

**Synthese und Charakterisierung allosterer Modulatoren
muscarinischer M₂-Rezeptoren**

—

**Strukturvariationen der Bis(ammonium)alkan-
Verbindung W84**

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

vorgelegt von
Mathias Muth
aus Würzburg

Würzburg 2004

Eingereicht am:
bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter:
2. Gutachter:
der Dissertation

1. Prