=O , Keton)

11.5 Synthese der 2,6-alkylierten 4-Piperidone (3a-3d)

Allgemeine Synthesevorschrift:

90 mmol der entsprechenden unter 8.4 erhaltenen Verbindung werden in 150 ml 37 %iger Salzsäure suspendiert und unter Rückfluss 18 h bei 70 °C gerührt. Nach Abkühlen der Lösung auf 25 °C wird die überschüssige Salzsäure unter Vakuum entfernt. Der erhaltene Feststoff wird über KOH im Exsikkator getrocknet und mit Aceton gewaschen.

11.5.1 (2R,6S)-2,6-Dimethyl-4-oxo-piperidiniumchlorid (3a)



Summenformel:	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{NOCl}$
Molare Masse:	163.7 g/mol
Ausbeute:	95 %
Schmelzpunkt:	227-229 °C (204-205 °C) ⁸²

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , $\delta = \text{ppm}$, $J = \text{Hz}$)

1.36 (d, 6H, CHCH_3 , $J = 6.3$); 2.44 (dd, 2H, CH_2 , $^2J = 15.4$, $^3J_{ae} = 2.8$); 2.62 (dd, 2H, CH_2 , $^2J = 15.4$, $^3J_{aa} = 12.9$); 3.61 (m, 2H, CH); 9.38, 9.46 (2s, je 1H, NH_2^+)

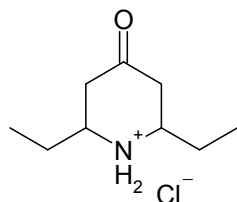
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , $\delta = \text{ppm}$)

18.5 (CHCH_3); 44.2 (CH_2); 50.8 (CH); 202.9 (C=O)

IR (cm^{-1})

2929; 2781; 2723; 2665; 2569; 1726; 1666; 1579; 1451; 1406

11.5.2 (2*R*,6*S*)-/ (2*RS*,6*RS*)-2,6-Diethyl-4-oxo-piperidiniumchlorid (3b)



Summenformel: C₉H₁₈NOCl

Molare Masse: 191.7 g/mol

Ausbeute: 93 %

Schmelzpunkt: 181-183 °C

cis-/*trans*-Isomerie-Verhältnis: 5:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale CH₂C=O)

¹H-NMR (DMSO, δ = ppm, J = Hz)

cis-Isomer: 0.92 (t, 6H, CH₂CH₃, J = 7.6); 1.43-1.98 (m, 4H, CH₂CH₃); 2.45-2.63 (m, 4H, CH₂C=O); 3.54-3.57 (m, CHCH₂CH₃); 8.87-9.23 (m, 2H, NH₂⁺)

trans-Isomer: 0.92 (t, 6H, CH₂CH₃, J = 7.5); 1.43-1.98 (m, 4H, CH₂CH₃); 2.45-2.63 (m, 2H, CH₂C=O); 2.72 (dd, 2H, CH₂C=O, ²J = 15.3, ³J_{ae} = 4.7); 3.61-3.67 (m, CHCH₂CH₃); 9.23-9.32 (m, 2H, NH₂⁺)

¹³C-NMR (DMSO, δ = ppm)

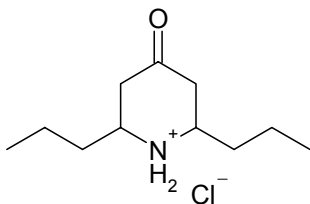
cis-Isomer: 9.2 (CH₂CH₃); 25.4 (CH₂CH₃); 41.8 (CH₂C=O); 56.1 (CHCH₂CH₃); 202.9 (C=O)

trans-Isomer: 9.5 (CH₂CH₃); 24.3 (CH₂CH₃); 41.5 (CH₂C=O); 52.9 (CHCH₂CH₃); 203.5 (C=O)

IR (cm⁻¹)

2929; 2781, 2723; 2665; 2569; 1726; 1666; 1579; 1451; 1406

11.5.3 (2R,6S)-/ (2RS,6RS)-2,6-Dipropyl-4-oxo-piperidiniumchlorid (3c)



Summenformel: C₁₁H₂₂NOCl

Molare Masse: 219.8 g/mol

Ausbeute: 92 %

Schmelzpunkt: 194 °C

cis-/*trans*-Isomerie-Verhältnis: 4:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale **CH₂C=O**)

¹H-NMR (DMSO, δ = ppm, J = Hz)

cis-Isomer: 0.88 (t, 6H, **CH₂CH₃**, J = 7.3); 1.21-1.90 (m, 8H, **CH₂CH₂CH₃**); 2.42-2.52 (m, 2H, **CH₂C=O**); 2.61 (dd, 2H, **CH₂C=O**, ²J = 15.3, ³J_{aa} = 12.8); 3.54-3.65 (m, **CHCH₂CH₂CH₃**); 8.88-9.35 (m, 2H, **NH₂⁺**)

trans-Isomer: 0.88 (t, 6H, **CH₂CH₃**, J = 7.3); 1.21-1.90 (m, 4H, **CH₂CH₂CH₃**); 2.42-2.52 (m, 2H, **CH₂C=O**); 2.72 (dd, 2H, **CH₂C=O**, ²J = 15.4, ³J_{ae} = 4.8); 3.61-3.78 (m, **CHCH₂CH₃**); 9.35-9.48 (m, 2H, **NH₂⁺**)

¹³C-NMR (DMSO, δ = ppm)

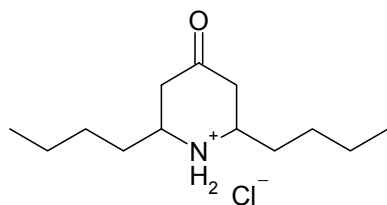
cis-Isomer: 13.5 (**CH₂CH₃**); 17.5 (**CH₂CH₃**); 34.3 (**CH₂CH₂CH₃**); 42.2 (**CH₂C=O**); 54.4 (**CHCH₂CH₃**); 202.8 (**C=O**)

trans-Isomer: 13.6 (**CH₂CH₃**); 17.9 (**CH₂CH₃**); 33.2 (**CH₂CH₂CH₃**); 41.9 (**CH₂C=O**); 51.4 (**CHCH₂CH₃**); 203.5 (**C=O**)

IR (cm⁻¹)

2929; 2791; 1726; 1596; 1408

11.5.4 (2*R*,6*S*)-/ (2*RS*,6*RS*)-2,6-Dibutyl-4-oxo-piperidiniumchlorid (3d)



Summenformel: C₁₃H₂₆NOCl

Molare Masse: 247.9 g/mol

Ausbeute: 90 %

Schmelzpunkt: 212 °C

cis-/*trans*-Isomerie-Verhältnis: 2:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale **CH**CH₂CH₂CH₂CH₃)

¹H-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm, , J = Hz)

cis-Isomer: 0.88 (t, 6H, CH₂CH₃, J = 6.8); 1.19-1.97 (m, 12H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 2.44-2.52 (m, 2H, CH₂C=O); 2.59 (dd, 2H, CH₂C=O, ²J = 15.3, ³J_{aa} = 12.8); 3.47-3.61 (m, CHCH₂CH₂CH₂CH₃); 8.92-9.39 (m, 2H, NH₂⁺)

trans-Isomer: 0.87 (t, 6H, CH₂CH₃, J = 6.7); 1.19-1.97 (m, 12H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 2.44-2.52 (m, 2H, CH₂C=O); 2.71 (dd, 2H, CH₂C=O, ²J = 15.3, ³J_{ae} = 4.7); 3.65-3.72 (m, CHCH₂CH₂CH₂CH₃); 9.39-9.50 (m, 2H, NH₂⁺)

¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm)

cis-Isomer: 13.6 (CH₂CH₃); 21.7, 26.1, 32.0 (CH₂CH₂CH₂CH₃); 42.3 (CH₂C=O); 54.7 (CHCH₂CH₂CH₂CH₃); 202.8 (C=O)

trans-Isomer: 13.6 (CH₂CH₃); 21.7, 26.5, 30.8 (CH₂CH₂CH₂CH₃); 41.9 (CH₂C=O); 51.5 (CHCH₂CH₂CH₂CH₃); 203.5 (C=O)

IR (cm⁻¹)

2928; 2780, 2723; 1726; 1664; 1579; 1448; 1406

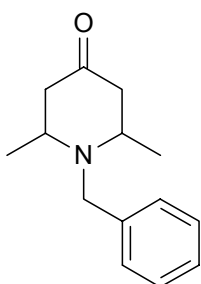
11.6 Synthese der am Stickstoff substituierten 2,6-Dialkyl-4-piperidone (4a-4c)

Allgemeine Synthesevorschrift:

Die Substitution von 20 mmol 2,6-Dialkyl-4-piperidon wird in 50 ml Acetonitril durchgeführt. Unter Verwendung von 6.92 g (50 mmol) K_2CO_3 als Hilfsbase werden 1.8 ml (24 mmol) Benzylbromid zur Reaktionsmischung gegeben und auf 60°C erhitzt. Die Reaktionskontrolle erfolgt mittels DC (bas. Alox/EtOAc 100%).

Nach 16 h wird der Reaktionsansatz abkühlen lassen und filtriert. Um das Produkt vollständig isolieren zu können, wird der zurückbleibende Feststoff in Acetonitril aufgenommen und erneut filtriert. Aus den vereinigten Filtraten erhält man nach Entfernen des Lösungsmittels unter Vakuum das Produkt. Das erhaltene Öl kann ohne weitere Aufreinigung als Rohprodukt für die nachfolgende Synthese eingesetzt werden.

11.6.1 (2*R*,6*S*)-1-Benzyl-2,6-dimethyl-4-piperidon (4a)



Summenformel:	$C_{14}H_{19}NO$
Molare Masse:	217.3 g/mol
Ausbeute:	87 %

1H -NMR ($CDCl_3$, δ = ppm, J = Hz)

1.15 (d, 6H, J = 6.6, CH_3); 2.31-2.37 (m, 4H, $C=OCH_2$); 3.05-3.19 (CH); 3.86 (s, 2H, NCH_2); 7.21-7.26 (m, 1H, CH_{ar}); 7.30-7.35 (m, 2H, CH_{ar}); 7.40-7.45 (m, 2H, CH_{ar})

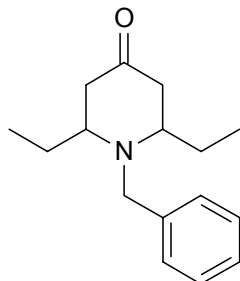
^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ = ppm)

21.6 (CH_3); 47.1 (CH_2); 50.2 (CH_2); 57.2 (CH); 126.5, 127.6, 128.2 (CH_{ar}); 133.5 (Cq); 209.6 (C=O)

IR (cm^{-1})

3028; 2967; 2807; 1713; 1453; 727; 698

11.6.2 (2R,6S)-/ (2RS,6RS)-1-Benzyl-2,6-diethyl-4-piperidon (4b)



Summenformel: C₁₆H₂₃NO
 Molare Masse: 245.4 g/mol
 Ausbeute: 91 %

cis-trans-Isomerie Verhältnis: 2:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale CH₂C=O)

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

cis-Isomer:

0.97 (t, 6H, J = 7.5, CH₂CH₃); 1.36-1.66 (m, 4H, CH₂CH₃); 2.09 (dd, 2H, ²J = 13.9, ³J_{aa} = 11.9, CH₂C=O); 2.40 (dd, 2H, ²J = 13.9, ³J_{ae} = 1.8, CH₂C=O); 2.72-2.82 (m, 2H, CHCH₂CH₃); 3.08 (s, 2H, NCH₂); 7.24-7.50 (m, 5H, CH_{ar})

trans-Isomer:

0.94 (t, 6H, J = 7.3, CH₂CH₃); 1.36-1.66 (m, 4H, CH₂CH₃); 2.20 (ddd, 2H, ³J_{ae} = 1.4, ³J_{aa} = 6.7, ²J = 13.9, CH₂C=O); 2.49 (ddd, 2H, ³J_{ae} = 1.4, ³J_{ee} = 4.7, ²J = 13.9, CH₂C=O); 3.02-3.13 (m, 2H, CHCH₂CH₃); 3.64, 4.02 (2d, 2H, J = 13.9, NCH₂); 7.24-7.50 (m, 5H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

cis-Isomer:

10.0 (CH₃); 29.6 (CH₂CH₃); 47.9 (CH₂); 57.9 (CH₂); 64.6 (CHCH₂CH₃); 126.8, 128.2, 128.3, 129.1, 130.5, 133.3 (CH_{ar} *cis* und *trans*); 139.9 (C_q_{ar}); 209.7 (C=O)

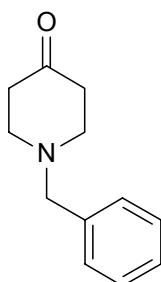
trans-Isomer:

10.7 (CH₃); 25.7 (CH₂CH₃); 42.6 (CH₂); 57.5 (CH₂); 63.2 (CHCH₂CH₃); 126.8, 128.2, 128.3, 129.1, 130.5, 133.3 (CH_{ar} *trans* und *cis*); 141.4 C_q_{ar}; 210.2 (C=O)

IR (cm⁻¹)

3028; 2963; 2874; 2801; 1707; 1453; 731; 698

11.6.3 1-Benzyl-4-piperidon (4c)



Summenformel:	C ₁₂ H ₁₅ NO
Molare Masse:	189.3 g/mol
Ausbeute:	86 %

Dieses Derivat ist zwar kommerziell erhältlich, wurde aber aus 4-Piperidon-HCl nach der beschriebenen Methode synthetisiert.

11.7 Synthese der Nitrilverbindungen (5a-5k)

25 mmol des Piperidons werden in 80 ml Eisessig vorgelegt. Nach Zugabe von 25 mmol des entsprechenden Amins und 3.1 ml (25 mmol) Trimethylsilylcyanid wird der Reaktionsansatz 12 h bei 25 °C gerührt. Zum Beenden der Reaktion wird das Gemisch unter Eiskühlung mit conc. Ammoniak bis pH 11 alkalisiert. Währenddessen darf die Temperatur nicht über -5 °C steigen. Die Lösung wird drei Mal mit 100 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand nach verschiedenen Methoden aufgearbeitet:

Methode A: Das Produkt fällt nach Überschichten mit Diethylether oder t-Butylether sofort aus und kann abfiltriert werden.

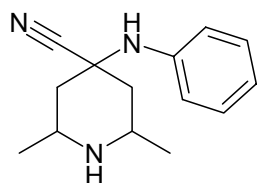
Methode B: Der Rückstand wird mit wenig Diethylether überschichtet und bei -20 °C aufbewahrt. Nach 2-4 d kann das auskristallisierte Produkt abfiltriert und mit Diethylether gewaschen werden. Zusätzlich kann das Produkt über bas. Alox säulenchromatographisch mit Ethylacetat 100 % aufgereinigt und wie beschrieben auskristallisiert werden (R_F-Werte: 0.5-0.9).

Methode C: Der Rückstand kann nicht auskristallisiert werden und wird als zähes Öl für den danach folgenden Syntheseschritt eingesetzt.

Verbindung	Methode	Ausbeute (%)	Smt (°C)
5a	A	71	126-128
5b	C	68	– (Öl)
5c	A	52	142-143
5d	A	47	109-111
5e	A	27	94
5f	B	21	79
5g	B	62	146-148
5h	B	71	168-169
5i	B	74	139-140
5k	B	59	123-125

Tabelle 27 Übersicht über die verwendeten Aufarbeitungsmethoden zur Gewinnung der Nitrilverbindungen **5a-5k**

11.7.1 (2R,6S)-2,6-Dimethyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonitril (**5a**)



Summenformel: $C_{14}H_{19}N_3$
 Molare Masse: 229.3 g/mol
 Ausbeute: 71 %
 Schmelzpunkt: 126-128 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

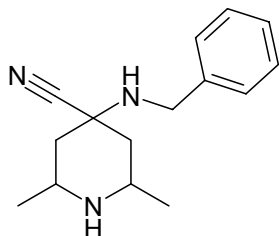
1.16 (d, 6H, J = 6.3, CH_3); 1.27 (dd, 2H, 2J = 12.6, $^3J_{aa}$ = 11.6, CH_2); 1.57 (brs, NH); 2.36 (d, 2H, 2J = 12.6, CH_2); 3.08-3.18 (m, 2H, CH); 3.62 (s, 1H, NH); 6.89-6.97 (t, 3H, J = 8.1, CH_{ar}); 7.22-7.29 (m, 2H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

22.0 (CH_3); 44.2 (CH_2); 48.6 (CH); 54.7 ($C-CN$); 121.1 (CN); 118.3, 121.2, 129.4 (CH_{ar}); 143.4 (Cq_{ar})

IR (cm⁻¹)

3368; 3304; 2965; 2928; 2874; 2228; 1602; 1499; 1317; 1163; 752; 695

11.7.2 (2R,6S)-4-Benzylamino-2,6-dimethylpiperidin-4-carbonitril (5b)

Summenformel: $C_{15}H_{21}N_3$
Molare Masse: 243.4 g/mol
Ausbeute: 68 % (zähes Öl)

Rotationsisomerenverhältnis: 4:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale CH_3)

1H -NMR ($CDCl_3$, δ = ppm, J = Hz)

Isomer A: 1.13 (t, 6H, J = 6.1, $CHCH_3$); 1.22 (dd, 2H, 2J = 12.6, $^3J_{aa}$ = 11.6, CH_2 -Cq); 2.02 (d, 2H, 2J = 12.6, CH_2 -Cq); 3.01-3.11 (m, 2H, CH); 3.91 (s, 2H, $NHCH_2$); 7.24-7.38 (m, 5H, CH_{ar})

Isomer B: 1.04 (t, 6H, J = 6.3, CH_2CH_3); 1.53 (dd, 2H, 2J = 13.9, $^3J_{aa}$ = 10.9, CH_2 -Cq); 1.94 (d, 2H, CH_2 -Cq, 2J = 13.9); 3.15-3.25 (m, 2H, CH); 3.85 (s, 2H, $NHCH_2$); 7.24-7.38 (m, 5H, CH_{ar})

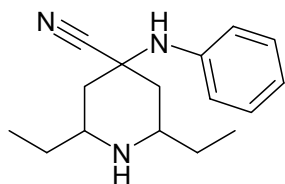
^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ = ppm)

Isomer A: 22.1 (CH_3); 43.6 (CH_2 -Cq); 48.4 ($NHCH_2$); 48.6 (CH); 57.3 (Cq); 122.0 (CN); 127.5, 128.4, 128.6 (CH_{ar}); 139.2 (Cq_{ar})

Isomer B: 22.1 (CH_3); 42.1 (CH_2 -Cq); 48.8 ($NHCH_2$); 45.5 (CH); 54.6 (Cq); 122.3 (CN); 127.5, 128.4, 128.6 (CH_{ar}); 139.3 (Cq_{ar})

IR (cm^{-1})

3311; 2962; 2927; 2841; 2218; 1454; 1376; 1318; 1159; 739; 701

11.7.3 (2R,6S)-2,6-Diethyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonitril (5c)

Summenformel:	C ₁₆ H ₂₃ N ₃
Molare Masse:	257.4 g/mol
Ausbeute:	52 %
Schmelzpunkt:	142-143 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

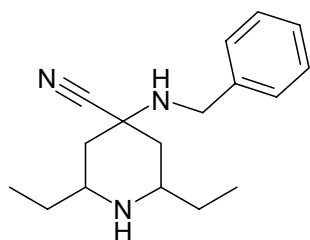
0.98 (t, 6H, J = 7.6, CH₃); 1.51-1.71 (m, 6H, CH₂CH₃, Cq-CH₂); 2.44-2.50 (d, 2H, ²J = 13.1, Cq-CH₂); 2.95-3.06 (m, 2H, CH); 6.91-6.98 (m, 3H, CH_{ar}); 7.23-7.28 (m, 2H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

10.2 (CH₃); 27.7 (CH₂); 40.7 (CH₂); 54.2 (CH); 55.2 (Cq); 120.7 (CN); 118.2, 121.3, 129.5 (CH_{ar}); 143.4 (Cq_{ar})

IR (cm⁻¹)

3258; 2971; 2940; 2225; 1603; 1557; 1497; 1404; 1319; 1258; 748; 695

11.7.4 (2R,6S)-4-Benzylamino-2,6-diethylpiperidin-4-carbonitril (5d)

Summenformel:	C ₁₇ H ₂₅ N ₃
Molare Masse:	271.4 g/mol
Ausbeute:	47 %
Schmelzpunkt:	109-111 °C

Rotationsisomerenverhältnis: 5:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale CH₂CH₃)

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, *J* = Hz)

Isomer A: 0.96 (t, 6H, *J* = 7.5, CH₂CH₃); 1.20 (dd, 2H, ²*J* = 12.9, ³*J*_{aa} = 11.6, CH₂-Cq); 1.34-1.58 (m, 4H, CH₂CH₃); 2.09 (d, 2H, ²*J* = 12.9, CH₂Cq); 2.78-2.87 (m, 2H, CH); 3.94 (s, 2H, CH₂NH); 7.26-7.39 (m, 5H, CH_{ar})

Isomer B: 0.88 (t, 6H, *J* = 7.5, CH₂CH₃); 1.63 (dd, 2H, ²*J* = 13.6, ³*J*_{aa} = 11.6, CH₂-Cq); 1.34-1.58 (m, 4H, CH₂CH₃); 2.04 (d, 2H, ²*J* = 13.6, CH₂ Cq); 2.97-3.03 (m, 2H, CH); 3.87 (s, 2H, NHCH₂); 7.26-7.39 (m, 5H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

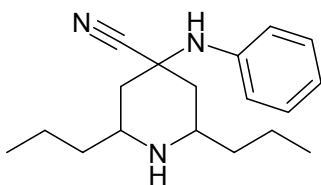
Isomer A: 10.3 (CH₃); 29.1 (CH₂CH₃); 41.9 (CH₂ Cq); 48.6 (NHCH₂); 54.7 (CH); 57.4 (Cq); 122.0 (CN); 127.6, 128.5, 128.7 (CH_{ar}); 139.2 (Cq_{ar})

Isomer B: 10.2 (CH₃); 28.8 (CH₂CH₃); 40.0 (CH₂ Cq); 49.0 (NHCH₂); 51.6 (CH); 54.5 (Cq); 122.3 (CN); 127.7, 128.6, 128.7 (CH_{ar}); 139.3 (Cq_{ar})

IR (cm⁻¹)

3304; 3237; 2963; 2923; 2877; 2218; 1558; 1456; 13.81; 1329; 1142; 1093; 740; 699

11.7.5 (2*R*,6*S*)-4-Phenylamino-2,6-dipropylpiperidin-4-carbonitril (5e)



Summenformel:	C ₁₈ H ₂₇ N ₃
Molare Masse:	285.4 g/mol
Ausbeute:	27 %
Schmelzpunkt:	94 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, *J* = Hz)

0.89 (t, 6H, *J* = 6.9, CH₃); 1.16 (dd, 2H, ²*J* = 12.5, ³*J*_{aa} = 12.0, CqCH₂); 1.30-1.42 (m, 8H, CH₂CH₂CH₃); 2.34 (d, 2H, ²*J* = 12.5, CqCH₂); 2.70-2.79 (m, 2H, CH); 6.72 (t, 1H, *J* = 7.3, CH_{ar}); 6.86 (d, 2H, *J* = 7.8, CH_{ar}); 7.16 (2t, je 1H, *J* = 7.7, *J* = 7.6, CH_{ar})

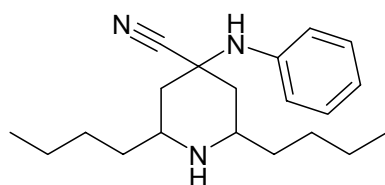
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

14.1 (CH_3); 18.4, 37.8 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 41.9 (CqCH_2); 52.3 (CH); 53.6 (Cq); 121.2 (CN); 115.7, 118.3, 128.8 (CH_{ar}); 144.8 (Cq_{ar})

IR (cm^{-1})

3371; 2958; 2928; 2870; 2230; 1603; 1500; 1321; 1256; 1156; 751; 693

11.7.6 (2R,6S)-2,6-Dibutyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonitril (5f)



Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_3$
Molare Masse: 313.5 g/mol
Ausbeute: 21 %
Schmelzpunkt: 79 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$, $J = \text{Hz}$)

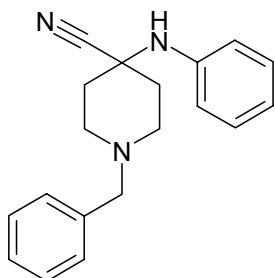
0.91 (t, 6H, $J = 6.9$, CH_3); 1.27-1.41, 1.56-1.91 (2m, 14H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, Cq-CH_2 axial); 2.48-2.55 (d, 2H, $^2J = 12.9$, Cq-CH_2 äquatorial); 3.11-3.22 (m, 2H, CH); 6.92-6.99 (m, 3H, CH_{ar}); 7.24-7.29 (m, 2H, CH_{ar})

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

14.1 (CH_3); 22.6 (CH_2); 27.9 (CH_2); 33.8 (CH_2); 40.6 (CH_2); 54.0 (CH); 54.2 (Cq); 120.4 (CN); 118.5, 121.6, 129.6 (CH_{ar}); 143.1 (Cq_{ar})

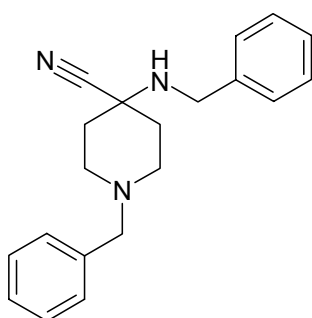
IR (cm^{-1})

3370; 2958; 2928; 2870; 2230; 1603; 1500; 1321; 1257; 1156; 751; 694

11.7.7 1-Benzyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonitril (5g)

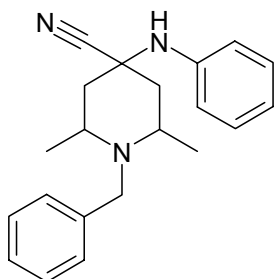
Summenformel:	C ₁₉ H ₂₁ N ₃
Molare Masse:	291.4 g/mol
Ausbeute:	62 %
Schmelzpunkt:	146-148 °C

Spektroskopische Daten siehe Literatur^{83,83}

11.7.8 1-Benzyl-4-benzylamino-piperidin-4-carbonitril (5h)

Summenformel:	C ₂₀ H ₂₃ N ₃
Molare Masse:	305.4 g/mol
Ausbeute:	71 %
Schmelzpunkt:	168-169 °C

Spektroskopische Daten siehe Literatur⁸⁴

11.7.9 (2R,6S)-1-Benzyl-2,6-dimethyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonitril (5i)

Summenformel:	C ₁₉ H ₂₁ N ₃
Molare Masse:	291.4 g/mol
Ausbeute:	74 %
Schmelzpunkt:	139-140 °C
R _f = 0.8	

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

1.12 (d, 6H, J = 6.1, CH₃); 1.59 (dd, 2H, ²J = 12.9, ³J_{aa} = 11.4, CqCH₂); 2.32 (d, 2H, ²J = 12.9, CqCH₂ äquatorial); 2.96-3.06 (m, 2H, CHCH₃); 3.65 (s, 1H, NH); 3.84 (s, 2H, NCH₂); 6.90-6.96 (m, 3H, CH_{ar}); 7.18-7.33 (m, 5H, CH_{ar}); 7.36-7.40 (m, 2H, CH_{ar})

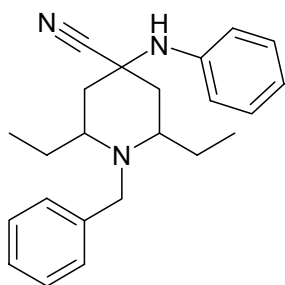
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

15.4 (CH₃); 21.7 (CqCH₂); 44.3 (Cq); 53.8 (NCH₂); 54.6 (CHCH₃); 120.9 (CN); 118.1, 121.2, 126.5, 127.5, 128.3, 129.5 (CH_{ar}); 142.1, 143.4 (Cq_{ar})

IR (cm⁻¹)

3372; 2970; 2930; 2797; 2232; 1601; 1499; 1316; 749; 728; 695

11.7.10 (2R,6S)-1-Benzyl-2,6-diethyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonitril (5k)



Summenformel: C₂₃H₂₉N₃
 Molare Masse: 347.5 g/mol
 Ausbeute: 59 %
 Schmelzpunkt: 123-125 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm, J = Hz)

0.79 (CH₃); 1.26-1.39 (m, 2H, CH₂CH₃); 1.48-1.60 (m, 4H, CH₂CH₃, CqCH₂ axial); 2.31 (d, 2H, ²J = 13.4, CqCH₂ äquatorial); 2.70-2.80 (CH); 3.70 (s, 2H, NCH₂); 6.04 (s, 1H, NH); 6.75 (t, 1H, J = 7.3, CH_{ar}); 6.88 (d, 2H, J = 7.8, CH_{ar}); 7.14-7.23 (m, 4H, CH_{ar}); 7.28 (t, 2H, J = 7.6, CH_{ar}); 7.38 (d, 2H, J = 7.6, CH_{ar})

¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm)

10.4 (CH₃); 26.5 (CH₂CH₃); 37.3 (CqCH₂); 50.2 (NCH₂); 53.2 (Cq); 60.8 (NCH); 121.1 (CN); 125.8, 118.5, 126.0, 127.2, 127.9, 129.0 (CH_{ar}); 142.3, 144.7 (Cq_{ar})

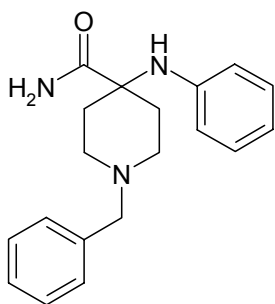
IR (cm⁻¹)

3375; 2966; 2934; 2877; 2229; 1601; 1499; 1317; 759; 730; 696

11.8 Synthese der Amidverbindungen (6g-6h)

7.5 mmol der unter 11.7 erhaltenen Nitrilverbindung wird in 60 ml H₂SO₄ conc. aufgenommen und bei 25°C gerührt. Zum Beenden der Reaktion wird das Reaktionsgemisch nach 12 h im NaCl-Eisbad gekühlt. Unter starkem Rühren erfolgt tropfenweise die Neutralisation mit conc. Ammoniak. Die Temperatur der Lösung darf 0 °C nicht überschreiten. Die ablaufende Reaktion ist stark exotherm. Während der Neutralisation fällt das Produkt aus und kann abfiltriert werden. Nach Waschen mit Wasser wird der Feststoff im Vakuum getrocknet. Verbindung **6h** wurde als Rohprodukt weiter umgesetzt.

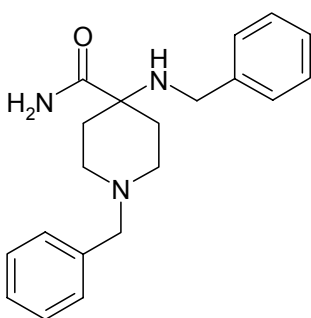
11.8.1 1-Benzyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonsäureamid (6g)



Summenformel:	C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O
Molare Masse:	309.4 g/mol
Ausbeute:	96 %
Schmelzpunkt:	188-189 °C

Spektroskopische Daten siehe Literatur⁸⁵

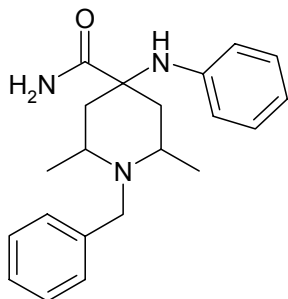
11.8.2 1-Benzyl-4-benzylamino-piperidin-4-carbonsäureamid (6h)



Summenformel:	C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O
Molare Masse:	323.4 g/mol

Dieses Zwischenprodukt wurde nicht charakterisiert und weiter umgesetzt.

11.8.3 (2R,6S)-1-Benzyl-2,6-dimethyl-4-phenylamino-piperidin-4-carbonsäureamid (6i)



Summenformel:	C ₂₁ H ₂₇ N ₃ O
Molare Masse:	337.5 g/mol
Ausbeute:	91 %
Schmelzpunkt:	155-157 °C

¹H-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm, J = Hz)

0.92 (d, 6H, J = 5.1, CH₃); 1.33 (dd, 2H, ²J = 12.9, ³J_{aa} = 11.4, CqCH₂); 2.26 (d, 2H, ²J = 12.9, CqCH₂ äquatorial); 2.82-2.99 (m, 2H, CH); 3.69 (s, 2H, NCH₂); 5.51 (s, 1H, C=ONH₂); 6.56 (t, 1H, J = 7.2, CH_{ar}); 6.62 (d, 2H, J = 8.1, CH_{ar}); 6.96-7.07 (m, 3H, C=ONH₂, CH_{ar}); 7.15 (t, 1H, J = 6.8, CH_{ar}); 7.22-7.31 (m, 3H, CH_{ar}); 7.37 (d, 2H, CH_{ar})

¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm)

22.1 (CH₃); 42.8 (CH₂); 53.3 (CH₂); 54.2 (CH); 57.6 (Cq); 114.5, 116.5, 125.8, 127.2, 127.8, 128.5 (CH_{ar}); 143.2, 146.4 (Cq_{ar}); 177.0 (C=ONH₂)

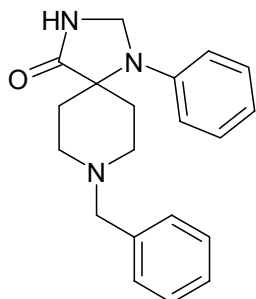
IR (cm⁻¹)

3428; 3358; 2692; 2823; 1671; 1601; 1497; 1094; 726; 696; 614

11.9 Ringschluss zum Spirozyklus: Methode I (7g-7i)

1.0 mmol des unter 6.5 erhaltenen Amids wird in 20 ml Formamid aufgenommen und 2h im vorgeheizten Ölbad bei 200°C unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf 25 °C wird die Lösung auf Eiswasser gegeben und mit drei Mal mit 100 ml Chloroform extrahiert. Die über Na₂SO₄ getrockneten vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum eingeeengt und das Produkt mit Aceton oder MeOH ausgefällt.

11.9.1 8-Benzyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-on (7g)



Summenformel:	$C_{20}H_{23}N_3O$
Molare Masse:	321.4 g/mol
Ausbeute:	68 %
Schmelzpunkt:	234-237 °C (Lit. ⁶⁶ : 232-238.5 °C)

¹H-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm, J = Hz)

1.57 (d, 2H, J = 13.6, CqCH₂); 2.52-2.63 (m, 2H, CqCH₂); 2.67-2.78 (m, 4H, NCH₂CH₂); 3.52 (s, 2H, NCH₂ Benzyl); 4.57 (s, 2H, NCH₂N); 6.76 (t, 2H, J = 7.8, CH_{ar}); 6.87 (d, 1H, J = 7.1, CH_{ar}); 7.21-7.39 (m, 7H, CH_{ar}); 8.60 (s, 1H, NH)

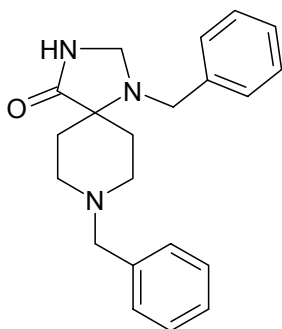
¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm)

28.4 (CqCH₂); 49.2 (NCH₂CH₂); 58.2 (NCH₂N); 58.7 (NCH₂ Benzyl); 62.1 (Cq); 114.3, 117.7, 126.8, 128.2, 128.7, 129.0 (CH_{ar}); 138.7, 143.3 (Cq_{ar}); 176.2 (C=ONH)

IR (cm⁻¹)

3180; 3108; 3067; 2960; 2926; 2818; 1703; 1599; 1373; 1312; 1098; 1030; 796; 735; 689

11.9.2 1,8-Dibenzyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-on (7h)



Summenformel:	$C_{21}H_{25}N_3O$
Molare Masse:	335.5 g/mol
Schmelzpunkt:	200-201 °C
Ausbeute:	73 %

¹H-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm, J = Hz)

1.77-2.03 (m, 4H, CqCH₂); 2.64-2.94 (m, 4H, NCH₂CH₂); 3.59 (NCH₂ Benzyl); 3.75 (CqNCH₂); 3.95 (NCH₂N); 6.56 (NH); 7.21-7.41 (m, 5H, CH_{ar})

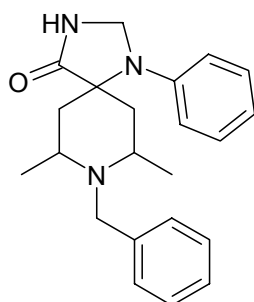
¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm)

29.2 (CqCH₂); 49.5 (NCH₂CH₂); 51.0 (NCH₂ Benzyl); 59.8 (Cq); 61.3 (NCH₂N); 63.0 (NCH₂); 127.1, 127.5, 128.4, 128.5, 128.6, 129.3 (CH_{ar}); 138.4 (2 Cq_{ar}); 179.0 (C=O)

IR (cm⁻¹)

3286; 2940; 2920; 2813; 1704; 1495; 1356; 1256; 1028; 739; 695

11.9.3 (2R,6S)-8-Benzyl-7,9-dimethyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-on (7i)



Summenformel:	C ₂₂ H ₂₇ N ₃ O
Molare Masse:	349.5 g/mol
Ausbeute:	2 %
Schmelzpunkt:	199-200 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

1.03 (d, 6H, J = 6.3, CHCH₃); 1.63 (dd, 2H, ²J = 13.8, ²J_{ae} = 1.9, CH₂Cq); 2.27 (dd, 2H, ²J = 13.8, ³J_{aa} = 12.0, CH₂Cq); 3.53-3.64 (m, 2H, CHCH₃); 3.85 (s, 1H, NCH₂ Benzyl); 4.74 (s, 1H, NHCH₂N); 6.88-6.94 (m, 4H, CH_{ar}, NH), 7.17-7.22 (m, 1H, CH_{ar}); 7.28-7.36 (m, 4H, CH_{ar}); 7.42-7.47 (m, 2H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

22.0 (CH₃); 36.1 (CH₂); 51.1 (CH₂); 53.2 (CH); 59.2 (Cq); 61.1 (NCH₂N); 115.8, 119.2, 126.2, 127.7, 128.2, 129.5 (CH_{ar}); 143.3 (Cq_{ar}); 178.1 (C=ONH)

IR (cm⁻¹)

3184; 3059; 2961; 2850; 1705; 1599; 1371; 1306; 1179; 747; 721; 695

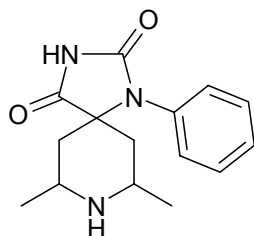
11.10 Ringschluss zum Spirozyklus: Methode II (8a-8f, 8i, 8k)

2.5 mmol der unter 6.4 erhaltenen Nitrilverbindungen werden in 20 ml CHCl_3 abs. suspendiert. Unter Rühren bei 25 °C wird mit einer Spritze langsam Chlorsulfonylisocyanat zugegeben: für die an N8 substituierten Verbindungen 0.22 ml (2.5 mmol) Chlorsulfonylisocyanat, für die nicht an N8 substituierten Verbindungen entsprechend 0.44 ml (5 mmol) Chlorsulfonylisocyanat. Nach 2 h Rühren bei 25 °C wird das Reaktionsgemisch unter Vakuum bis zur Trockene eingengt. Der erhaltene Schaum wird in 50 ml 1 M HCl aufgenommen und bei 90 °C unter Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsansatz wird nach 2 h abgekühlt und unter Eiskühlung mit 5 M NaOH alkalisiert. Zur weiteren Aufarbeitung gibt es zwei Möglichkeiten.

Methode A: Das Produkt fällt während dem Neutralisieren mit NaOH aus und kann abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet werden.

Methode B. Das Produkt fällt nicht aus. Der Reaktionsansatz wird auf einen pH-Wert von 9-10 eingestellt und fünfmal mit 50 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter schwachem Vakuum entfernt. Das erhaltene Produkt kann mit Diethylether oder Ethylacetat gewaschen werden. Falls erforderlich kann das Produkt weiter säulenchromatographisch aufgereinigt werden (CHCl_3 MeOH 25 : 1; $R_f = 0.6-0.9$).

11.10.1 (2*R*,6*S*)-7,9-Dimethyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8a)



Summenformel:	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₂
Molare Masse:	273.3 g/mol
Schmelzpunkt:	256 °C
Ausbeute:	52 %

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

1.05 (d, 6H, J = 6.3, CH₃); 1.33 (dd, 2H, ²J = 12.5, ³J_{aa} = 12.3, CH₂Cq); 1.87 (d, 2H, ²J = 12.5, CH₂Cq); 3.45-3.58 (m, 2H, CH); 7.15-7.19 (m, 2H, CH_{ar}); 7.41-7.47 (m, 3H, CH_{ar})

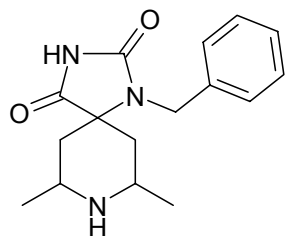
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

22.3 (CH₃); 39.5 (CqCH₂); 46.6 (CH); 65.7 (Cq); 129.4, 129.8, 130.9 (CH_{ar}); 132.6 (Cq_{ar}); 154.9 (C=O); 176.2 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

2978; 2942; 2716; 1716; 1410; 1386; 1152; 706; 629

11.10.2 (2*R*,6*S*)-1-Benzyl-7,9-dimethyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8b)



Summenformel:	C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₄
Molare Masse:	287.4 g/mol
Schmelzpunkt:	208-209 °C
Ausbeute:	62 %

Rotationsisomerenverhältnis: 3:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale CH₃)

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

Rotationsisomer A:

1.06 (d, 6H, J = 6.3, CH₃); 1.44-1.70 (m, 4H, CH₂-Cq); 3.45-3.58 (m, 2H, CH); 4.50 (s, 2H, NCH₂ Benzyl); 7.20-7.34 (m, 5H, CH_{ar})

Rotationsisomer B:

0.93 (d, 6H, J = 6.3, CH₃); 1.44-1.70 (m, 4H, CH₂-Cq); 2.76-2.88 (m, 2H, CH); 4.85 (s, 2H, NCH₂ Benzyl); 7.20-7.34 (m, 5H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

Rotationsisomer A:

21.9 (CH₃); 38.5 (CH₂-Cq); 42.0 (NCH₂ Benzyl); 46.8 (CH); 64.4 (Cq); 126.8, 127.5, 128.7 (CH_{ar}); 137.9 (Cq_{ar}); 156.0 (Cq-C=O); 176.7 (C=O)

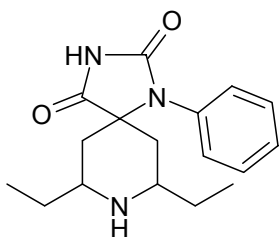
Rotationsisomer B:

22.7 (CH₃); 40.3 (CH₂-Cq); 45.5 (NCH₂ Benzyl); 47.9 (CH); 66.1 (Cq); 127.5, 127.6, 128.8 (CH_{ar}); 137.6 (Cq_{ar}); 156.9 (Cq-C=O); 176.8 (C=O)

IR (cm⁻¹)

3283; 2960; 2931; 1717; 1414; 1134; 712; 621

11.10.3 (2R,6S)-7,9-Diethyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8c)



Summenformel: C₁₇H₂₃N₃O₂

Molare Masse: 301.4 g/mol

Schmelzpunkt: 222 °C

Ausbeute: 71 %

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

0.91 (t, 6H, J = 7.5, CH₂CH₃); 1.36 (m, 2H, CH₂-Cq, 4H, CH₂CH₃); 1.91 (d, 2H, ²J = 12.4, CH₂-Cq); 3.19-3.32 (m, 2H, CH); 4.76 (brs, 1H, CHNH); 7.10-7.50 (m, 5H, CH_{ar})

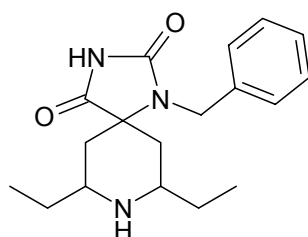
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

10.4 (CH₃); 29.7 (CH₂CH₃); 38.2 (CH₂-Cq); 52.4 (CH); 65.7 (Cq); 129.4, 129.7, 130.9 (CH_{ar}); 132.6 (Cq_{ar}); 155.1 (C=O); 176.4 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

3266; 2962; 2945; 2875; 1709; 1405; 1381; 1142; 701; 621

11.10.4 (2*R*,6*S*)-1-Benzyl-7,9-diethyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8d)



Summenformel:	C ₁₈ H ₂₅ N ₃ O ₂
Molare Masse:	315.4 g/mol
Schmelzpunkt:	284-286 °C
Ausbeute:	84 %

Rotationsisomerenverhältnis: 5:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale NCH₂ Benzyl)

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

Rotationsisomer A:

0.86 (t, 6H, J = 7.5, CH₂CH₃); 1.13-1.78 (m, 4H, CH₂CH₃, 4H, CH₂-Cq); 3.17-3.29 (m, 2H, CH); 4.51 (s, 2H,); 7.20-7.36 (m, 5H, CH_{ar})

Rotationsisomer B:

0.64 (t, 6H, J = 7.5, CH₂CH₃); 1.13-1.78 (m, 4H, CH₂CH₃, 4H, CH₂-Cq); 2.51-2.62 (m, 2H, CH); 4.87 (s, 2H, NCH₂ Benzyl); 7.20-7.36 (m, 5H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

Rotationsisomer A:

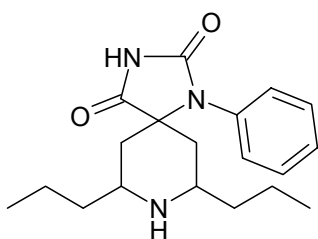
10.2 (CH₃); 29.5 (CH₂CH₃); 37.4 (CH₂-Cq); 42.0 (NH-CH₂); 52.4 (CH); 64.5 (Cq); 127.6, 127.6, 128.7 (CH_{ar}); 138.0 (Cq_{ar}); 155.0 (Cq-C=O); 179.8 (C=O)

Rotationsisomer B:

9.9 (**CH**₃); 30.1 (**CH**₂CH₃); 38.8 (**CH**₂-C_q); 45.5 (NH-**CH**₂); 53.9 (**CH**); 65.9 (**C**_q); 129.9, 127.6, 128.8 (**CH**_{ar}); 137.8 (**C**_q_{ar}); 156.9 (C_q-**C=O**); 177.0 (**C=O**)

IR (cm⁻¹)

3291; 2963; 2925; 2876; 1709; 1413; 1131; 703; 623

11.10.5 (2*R*,6*S*)-1-Phenyl-7,9-dipropyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8e)

Summenformel: C₁₉H₂₇N₃O₂
 Molare Masse: 329.5 g/mol
 Schmelzpunkt: 216-218 °C
 Ausbeute: 66 %

¹H-NMR (DMSO, δ = ppm, *J* = Hz)

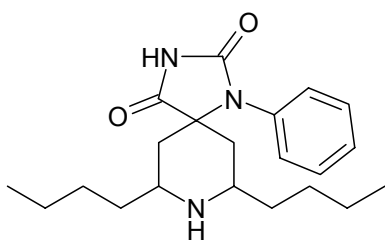
0.84 (t, 6H, *J* = 7.1, **CH**₃); 1.17-1.32 (m, 10H, **CH**₂**CH**₂CH₃, C_q**CH**₂); 1.78-1.89 (m, 2H, C_q**CH**₂); 3.21-3.33 (m, 2H, **CH**); 6.96-7.14 (m, 2H, **CH**_{ar}); 7.33-7.54 (m, 3H, **CH**_{ar})

¹³C-NMR (DMSO, δ = ppm)

14.3 (**CH**₃), 19.1 (CH₂**CH**₂CH₃); 38.6 (**CH**₂CH₂CH₃); 39.2 (C_q**CH**₂); 50.7 (**CH**); 65.9 (**C**_q); 129.3, 129.8, 130.9 (**CH**_{ar}); 132.6 (**C**_q_{ar}); 154.7 (C_q**C=O**); 176.1 (NC=ON)

IR (cm⁻¹)

3270; 2961; 2924; 2871; 1709; 1387; 1152; 700; 625

11.10.6 (2*R*,6*S*)-7,9-Dibutyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8f)

Summenformel: C₂₁H₃₁N₃O₂
 Molare Masse: 357.5 g/mol
 Schmelzpunkt: 305 °C (Zers.)
 Ausbeute: 42 %

¹H-NMR (DMSO, δ = ppm, J = Hz)

0.87 (t, 6H, J = 6.8, CH_2CH_3); 1.18-1.40 und 1.74-1.86 (2m, 12H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.54 (dd, 2H, 2J = 13.9, $^3J_{aa}$ = 12.4, $\text{CH}_2\text{-Cq}$); 2.41 (d, 2H, 2J = 13.9, $\text{CH}_2\text{-Cq}$); 3.53-3.65 (m, 2H, CH); 7.30-7.36 (m, 2H, CH_{ar}); 7.42-7.53 (m, 2H, CH_{ar})

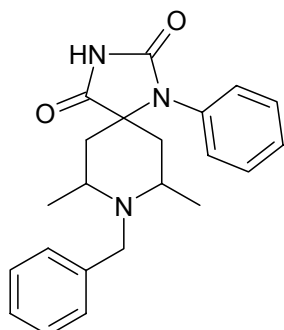
¹³C-NMR (DMSO, δ = ppm)

13.7 (CH_3); 21.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 26.5 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 31.9 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 33.1 ($\text{CH}_2\text{-Cq}$); 51.5 (CH); 62.0 (Cq); 128.7, 129.4, 131.0 (CH_{ar}); 133.0 (Cq_{ar}); 154.7 (Cq-C=O); 176.1 (NC=ON)

IR (cm^{-1})

3502; 3387; 2957; 2932; 2862; 2726; 1715; 1397; 1150; 705; 625

11.10.7 (2*R*,6*S*)-8-Benzyl-7,9-dimethyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8i)



Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2$

Molare Masse: 363.5 g/mol

Schmelzpunkt: 224-226 °C

Ausbeute: 64 %

¹H-NMR (DMSO, δ = ppm, J = Hz)

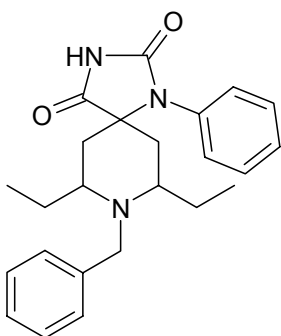
0.87 (d, 6H, J = 6.3, CH_3); 1.30 (dd, 2H, 2J = 12.9, $^3J_{aa}$ = 12.1, CH_2Cq); 1.92 (d, 2H, 2J = 12.9, CH_2Cq); 3.25-3.39 (m, 2H, CH); 3.64 (s, 2H, NCH_2); 5.40 (s, 1H, NH); 7.09-7.54 (m, 10H, CH_{ar})

¹³C-NMR (DMSO, δ = ppm)

21.8 (CH_3); 38.6 (CqCH_2); 52.3 (CH); 52.6 (NCH_2); 63.6 (Cq); 125.8, 127.0, 127.8, 128.5, 129.3, 131.0 (CH_{ar}); 133.5, 142.9 (Cq_{ar}); 155.1 (C=O); 176.7 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

3167; 3053; 2976; 2935; 2828; 1695; 1422; 1157; 704; 631

11.10.8 (2R,6S)-8-Benzyl-7,9-diethyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (8k)Summenformel: C₂₄H₂₉N₃O₂

Molare Masse: 391.5 g/mol

Schmelzpunkt: 294-295 °C

Ausbeute: 59 %

¹H-NMR (DMSO, δ = ppm, J = Hz)

0.70 (t, 6H, J = 7.3, CH₂CH₃); 0.95-1.07 (m, 2H, CH₂CH₃); 1.31-1.46 (m, 2H, CH₂-Cq axial, 2H, CH₂CH₃); 1.68 (d, 2H, ²J = 12.6, CH₂-Cq äquatorial); 3.32-3.42 (m, 2H, NCH₂, 2H, CH); 7.09 (t, 1H, J = 7.2, CH_{ar}); 7.20 (t, 2H, J = 7.5, CH_{ar}); 7.26 (t, 4H, J = 8.0, CH_{ar}); 7.35 (t, 1H, J = 7.3, CH_{ar}); 7.45 (t, 2H, J = 7.6, CH_{ar})

¹³C-NMR (DMSO, δ = ppm)

10.9 (CH₃); 27.3 (CH₂CH₃); 32.6 (CH₂-Cq); 47.7 (NCH₂); 59.1 (CH); 63.9 (Cq); 125.7, 127.1, 127.7, 128.9, 130.1, (CH_{ar}); 136.0, 143.4 (Cq_{ar}); 157.7 (C=O); 183.5 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

2963; 2930; 2865; 1734; 1603; 1494; 1367; 1135; 727; 696

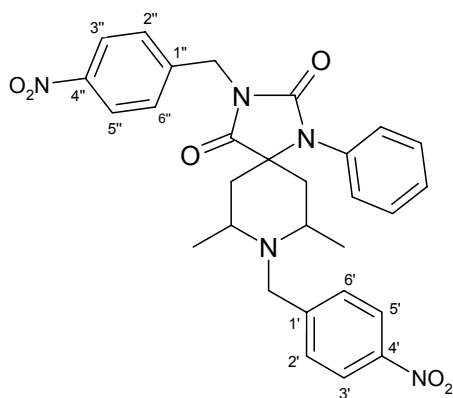
11.11 N-Substitution der 7,9-Dialkyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dione (9a-9f, 9k)

Allgemeine Synthesevorschrift :

1.75 mmol der unter 8.11 erhaltenen entsprechenden Verbindung werden in 20 ml Acetonitril gelöst und 0.62 g (4.5 mmol) K_2CO_3 als Hilfsbase zugegeben. 2 mmol der entsprechenden Bromverbindung werden zugegeben und der Ansatz auf 70 °C unter Rückfluß erhitzt. Nach 16 h wird auf 25 °C abkühlen lassen, der Feststoff abfiltriert und mit Acetonitril nachgewaschen. Aus der organischen Phase isoliert man durch Entfernen des Lösungsmittels unter Vakuum das Produkt, das durch Waschen mit Diethylether oder Ethylacetat noch gereinigt wird.

Für die Verbindung **9a** sind 1.24 g (9 mmol) K_2CO_3 und 4 mmol der entsprechenden Bromverbindung einzusetzen. Die Durchführung der Synthese und Aufarbeitung erfolgt analog.

11.11.1 (2*R*,6*S*)-7,9-Dimethyl-3,8-bis-(4-nitrobenzyl)-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (9a)



Summenformel:	$C_{29}H_{29}N_5O_6$
Molare Masse:	543.6 g/mol
Schmelzpunkt:	126-127 °C
Ausbeute:	85 %

1H -NMR ($CDCl_3$, δ = ppm, J = Hz)

0.86 (d, 6H, J = 6.3, CH_3); 1.42 (dd, 2H, 2J = 13.1, $^3J_{aa}$ = 11.9, CH_2 Cq); 2.02 (d, 2H, 2J = 13.1, CH_2 Cq); 3.28-3.37 (m, 2H, CH); 3.78 (s, 2H, $CH-NCH_2$); 4.80 (s, 2H, $O=C-NCH_2$); 7.32-7.37 (m, 2H, CH_{Anilin}); 7.50-7.56 (m, 3H, CH_{Anilin}); 7.57-7.62 (m, 4H, $H_2'/2''$, $H_6'/6''$); 8.07-8.12 (m, 2H, $H_3'/5'$); 8.22-8.26 (m, 2H, $H_3''/5''$)

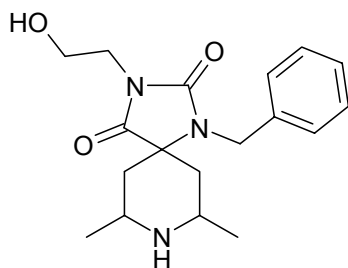
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

21.3 (CH_3); 38.1 (CqCH_2); 40.7 ($\text{O}=\text{C}-\text{NCH}_2$); 52.0 ($\text{CH}-\text{NCH}_2$); 52.4 (CH); 63.2 (Cq); 123.0 (C3'/5'); 128.8 (C3''/C5''); 128.1, 128.4, 129.0, 129.5, 130.5, 131.0, 133.0, (C2'/2'' , C6'/6'' , 5x $\text{CH}_{\text{Anilin}}$); 144.1, 145.6, 145.9, 151.8 (C1'/C1'' , C4'/C4''); 154.1 ($\text{NC}=\text{ON}$); 174.6 ($\text{Cq}-\text{C}=\text{O}$)

IR (cm^{-1})

2969; 2926; 2849; 1707; 1516; 1434; 1341; 734; 698

11.11.2 (2*R*,6*S*)-1-Benzyl-3-(2-hydroxy-ethyl)-7,9-dimethyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (9b)



Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$

Molare Masse: 331.4 g/mol

Schmelzpunkt: 195-196 °C

Ausbeute: 48 %

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$, $J = \text{Hz}$)

1.06 (d, 6H, $J = 6.3$, CH_3); 1.48 (dd, 2H, $^2J = 13.3$, $^3J_{aa} = 11.0$, CqCH_2); 1.59 (dd, 2H, $^2J = 13.3$, $^3J_{ae} = 1.9$, CqCH_2); 3.46-3.56 (m, 2H, CHCH_3); 3.74-3.78 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 3.80-3.84 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 4.53 (s, 2H, NCH_2); 7.25-7.32 (m, 5H, CH_{ar})

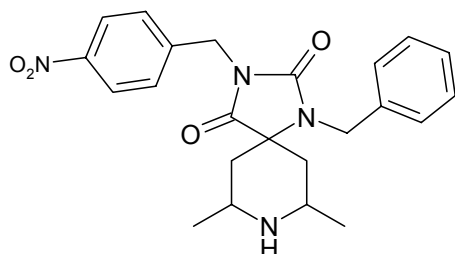
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

22.2 (CH_3); 38.8 (CqCH_2); 41.9 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 42.4 (NCH_2); 46.7 (NCH); 61.2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 63.5 (Cq); 127.5, 127.7, 128.8 (CH_{ar}); 156.6 ($\text{NC}=\text{ON}$); 176.4 ($\text{Cq}-\text{C}=\text{O}$)

IR (cm^{-1})

3302; 2963; 2934; 2853; 1695; 1447; 1048; 700

11.11.3 (2*R*,6*S*)-1-Benzyl-7,9-dimethyl-3-(4-nitro-benzyl)-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (9c)



Summenformel:	C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₄
Molare Masse:	422.5 g/mol
Schmelzpunkt:	161-162 °C
Ausbeute:	71 %

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

1.11 (d, 6H, J = 6.3, CH₃); 1.45 (d, 2H, ²J = 12.4, CH₂ Cq äquatorial); 1.80 (dd, 2H, ²J = 12.4, ³J_{aa} = 12.9, CH₂Cq); 3.52-3.62 (m, 2H, CH); 4.50 (s, 2H, CH₂ Benzyl); 4.70 (s, 2H, CH₂ 4-Nitrobenzyl); 7.17-7.31 (m, 5H, CH_{Benzyl}); 7.46-7.51 (m, 2H, CH_{4-Nitrobenzyl}); 8.11-8.17 (m, 2H, CH_{4-Nitrobenzyl})

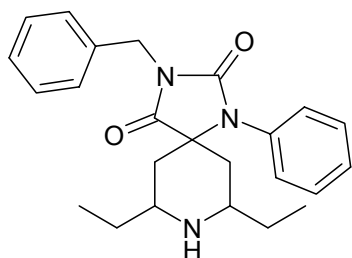
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

20.6 (CH₃); 37.1 (CHCH₂); 41.7 (CH₂ 4-Nitrobenzyl); 42.6 (CH₂ Benzyl); 47.5 (CH); 62.7 (Cq); 124.2, 127.9, 127.9, 128.9, 129.5 (CH_{ar}); 137.6 (CH₂-Cq_{Benzyl}); 143.1 (CH₂-Cq_{4-Nitrobenzyl}); 147.9 (Cq-NO₂); 155.3 (NC=ON); 175.1 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

2974; 2934; 1708; 1575; 1518; 1439; 1413; 1343; 703; 646

11.11.4 (2*R*,6*S*)-3-Benzyl-7,9-diethyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (9d)



Summenformel:	C ₂₄ H ₂₉ N ₃ O ₂
Molare Masse:	391.5 g/mol
Schmelzpunkt:	74-75 °C
Ausbeute:	55 %

Rotationsisomerenverhältnis: 6:1 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale **CH**)

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

Rotationsisomer A:

0.90 (t, 6H, J = 7.5, CH₂CH₃); 1.20-1.45 (m, 6H, CH₂-Cq axial, CH₂CH₃); 1.82 (d, 2H, ²J = 12.6, CH₂-Cq äquatorial); 3.25-3.35 (m, 2H, **CH**); 4.73 (s, 2H, CH₂ Benzyl); 7.12-7.48 (m, 10H, CH_{ar})

Rotationsisomer B:

0.81 (t, 6H, J = 7.5, CH₂CH₃); 1.20-1.45 (4H, CH₂CH₃); 1.73-1.79 (m, 2H, CH₂-Cq axial); 1.97 (d, 2H, ²J = 13.9, CH₂-Cq äquatorial); 2.22-2.31 (m, 2H, **CH**); 4.73 (s, 2H, CH₂ Benzyl); 7.12-7.48 (m, 10H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

Rotationsisomer A:

10.3 (CH₃); 29.4 (CH₂CH₃); 38.0 (CH₂-Cq); 42.4 (CH₂ Benzyl); 52.7 (CH); 64.3 (Cq); 127.9; 128.7; 128.8; 129.1, 129.7, 130.8 (CH_{ar}); 132.9 (N-Cq_{ar}); 136.3 (CH₂-Cq_{ar}); 155.0 (NC=ON); 175.3 (Cq-C=O)

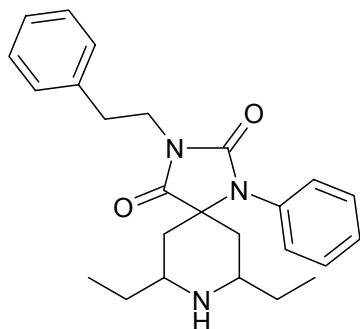
Rotationsisomer B:

10.1 (CH₃); 30.0 (CH₂CH₃); 39.3 (CH₂-Cq); 43.0 (CH₂ Benzyl); 52.9 (CH); 65.6 (Cq); 127.3; 128.0; 128.6; 129.4, 129.6, 131.0 (CH_{ar}); 136.2 (N-Cq_{ar}); 136.5 (CH₂-Cq_{ar}); 155.5 (NC=ON); 175.5 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

2962; 2933; 1704; 1434; 1412; 1152; 743; 697

11.11.5 (2*R*,6*S*)-7,9-Diethyl-3-phenethyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (9e)



Summenformel:	C ₂₅ H ₃₁ N ₃ O ₂
Molare Masse:	405.5 g/mol
Schmelzpunkt:	146-147 °C
Ausbeute:	62 %

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, *J* = Hz)

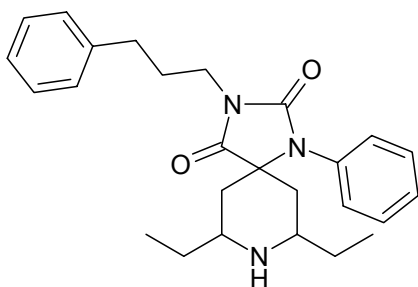
0.87 (t, 6H, *J* = 7.6, CH₂CH₃); 1.15-1.32 (m, 6H, CH₂-Cq axial, CH₂CH₃); 1.59 (d, 2H, ²*J* = 12.4, CH₂-Cq äquatorial); 3.03 (t, 2H, NCH₂CH₂); 3.09-3.18 (m, 2H, CH); 3.85 (t, 2H, NCH₂CH₂); 4.73 (s, 1H, NH); 7.05-7.44 (m, 10H, CH_{ar})

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

10.4 (CH₃); 29.8 (CH₂CH₃); 33.7 (NCH₂CH₂); 38.2 (CH₂-Cq); 39.3 (NCH₂CH₂); 52.4 (CH); 64.2 (Cq); 126.8; 128.5; 129.0; 129.3, 129.7, 130.8 (CH_{ar}); 133.0 (N-Cq_{ar}); 138.0 (CH₂-Cq_{ar}); 155.1 (NC=ON); 175.5 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

2934; 2857; 1700; 1443; 1415; 1128; 739; 699; 623

11.11.6 (2R,6S)-7,9-Diethyl-1-phenyl-3-(3-phenyl-propyl)-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-2,4-dion (9f)

Summenformel:	C ₂₆ H ₃₃ N ₃ O ₂
Molare Masse:	419.6 g/mol
Schmelzpunkt:	118-120 °C
Ausbeute:	63 %

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

0.91 (t, 6H, J = 7.5, CH₂CH₃); 1.24-1.38 (m, 6H, CH₂-Cq axial, CH₂CH₃); 1.75 (d, 2H, ²J = 12.1, CH₂-Cq äquatorial); 2.05 (quin, 2H, J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂); 2.69 (t, 2H, J = 7.7, NCH₂CH₂CH₂); 3.21-3.31 (m, 2H, CH); 3.64 (t, 2H, J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂); 7.12-7.46 (m, 10H, CH_{ar})

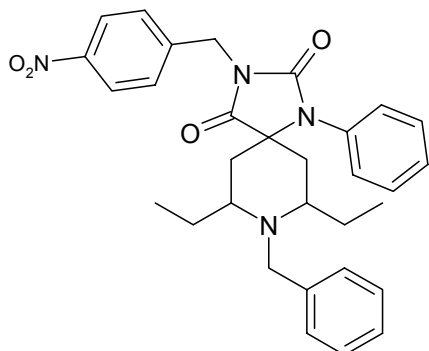
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

10.4 (CH₃); 29.5 (NCH₂CH₂CH₂); 29.8 (CH₂CH₃); 33.3 (NCH₂CH₂CH₂); 38.4 (CH₂-Cq); 38.7 (NCH₂CH₂CH₂); 52.5 (CH); 64.3 (Cq); 126.2, 128.5, 128.6, 129.1, 129.7, 130.9 (CH_{ar}); 133.1 (N-Cq_{ar}); 141.3 (CH₂-Cq_{ar}); 155.3 (NC=ON); 175.9 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

2958; 2914; 1704; 1450; 1416; 741; 695; 645

11.11.7 (2*R*,6*S*)-8-Benzyl-7,9-diethyl-3-(4-nitro-benzyl)-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-2,4-dion (9k)



Summenformel:	C ₃₁ H ₃₄ N ₄ O ₄
Molare Masse:	526.6 g/mol
Schmelzpunkt:	185-187 °C
Ausbeute:	46 %

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, *J* = Hz)

0.76 (t, 6H, *J* = 7.3, CH₂CH₃); 1.04-1.17 (m, 2H, CH₂CH₃); 1.56-1.73 (m, 6H, CH₂CH₃, CH₂-Cq); 3.29-3.40 (m, 2H, CH); 3.44 (s, 2H, CHNCH₂ Benzyl); 4.81 (s, 2H, O=CNCH₂ 4-Nitrobenzyl); 7.10-7.15 (m, 1H, H₄Anilin); 7.17-7.53 (m, 9H, H_{2/3/5/6}Anilin, CH_{Benzyl}); 7.56-7.62 (m, 2H, H_{2/6} 4-Nitrobenzyl); 8.17-8.22 (m, 2H, H_{3/5} 4-Nitrobenzyl)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

11.0 (CH₃); 27.8 (CH₂CH₃); 32.9 (CH₂-Cq); 41.7 (O=CNCH₂); 48.9 (CHNCH₂); 59.6 (CH); 64.7 (Cq); 124.1, 126.2; 127.3, 128.0, 129.3; 129.6, 129.9, 130.6 (CH_{ar}); 132.9 (N-Cq_{Anilin}); 142.8 (CH₂-Cq_{ar}); 143.4 (Cq_{ar}); 147.8 (Cq-NO₂); 154.7 (N-C=ON); 175.2 (Cq-C=O)

IR (cm⁻¹)

2987; 2932; 2866; 1703; 1520; 1432; 1341; 742; 700

11.12 Synthese der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester (10a-10n)

Allgemeine Synthesevorschrift (modifiziert nach⁸⁶):

Methode A: 20 mmol des aromatischen Aldehyds Ar-CHO und 10 mmol des entsprechenden primären Amins werden in 20 ml MeOH gelöst. 10 mmol des entsprechenden Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters werden in 10 ml MeOH gelöst und unter Eiskühlung über eine Dauer von 1 h dem Ansatz langsam zugegeben und 1 h weiter unter Eiskühlung gerührt. Danach wird für weitere 5 - 24 h bei 25 °C gerührt, bis der Feststoff ausfällt. Das Produkt wird abfiltriert und mit MeOH und Et₂O gewaschen.

Methode B: 10 mmol des entsprechenden Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters und 20 mmol des aromatischen Aldehyds Ar-CHO werden bei 25 °C vorgelegt. 10 mmol des entsprechenden primären Amins R¹-NH₂ werden in 5 ml MeOH/H₂O (1:1) gelöst und in 30 min dem Ansatz zugetropft. Nach 3 h Rühren bei 25 °C wird das Lösungsmittel unter Vakuum aus dem Reaktionsgemisch entfernt und der Rückstand mit wenig MeOH überschichtet. Nach 4-6 Tagen Lagerung bei 4 °C kann der Feststoff abfiltriert und mit MeOH und Et₂O gewaschen werden.

Methode C: 10 mmol des entsprechenden Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters und 20 mmol des aromatischen Aldehyds Ar-CHO werden vorgelegt. 10 mmol des entsprechenden primären Amins R¹-NH₂ werden in 5 ml MeOH/H₂O (1:1) gelöst und unter Eiskühlung in 1 h dem Ansatz zugetropft. Danach wird das Reaktionsgemisch bei 25 °C weitergerührt. Das Produkt fällt währenddessen aus und kann nach 48 h abfiltriert und mit Et₂O gewaschen werden.

Methode D: 20 mmol des aromatischen Aldehyds Ar-CHO werden in 25 ml THF vorgelegt. 10 mmol des entsprechenden Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters und 10 mmol des entsprechenden primären Amins R¹-NH₂ werden entsprechend dem eingesetzten Aceton-1,3-dicarbonsäurediester in jeweils 15 ml MeOH oder EtOH gelöst und parallel unter Eiskühlung bei -20 °C in 1 h dem Ansatz zugetropft. Danach wird das Reaktionsgemisch bei 25 °C weitergerührt. Nach 48 h wird das Lösungsmittel unter Vakuum aus dem Reaktionsgemisch entfernt und der Rückstand mit wenig MeOH oder EtOH überschichtet. Das Produkt fällt aus und kann mit Toluol oder MeOH umkristallisiert werden.

Methode E: 10 mmol des Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters werden in 20 ml MeOH vorgelegt und unter Eiskühlung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. 20 mmol aromatischer Aldehyd Ar-CHO und 10 mmol des primären Amins $\text{R}^1\text{-NH}_2$ werden in jeweils 20 ml MeOH gelöst und dem Ansatz parallel zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird zunächst für 5 h bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ und im Anschluss bei $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ weitergerührt. Das ausfallende Produkt wird abfiltriert, mit kaltem MeOH nachgewaschen und im Vakuum getrocknet.

Verbindung	Methode	Ausbeute [%]	Smt [$^{\circ}\text{C}$]
10a	C	83 (64) ⁸⁸	130 (134) ⁸⁸
10b	B	33 (52) ⁸⁷	136 (137) ⁸⁷
10c	B	33 (67) ⁸⁹	175 (170-171) ⁸⁹
10d	A	55 (81) ⁸⁷	135 (136) ⁸⁷
10e	A	83 (87) ⁸⁷	138 (134) ⁸⁷
10f	A	82	142
10g	D	39	154-155
10h	D	12	163-171
10i	D	7	181-184
10k	D	28	150-151
10l	A	15	144-146
10m	A	41	170-172
10n	E	29	159-161

Tabelle 28 Aufarbeitung der synthetisierten 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester mit Angabe der Ausbeute und Schmelztemperatur

Die Verbindungen **10a-10e** und **10f** sind literaturbekannt.^{87,88,89,90} Die spektroskopischen Daten für **10a**, **10b**, **10d** und **10e** sind beschrieben und entsprechen der Literatur.^{87,88}

Substanz	R^2	Summenformel	M_r [g/mol]
10a	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{COOH}$	$\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_7$	511.6
10b	$\text{C}_3\text{H}_6\text{OH}$	$\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_6$	427.5
10c	H	$\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$	369.4
10d	$\text{C}_2\text{H}_4\text{OH}$	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6$	413.4
10e	Allyl	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$	409.5

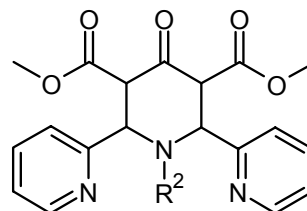
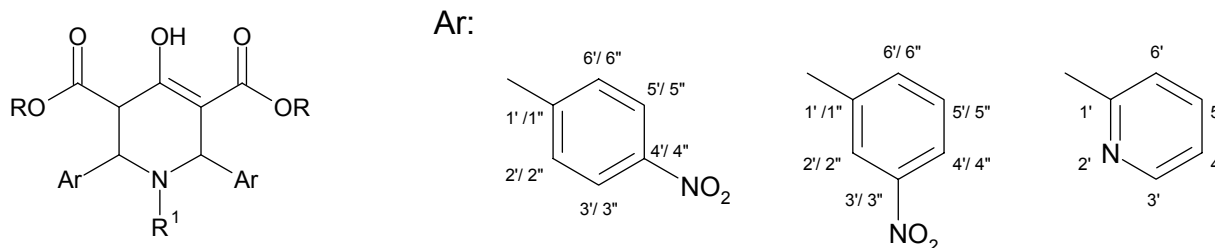
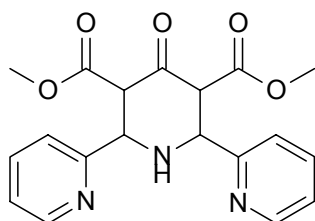


Tabelle 29 Literaturbekannte 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäurediester

Zur Auswertung der NMR-spektroskopischen Daten der Verbindungen **10c** und **10g-10n** wurde folgende Nummerierung für die Aromaten in Position 2 und 6 verwendet:



11.12.1 (2*R*,6*S*)-4'-Oxo-1',2',3',4',5',6'-hexahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (**10c**)



Summenformel:	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₅
Molare Masse:	369.4 g/mol
Ausbeute:	33 % (67 %) ⁸⁹
Schmelzpunkt:	175 °C (170-171 °C) ⁸⁹

¹H-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm, J = Hz)

2.94 (t, 1H, ³J = 12.3, NH); 3.53 (s, 6H, COOCH₃); 4.25 (d, 2H, ³J_{aa} = 10.5, CHC=O); 4.62 (dd, 2H, ³J = 12.3, ³J_{aa} = 10.5, CHNH); 7.32 (ddd, 2H, J = 1.0, J = 4.8, J = 7.6, H6' oder H4'); 7.45 (d, 2H, J = 7.8, H6' oder H4'); 7.78 (dt, 2H, J = 7.6, J = 1.8, H5'); 8.50-8.56 (m, 2H, H3')

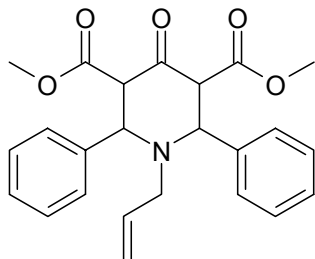
¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ = ppm)

51.6 (COOCH₃); 61.6 (CHC=O); 63.0 (CHNH); 123.2 (C4'/C6'); 137.0 (C5'); 148.9 (C3'); 158.0 (C1'); 168.6 (COOCH₃); 202.1 (C=O)

IR (cm⁻¹)

3296; 3021; 2954; 1739; 1701; 1432; 1335; 1213; 1110; 816; 776

11.12.2 (2*R*,6*S*)-1-Allyl-4-oxo-2,6-diphenylpiperidin-3,5-dicarbonsäure-dimethylester (10f)



Summenformel:	C ₂₄ H ₂₅ NO ₅
Molare Masse:	407.5 g/mol
Ausbeute:	81 % (60 %) ⁹⁰
Schmelzpunkt:	142 °C (160-161 °C) ⁹⁰

Verhältnis Keton:Enol 4:3 (bestimmt aus dem Integralverhältnis der Signale COOCH₃)

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

2.79-2.86 (m, 4H, NCH₂CH=CH₂, Keton, NCH₂CH=CH₂, Enol); 3.53 (s, 6H, COOCH₃, Keton); 3.64, 3.68 (2s, je 3H, COOCH₃, Enol); 3.81-3.90 (m, 2H, CHC=O, Keton); 3.94 (d, 1H, ³J_{aa} = 10.1, CHC-OH, Enol); 4.35-4.45 (m, 3H, NCH, Keton, NCHCH, Enol); 4.59-4.66 (m, 1H, NCH₂CH=CH₂, Keton); 4.84 (s, 1H, NCHCq, Enol); 5.06-5.19 (m, 3H, NCH₂CH=CH₂, Keton, NCH₂CH=CH₂, Enol); 5.67-5.87 (m, 2H, NCH₂CH=CH₂, Keton, NCH₂CH=CH₂, Enol); 7.20-7.49 (m, 20H, CH_{ar}, Keton, CH_{ar}, Enol); 12.45 (OH, Enol)

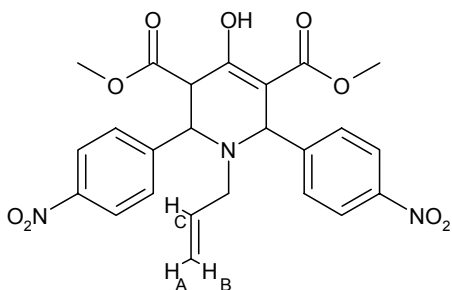
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

46.8 (CHC-OH, Enol); 49.6, 50.9 (NCH₂CH=CH₂, Keton und Enol); 52.0, 52.7 (COOCH₃, Enol); 52.2 (COOCH₃, Keton); 57.8, 57.9 (NCH, Keton); 64.9, 66.3 (NCH, Enol); 99.0 (C=C-OH, Enol); 117.7 (NCH₂CH=CH₂, Keton); 120.5 (NCH₂CH=CH₂, Enol); 127.2, 127.8, 128.1, 128.2, 128.4, 128.5, 128.5, 128.9, 129.2, 130.1 (NCH₂CH=CH₂, Enol und CH_{ar}, Keton und Enol); 136.8 (NCH₂CH=CH₂, Keton); 138.8, 139.5, 141.8 (Cq_{ar}, Keton und Enol); 167.4 (C=C-OH, Enol und COOCH₃, Keton); 171.1, 172.3 (C=O, Enol); 197.5 (C=O, Keton)

IR (cm⁻¹)

2951; 2847; 1738; 1653; 1438; 1273; 1209; 764; 698

11.12.3 (2R,6S)-1-Allyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (10g)



Summenformel: $C_{24}H_{23}N_3O_9$

Molare Masse: 497.5 g/mol

Ausbeute: 39 %

Schmelzpunkt: 154-155 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ = ppm, J = Hz)

2.70-2.96 ($\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 3.54, 3.59 (2s, je 3H, COOCH_3); 3.90 (dd, 2H, $^3J_{aa} = 9.9$, $^3J = 2.0$, CHCOOCH_3); 4.42 (d, 2H, $J = 9.6$, $\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 4.86-4.95 (m, 2H, NCHCq , H_B); 5.23 (dd, 1H, $^3J_{AC} = 10.2$, $^2J_{AB} = 1.4$, H_A); 5.71-5.86 (m, 1H, H_C); 7.53-7.59 (m, 4H, $\text{H}3'/3''$, $\text{H}5'/\text{H}5''$); 8.15-8.24 (m, 4H, $\text{H}6'/6''$, $\text{H}2'/\text{H}2''$); 12.24 (OH)

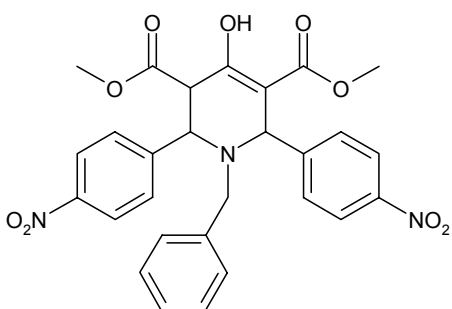
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ = ppm)

51.5 ($\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 51.9, 52.7 (COOCH_3); 55.3 (CHCOH); 59.7 (NCHCq); 62.6 (NCHCH); 101.4 ($\text{Cq}=\text{COH}$); 121.1 ($\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 123.4, 124.2 ($\text{C}6'/6''$, $\text{C}2'/2''$); 129.6, 130.1 ($\text{C}5'/5''$, $\text{C}3'/3''$); 130.2 ($\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 145.9, 151.0 ($\text{C}4'/4''$); 147.4, 148.2, ($\text{C}1'/1''$); 165.6 ($\text{Cq}=\text{COH}$); 168.6, 170.5 ($\text{C}=\text{O}$)

IR (cm^{-1})

2953; 1733; 1665; 1518; 1439; 1346; 1243; 696

11.12.4 (2R,6S)-1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (10h)



Summenformel: $C_{28}H_{25}N_3O_9$

Molare Masse: 547.6 g/mol

Ausbeute: 12 %

Schmelzpunkt: 163-171 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

3.52, 3.66 (2d, je 1H, NCH₂); 3.55, 3.59 (2s, je 3H, COOCH₃); 3.95 (dd, 1H, ³J_{aa} = 9.6, ³J = 1.8, NCHCH); 4.49 (d, 1H, ³J_{aa} = 9.6, NCHCH); 4.79 (d, 1H, ⁴J = 1.5, NCHCq); 6.78-6.83 (m, 2H, CH_{Benzyl}); 7.05-7.15 (m, 3H, CH_{Benzyl}); 7.42-7.52 (m, 4H, H3'/H3'', H5'/H5''); 8.06-8.11 (m, 4H, H2'/H2'', H6'/H6''); 12.27 (s, 1H, OH)

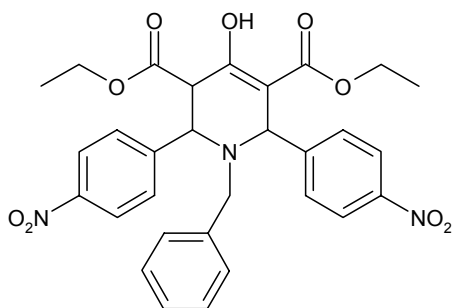
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

52.0; 52.7 (COOCH₃); 54.5 (NCHCH); 56.5 (NCH₂); 61.6 (NCHCH); 64.7 (NCHCq); 101.3 (C=COH); 123.2, 123.8 (C2'/C2'', C6'/C6''); 127.5, 128.4, 129.0 (CH_{Benzyl}); 129.7, 130.0 (C3'/C3'', C5'/C5''); 137.0 (Cq_{Benzyl}); 146.4 (C4'/C4''); 151.3 (C1'/C1''); 165.8 (C=COH); 168.5, 170.4 (C=O)

IR (cm⁻¹)

2833; 1740; 1657; 1516; 1444; 1344; 1253; 731; 695

11.12.5 (2R,6S)-1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (10i)



Summenformel: C₃₀H₂₉N₃O₉

Molare Masse: 575.7 g/mol

Ausbeute: 7 %

Schmelzpunkt: 181-184 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

1.10-1.11 (m, 6H, COOCH₂CH₃); 3.49-3.72 (2d, je 1H, ²J = 14.9, NCH₂); 3.95-4.10 (m, 5H, COOCH₂CH₃, NCHCH); 4.48 (d, 1H, ³J_{aa} = 9.6, NCHCH); 4.86 (d, 1H, ⁴J = 1.5, NCHCq); 6.74-6.80 (m, 2H, CH_{Benzyl}); 7.02-7.13 (m, 3H, CH_{Benzyl}); 7.43-7.54 (m, 4H, H3'/H3'', H5'/H5''); 8.04-8.12 (m, 4H, H2'/H2'', H6'/H6''); 12.39 (OH)

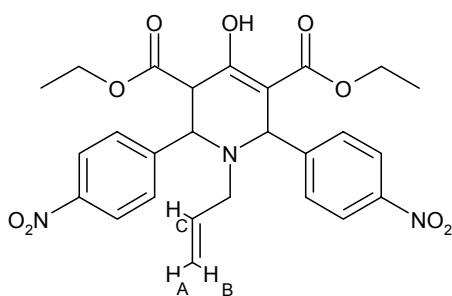
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

14.0, 14.1 (CH_2CH_3); 54.7 (CHCOH); 56.5 ($\text{NCH}_2\text{Benzyl}$); 61.4, 61.8 (CH_2CH_3); 62.2 (NCHCH); 65.1 (NCHCq); 101.2 ($\text{C}=\text{COH}$); 123.2, 123.7 ($\text{C}2'/2''$, $\text{C}6'/6''$); 127.4, 128.3, 128.8 ($\text{CH}_{\text{Benzyl}}$); 130.0, 130.3 ($\text{C}3'/3''$, $\text{C}5'/5''$); 137.0 ($\text{Cq}_{\text{Benzyl}}$); 146.1, 151.2 ($\text{C}1'/1''$); 147.1, 148.0 ($\text{C}4'/4''$); 166.1 ($\text{C}=\text{COH}$); 168.0, 170.1 ($\text{C}=\text{O}$)

IR (cm^{-1})

2988; 2857; 1740; 1655; 1516; 1345; 1243; 749; 698

11.12.6 (2*R*,6*S*)-1-Allyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (10k)



Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_9$
 Molare Masse: 525.5 g/mol
 Ausbeute: 28 %
 Schmelzpunkt: 150-151 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$, $J = \text{Hz}$)

1.00-1.07 (m, 6H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 2.81-2.98 (m, 2H, NCH_2); 3.95-4.07 (m, 5H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, CHC-OH); 4.44 (d, 2H, $^3J_{aa} = 9.9$, NCHCH); 4.86-4.95 (m, 2H; NCHCq , H_B); 5.25 (dd, 1H, $^3J_{AC} = 12.2$, $^2J_{AB} = 0.9$, H_A); 5.75-5.88 (m, 1H, H_C); 7.57-7.67 (m, 4H, $\text{H}3'/3''$, $\text{H}5'/5''$); 8.17-8.25 (m, 4H, $\text{H}2'/2''$, $\text{H}6'/6''$); 12.38 (OH)

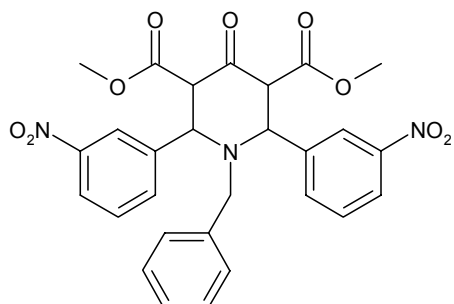
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

14.0, 14.1 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 51.4 (NCH_2); 55.1 (NCHCH); 61.4, 61.8 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 62.2, 63.0 (NCH); 101.0 ($\text{C}=\text{COH}$); 123.3, 124.1 ($\text{C}2'/2''$, $\text{C}6'/6''$); 123.9 ($\text{NCHCH}=\text{CH}_2$); 129.8 ($\text{NCHCH}=\text{CH}_2$); 130.0, 130.5 ($\text{C}3'/3''$, $\text{C}5'/5''$); 147.5 ($\text{C}4'/4''$); 148.2 ($\text{C}1'/1''$); 165.9 ($\text{C}=\text{COH}$); 168.1, 170.1 ($\text{C}=\text{O}$)

IR (cm^{-1})

2981; 2863; 1736; 1661; 1518; 1344; 1245; 700

11.12.7 (2R,6S)-1-Benzyl-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbon-säuredimethylester (10l)



Summenformel:	C ₂₈ H ₂₅ N ₃ O ₉
Molare Masse:	547.5 g/mol
Ausbeute:	15 %
Schmelzpunkt:	144-146 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

3.52 (s, 2H, NCH₂); 3.57 (s, 6H, COOCH₃); 4.01 (d, 2H, ³J_{aa} = 10.9, CHCOOCH₃); 4.55 (d, 2H, ³J_{aa} = 10.9, NCH); 6.65-6.72 (m, 2H, CH_{Benzyl}); 6.98-7.02 (m, 3H, CH_{Benzyl}); 7.47 (t, 2H, J = 8.0, H5'/5''); 7.76-7.81 (m, 2H, H6'/6''); 8.06-8.10 (m, 2H, H2'/2'' oder H4'/4''); 8.34 (t, 2H, J = 1.9, H4'/4'' oder H2'/2'')

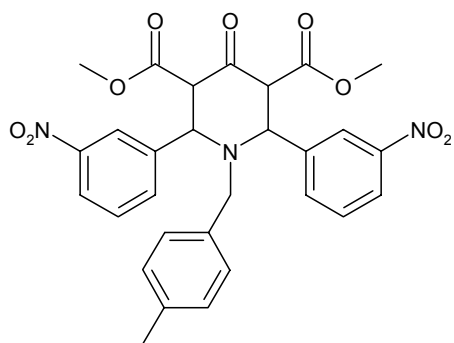
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

52.6 (COOCH₃); 55.6 (CH₂); 63.9 (CHC=O); 68.3 (NCH); 123.8, 123.9 (C2'/2''/C4'/4''); 127.1, 128.2, 128.3 (CH_{Benzyl}); 129.8 (C5'/5''); 135.1 (C6'/6''); 137.0 (Cq_{Benzyl}); 141.3 (C1'/1''); 148.4 (C3'/3''); 166.6 (COOCH₃); 195.7 (C=O)

IR (cm⁻¹)

2953; 1748; 1528; 1441; 1348; 1242; 805; 741; 693

11.12.8 (2R,6S)-1-(4-Methylbenzyl)-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbon-säuredimethylester (10m)



Summenformel:	C ₂₉ H ₂₇ N ₃ O ₉
Molare Masse:	561.6 g/mol
Ausbeute:	41 %
Schmelzpunkt:	170-172 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

2.19 (s, 3H, CqCH₃); 3.52 (s, 2H, NCH₂); 3.56 (s, 6H, COOCH₃); 4.07 (d, 2H, ³J_{aa} = 11.1, CHC=O); 4.57 (d, 2H, ³J_{aa} = 11.1, NCH); 6.57 (d, 2H, J = 7.8, H₃/5_{Benzyl}); 6.84 (d, 2H, J = 7.8, H₂/6_{Benzyl}); 7.50 (t, 2H, J = 7.1, H₅'/5''); 7.87 (m, 2H, H₆'/6''); 8.08-8.15 (m, 2H, H₂'/2'' oder H₄'/4''); 8.34 (s, 2H, H₄'/4'' oder H₂'/2'')

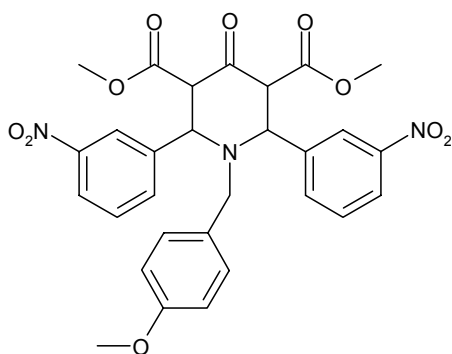
¹³C-NMR (CDCl₃, δ = ppm)

20.9 (CH₃); 52.7 (OCH₃); 55.0 (NCH₂); 63.8 (CHC=O); 67.9 (NCH); 123.9, 124.0 (C₂'/2''/C₄'/4''); 128.4, 129.1 (CH_{Benzyl}); 129.9 (C₅'/5''); 135.1 (CH₂Cq_{Benzyl}, C₆'/6''); 137.3 (Cq_{Benzyl}CH₃); 141.1 (C₁'/1''); 148.5 (C₃'/3''); 166.6 (COOCH₃); 195.5 (C=O)

IR (cm⁻¹)

2956; 1732; 1530; 1437; 1350; 1259; 1171; 810; 736; 695

11.12.9 (2R,6S)-1-(4-Methoxybenzyl)-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-4-oxo-piperidin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (10n)



Summenformel: C₂₉H₂₇N₃O₁₀

Molare Masse: 577.5 g/mol

Ausbeute: 29 %

Schmelzpunkt: 159-161 °C

¹H-NMR (CDCl₃, δ = ppm, J = Hz)

3.49 (s, 2H, NCH₂); 3.56 (s, 6H, COOCH₃); 3.71 (s, 3H, OCH₃); 4.01 (d, 2H, ³J_{aa} = 11.1, CHC=O); 4.56 (d, 2H, ³J_{aa} = 11.1, NCH); 6.57-6.62 (m, 4H, CH_{Benzyl}); 7.52 (t, 2H, J = 7.6, H₅'/5''); 7.84 (m, 2H, H₆'/6''); 8.12 (m, 2H, H₂'/2'' oder H₄'/4''); 8.36 (s, 2H, H₄'/4'' oder H₂'/2'')

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , $\delta = \text{ppm}$)

52.6 (COOCH_3); 54.4 (NCH_2); 55.4 (OCH_3); 63.9 (CHC=O); 67.5 (NCH); 113.8, 123.8, 123.9, 129.8, 129.9, 135.0, ($\text{C}2'/2''$, $\text{C}4'/4''$, $\text{C}5'/5''$, $\text{C}6'/6''$, $\text{CH}_{\text{Benzyli}}$); 137.3 ($\text{Cq}_{\text{BenzyliCH}_3}$); 141.1, 141.4, 148.5, 158.8 (Cq_{ar}); 166.6 (COOCH_3); 195.6 (C=O)

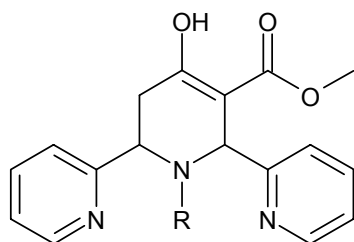
IR (cm^{-1})

3536; 3088; 2957; 1732; 1524; 1436; 1352; 1248; 1172; 813; 741; 694

11.13 Synthese der literaturbekannten Piperidin-Monocarbonsäureester (11a-11d)

Allgemeine Synthesevorschrift (modifiziert nach^{91,92,93}):

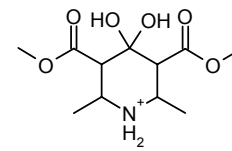
In 30ml MeOH werden 20 mmol Pyran-2,4,6-trion vorgelegt und gerührt, bis das Anhydrid gelöst ist. Der Reaktionsansatz wird auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. 20 mmol des entsprechendenamins und 40 mmol des entsprechenden aromatischen Aldehyds Ar-CHO werden in jeweils 20ml MeOH gelöst und parallel zutropft. Die Temperatur darf während des Zutropfens $-20\text{ }^\circ\text{C}$ nicht überschreiten. Anschließend erfolgt weiteres Rühren bei max. $-10\text{ }^\circ\text{C}$ für 2 h. Lösungsmittel unter Vakuum und bei $25\text{ }^\circ\text{C}$ vollständig entfernen. Der verbleibende Rückstand wird mit wenig MeOH überschichtet und das Produkt bei $4\text{ }^\circ\text{C}$ auskristallisiert. Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.^{91,92}



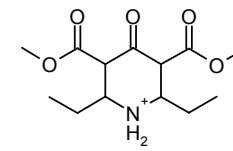
Substanz	R	M_r [g/mol]	Summenformel	Smt. [$^\circ\text{C}$]	Aubeute [%]
11a	Benzyl	$\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3$	401.5	155 (163-164) ⁹³	33 (53) ⁹³
11b	4-Methylbenzyl	$\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$	415.5	145 (144) ⁹¹	72 (41) ⁹¹
11c	4-Cl-benzyl	$\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_3$	435.9	141 (142) ⁹¹	68 (49) ⁹¹
11d	4-Methoxybenzyl	$\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4$	431.5	140 (140) ⁹¹	43 (46) ⁹¹

Tabelle 30 Synthetisierte Monocarbonsäureester-Derivate

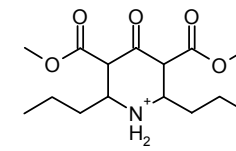
12 Anhang



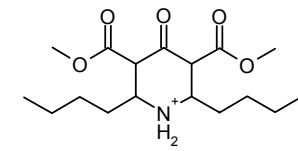
2a



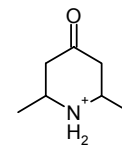
2b



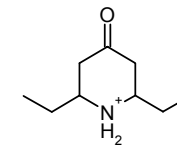
2c



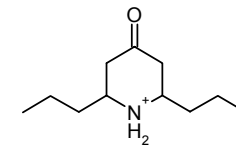
2d



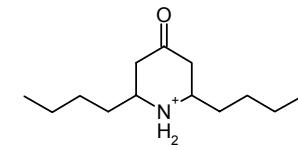
3a



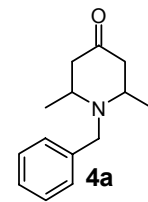
3b



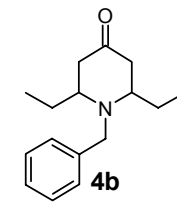
3c



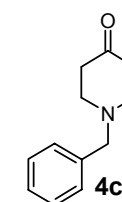
3d



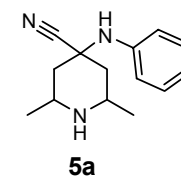
4a



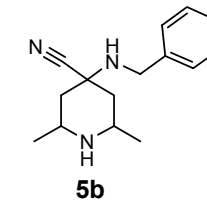
4b



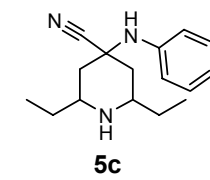
4c



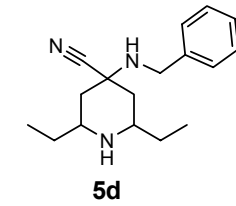
5a



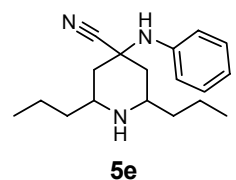
5b



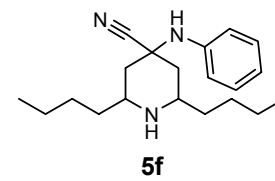
5c



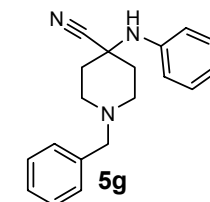
5d



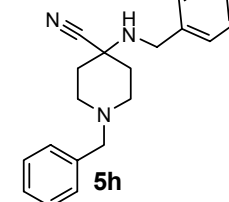
5e



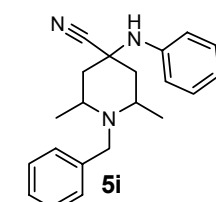
5f



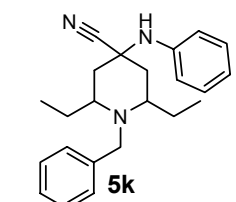
5g



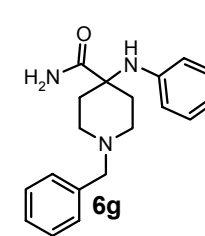
5h



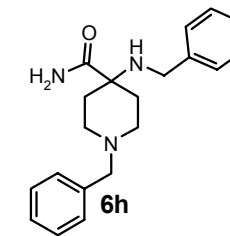
5i



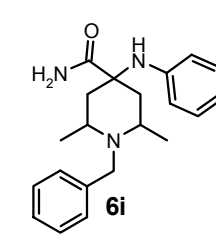
5k



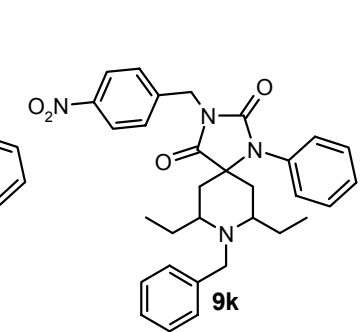
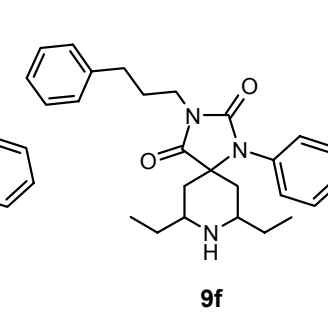
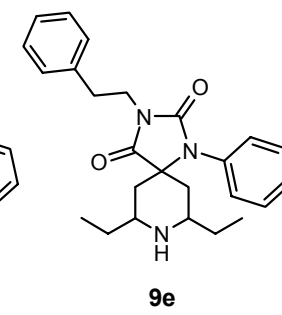
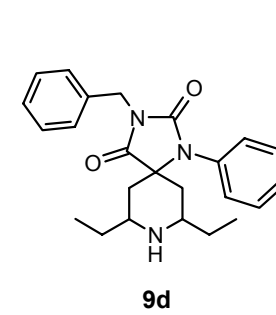
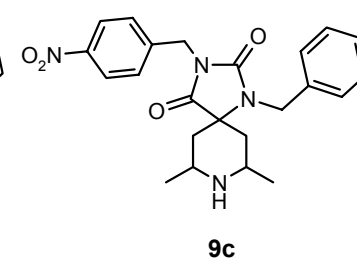
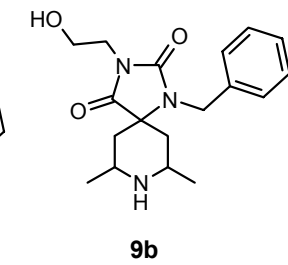
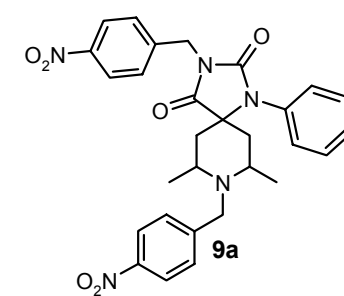
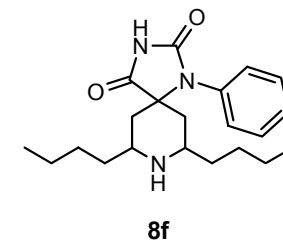
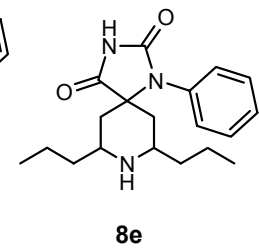
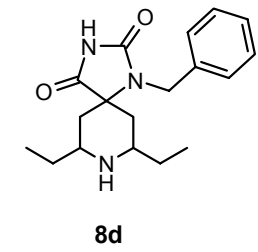
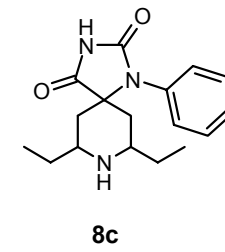
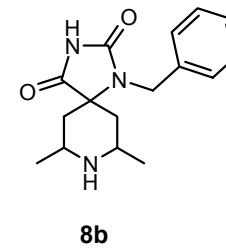
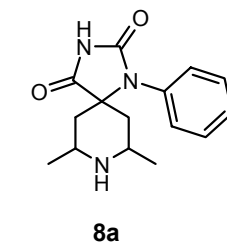
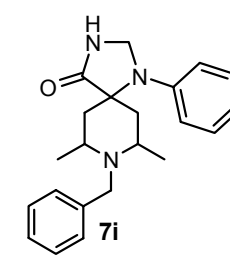
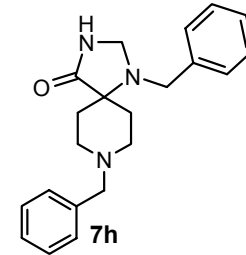
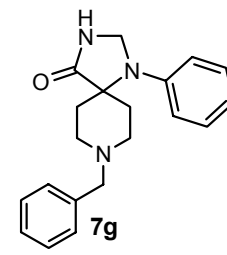
6g

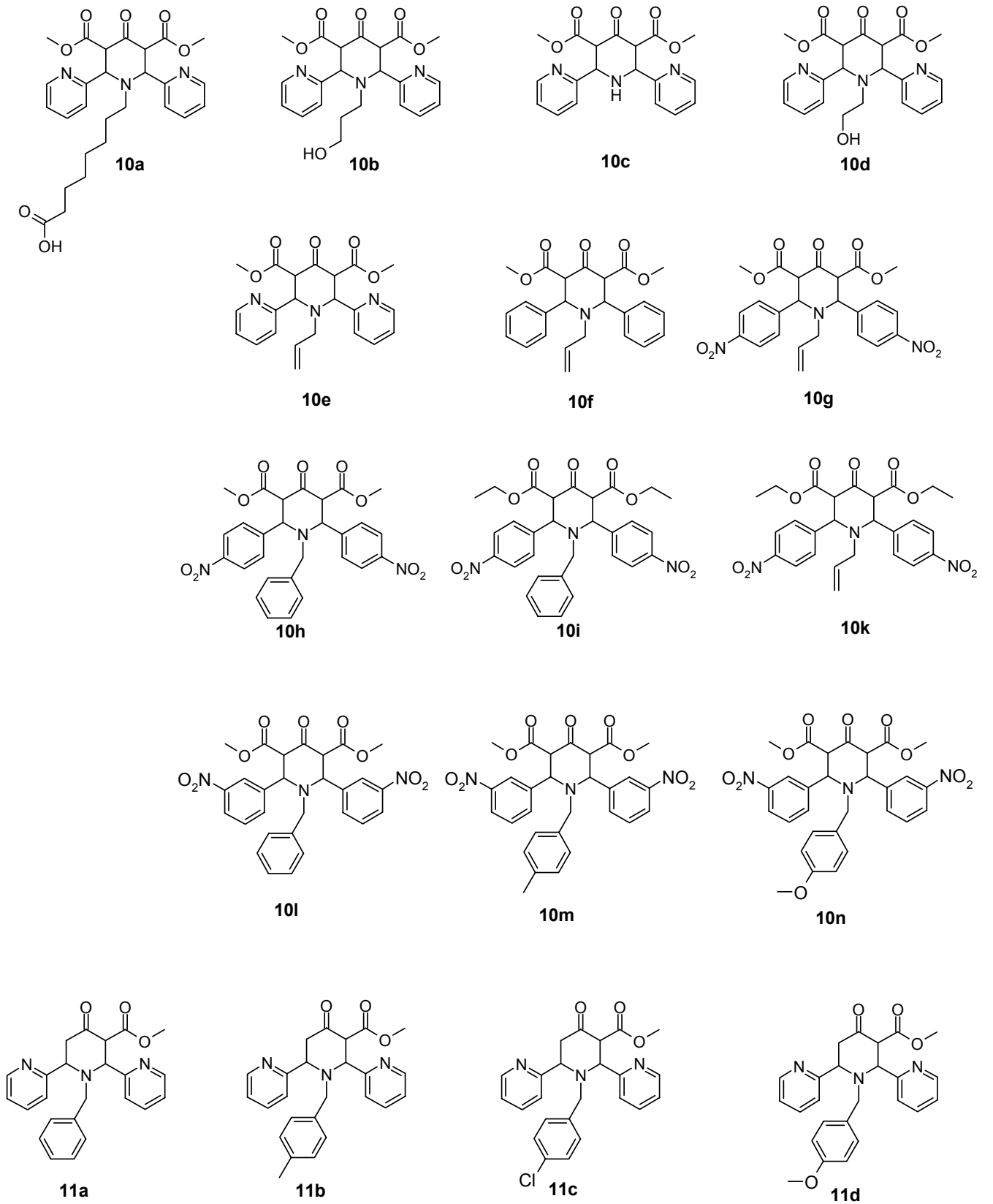


6h



6i





13 Literaturverzeichnis

- ¹ Mollereau C, Parmentier M, Mailleux P, Butour JL, Moisand C, Chalon P, Caput D, Vassart G, Meunier JC (1994) *FEBS Lett* 341: 33-38
- ² Meunier JC (1997) *Eur J Pharmacol* 340: 1-15
- ³ New DC, Wong YH (2002) *Neurosignals* 11: 197-212
- ⁴ Hawes BE, Graziano MP, Lambert DG (2000) *Peptides* 21: 961-967
- ⁵ Harrison LM, Grandy DK (2000) *Peptides* 21: 151-172
- ⁶ Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Suaudeau C, Moisand C, Alvinerie P, Butour JL, Guillemot JC, Ferrara P, Monsarrat B, Mazarguil H, Vassart G, Parmentier M, Costentin J (1995) *Nature* 377: 532-535
- ⁷ Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A, Ardati A, Henningsen RA, Buzow JR, Grandy DK, Langen H, Monsma FJ, Civelli O (1995) *Science* 270: 792-794
- ⁸ Mollereau C, Mouledous L (2000) *Peptides* 21: 907-917
- ⁹ Mogil JS, Pasternak GW (2001) *Pharmacol Rev* 53: 381-415
- ¹⁰ Meunier JC, Mouledous L, Topham CM (2000) *Peptides* 21: 893-900
- ¹¹ Calo G, Guerrini R, Rizzi A, Salvadori S, Regoli D (2000) *Br J Pharmacol* 129: 1261-1283
- ¹² Grond S, Meuser T, Pietruck C, Sablotzki A (2002) *Anaesthesist* 51: 996-1005
- ¹³ Henderson G, McKnight AT (1997) *TiPS* 18: 293-300
- ¹⁴ Pan ZZ, Hirakawa N, Fields HL (2000) *Neuron* 26: 515-522
- ¹⁵ Zaveri N (2003) *Life Sci* 73: 663-678
- ¹⁶ Zaveri N, Polgar WE, Olsen CM, Kelson AB, Grundt P, Lewis JW, Toll L (2001) *Eur J Pharmacol* 428: 29-36
- ¹⁷ Chen Z, Goehring RR, Valenzano KJ, Kyle DJ (2004) *Bioorg Med Chem Lett* 14: 1347-1351
- ¹⁸ Wnendt S, Straßburger W, Buschmann H, Reiss-Müller E, Krüger T (Grünenthal GmbH) (2001) WO0112195
- ¹⁹ Kawamoto H, Ozaki S, Itoh Y, Miyaji M, Arai S, Nakashima H, Kato T, Ohta H, Iwasawa Y (1999) *J Med Chem* 42: 5061-5063

-
- ²⁰ Ozaki S, Kawamoto H, Itoh Y, Miyaji M, Azuma T, Ichikawa D, Nambu H, Iguchi T, Iwasawa Y, Ohta H (2000) *Eur J Pharmacol* 402: 45-53
- ²¹ Yamada H, Nakamoto H, Suzuki Y, Ito T, Aisaka K (2002) *Br J Pharmacol* 135: 323-332
- ²² Suyama H, Kawamoto M, Gaus S, Yuge O (2003) *Neurosci Lett* 351: 133-136
- ²³ Zaratini PF, Petrone G, Sbacchi M, Garnier M, Fossati C, Petrillo P, Ronzoni S, Giardina GAM, Scheideler M (2004) *J Pharmacol Exp Ther* 308: 454-461
- ²⁴ Wu WL, Caplen MA, Domalski MS, Zhang H, Fawzi A, Burnett DA (2002) *Bioorg Med Chem Lett* 12: 3157-3160
- ²⁵ Kolczewski S, Adam G, Cesura AM, Jenck F, Hennig M, Oberhauser T, Poli SM, Rössler F, Röver S, Wichmann J, Dautzenberg FM (2003) *J Med Chem* 46: 255-264
- ²⁶ Jenck F, Wichmann J, Dautzenberg FM, Moreau JL, Ouagazzal AM, Martin JR, Lundstrom K, Cesura AM, Poli SM, Roever S, Kolczewski S, Adam G, Kilpatrick G (2000) *PNAS* 97: 4938-4943
- ²⁷ Obara I, Przewlocki R, Przewlocka B (2005) *Pain* 116: 17-25
- ²⁸ Kotlinska J, Wichmann J, Rafalski P, Talarek S, Dylag T, Silberring J (2003) *Neuroreport* 14: 601-604
- ²⁹ WHO, The World Health Report (2004) *Annex Table 2*: 120-125
- ³⁰ WHO, The World Health Report (2003) *Annex Table 2*: 154-159
- ³¹ RKI (2000) *Epidemiol Bull*, Nr. 20
- ³² Phillips RS (2001) *Clin Microbiol Rev* 14: 208-226
- ³³ Ridley RG (2002) *Nature* 415: 686-693
- ³⁴ Rosenthal PJ (2003) *J Exp Biol* 206: 3735-3744
- ³⁵ Wiesner J, Ortmann R, Jomaa H, Schlitzer M (2003) *Angew Chem Int Ed* 42: 5274-5293
- ³⁶ Centres for Disease Control and Prevention, Division of Parasitic Diseases: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/>
- ³⁷ Stich A, Steverding D (2002) *BIUZ* 5: 294-302
- ³⁸ Tyler KM, Engman DM (2001) *Int J Parasitol* 31: 472-481
- ³⁹ Burchmore RJS, Ogbunode POJ, Enanga B, Barrett MP (2002) *Curr Pharmaceut Des* 8: 257-267

-
- ⁴⁰ Stich A, Barrett MP, Krishna S (2003) *Trends Parasitol* 19: 195-197
- ⁴¹ Legros D, Ollivier G, Gastellu-Etcheberry M, Paquet C, Burri C, Jannin J, Büscher P (2002) *Lancet Infect Dis* 2: 437-440
- ⁴² Keiser J, Stich A, Burri C (2001) *Trends Parasitol* 17: 42-49
- ⁴³ Luquetti AO (1997) *Parasitol Tod* 13:127-128
- ⁴⁴ Kaiser AE, Gottwald AM, Wiersch CS, Maier WA, Seitz HM (2003) *Fol Parasitol* 50: 3-18
- ⁴⁵ Heby O, Roberts SC, Ullman B (2003) *Biochem Soc Trans* 31: 415-419
- ⁴⁶ Müller S, Coombs GH, Walter RD (2001) *Trends Parasitol* 17: 242-249
- ⁴⁷ Clement PMJ, Hanauske-Abel HM, Wolff EC, Kleinman HK, Park MH (2002) *Int J Cancer* 100: 491-498
- ⁴⁸ Csonga R, Ettmayer P, Auer M, Eckerskorn C, Eder J, Klier H (1996) *FEBS Lett* 380: 209-214
- ⁴⁹ Lee YB, Folk JE (1998) *Bioorg Med Chem* 6: 253-270
- ⁵⁰ Kaiser A, Gottwald A, Wiersch C, Lindenthal B, Maier W, Seitz HM (2001) *Parasitol Res* 87: 963-972
- ⁵¹ Moritz E, Seidensticker S, Gottwald A, Maier W, Hoerauf A, Njuguna JT, Kaiser A (2004) *Parasitol Res* 94: 37-48
- ⁵² Saeftel M, Sarite Ramadan S, Njuguna T, Holzgrabe U, Ulmer D, Hoerauf A, Kaiser A (2006) *Parasitol Res* (im Druck)
- ⁵³ Kaiser A, Gottwald A, Maier W, Seitz HM (2003) *Parasitol Res* 91: 508-516
- ⁵⁴ Kaiser A, Maier W (2002) *DMW* 127: 1595-1600
- ⁵⁵ Andrus L, Szabo P, Grady RW, Hanauske AR, Huima-Byron T, Slowinska B, Zagulska S, Hanauske-Abel HM (1998) *Biochem Pharmacol* 55: 1807-1818
- ⁵⁶ Hauber I, Bevec D, Heukeshoven J, Krätzer F, Horn F, Choidas A, Harrer T, Hauber J (2005) *J Clin Invest* 115: 76-85
- ⁵⁷ Röver S, Wichmann J, Jenck F, Adam G, Cesura AM (2000) *Bioorg Med Chem Lett* 10: 831-834
- ⁵⁸ Wichmann J, Adam G, Röver S, Hennig M, Scalone M, Cesura AM, Dautzenberg FM, Jenck F (2000) *Eur J Med Chem* 35: 839-851

-
- ⁵⁹ Wichmann J, Adam G, Röver S, Cesura AM, Dautzenberg FM, Jenck F (1999) *Bioorg Med Chem Lett* 9: 2343-2348
- ⁶⁰ Holzgrabe U, Friedrichsen W, Hesse KF (1991) *Z Naturforsch B* 46: 1237-1250
- ⁶¹ Siener T, Holzgrabe U, Drosihn S, Brandt W (1999) *J Chem Soc, Perkin Trans 2*: 1827-1834
- ⁶² Röver S, Adam G, Cesura AM, Galley G, Jenck F, Monsma FJ, Wichmann J, Dautzenberg FM (2000) *J Med Chem* 43: 1329-1338
- ⁶³ Sulsky R, Gougoutas JZ, DiMarco J, Biller SA (1999) *J Org Chem* 64: 5504-5510
- ⁶⁴ Adam G, Cesura A, Galley G, Jenck F, Monsma F, Röver S, Wichmann J (1998) EP0856514A1
- ⁶⁵ Adam G, Cesura A, Galley G, Jenck F, Röver S, Wichmann J (1999) EP0921125A1
- ⁶⁶ Janssen PAJ (1964) US3155669
- ⁶⁷ Janssen PAJ (1964) US3161644
- ⁶⁸ Pospisil J, Potacek M (2004) *Heterocycles* 63: 1165-73
- ⁶⁹ Mavunkel BJ, Lu Z, Goehring RR, Lu S, Chakravarty S, Perumattam J, Novotny EA, Connolly M, Valentine H, Kyle DJ (1996) *J Med Chem* 39: 3169-3173
- ⁷⁰ Roth HJ, Eger K, Issa S, Jacobi H (1979) DE2818676
- ⁷¹ Feldman PL, Brackeen MF (1990) *J Org Chem* 55: 4207-4209
- ⁷² Wiseman JR, Krabbenhoft HO, Lee RE (1977) *J Org Chem* 42: 629-632
- ⁷³ Lewin AH, Sun G, Fudala L, Navarro H, Zhou LM, Popik P, Faynsteyn A, Skolnick P (1998) *J Med Chem* 41: 988-995
- ⁷⁴ Kaneti J, Kirby AJ, Koedjikov AH, Pojarlieff IG (2004) *Org Biomol Chem* 2: 1098-1103
- ⁷⁵ Avdeef A, Berger CM, Brownell C (2000) *Pharm Res* 17: 85-89
- ⁷⁶ Pickett LW, McLean M (1939) *J Am Chem Soc* 61: 423-425
- ⁷⁷ Bringmann G, Hoerr V, Holzgrabe U, Stich A (2003) *Pharmazie* 58: 343-346
- ⁷⁸ Trager W, Williams J (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 5351-5355
- ⁷⁹ Moloney MB, Pawluk AR, Ackland NR (1990) *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84: 516-518
- ⁸⁰ Edwards MW, Garaffo HM, Daly JW (1994) *Synthesis* 11: 1167-1170

-
- ⁸¹ Mannich C (1930) DE510184
- ⁸² Mannich C (1934) *Arch Pharm* 272: 323-359
- ⁸³ van Parys M, Vandewalle M (1981) *Bull Soc Chim Belg* 90: 749-756
- ⁸⁴ Marco JL, Ingate ST, Chinchon PM (1999) *Tetrahedron* 55: 7625-7644
- ⁸⁵ Taber DF, Rahimizadeh M (1992) *J Org Chem* 57: 4037-4038
- ⁸⁶ Merz KW, Räuchle K (1960) *Arch Pharm* 293: 968-984
- ⁸⁷ Kuhl U "Synthese und Opioidrezeptor-Affinität verschieden substituierter 3,7-Diazabicyclo-[3.3.1]nonanone" (2000) Dissertation; Universität Würzburg
- ⁸⁸ Projahn H "Synthese, Stereochemie und pharmakologische Charakterisierung von 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan Derivaten als selektive κ -Agonisten" (2005) Dissertation; Universität Würzburg
- ⁸⁹ Merz KW, Haller R (1963) *Pharm Acta Helv* 38: 441-456
- ⁹⁰ Caujolle R, Lattes A (1979) *C R Acad Sci Ser C* 288: 217-220
- ⁹¹ Haller R, Kohlmorgen R (1976) *Arch Pharm* 309: 206-214
- ⁹² Holzgrabe U, Piening B, Hesse KF, Höltje HD, Worch M (1989) *Z Naturforsch B* 44: 565-574
- ⁹³ Haller R (1965) *Arch Pharm* 298: 787-794

14 Lebenslauf

Daniela Ulmer

Persönliche Angaben:

Geburtstag: 10. Juni 1976
Geburtsort: Aschaffenburg
Beruf: Apothekerin
Familienstand: ledig

Schulische Ausbildung:

1982 – 1986 Grundschule, Heigenbrücken
1986 – 1995 Hanns-Seidel-Gymnasium, Hösbach
Abschluss: Abitur

1995 – 1996 Mitarbeiterin in den Lebenshilfe-Werkstätten, Schmerlenbach und
MOTEX, Großostheim

Universitäre Ausbildung:

1996 – 2000 Pharmaziestudium an der Bayerischen Julius-Maximilians-
Universität, Würzburg
August 1998: 1. Staatsexamen
April 2000: 2. Staatsexamen

Mai 2000 Sechsmonatiges Pharmaziepraktikum in der St. Georgs-Apotheke,
Sailauf
November 2000 Sechsmonatiges Pharmaziepraktikum in der Bihlplatz-Apotheke,
Stuttgart
28. Juni 2001: 3. Staatsexamen
02. August 2001: Approbation als Apothekerin
bis Ende 2001 Apothekerin in Vollzeit in der Bihlplatz-Apotheke, Stuttgart

Promotion:

seit Januar 2002 Promotion im Fach Pharmazeutische Chemie unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Als wissenschaftliche Mitarbeiterin Semesterassistentin für das 6. Semester Pharmazie (*Arzneistoffanalytik unter besonderer Berücksichtigung der Arzneibücher (Qualitätskontrolle und –sicherung bei Arzneistoffen) und der entsprechenden Normen für Medizinprodukte*)

Erstellung von Arzneistoffmonographien für das *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*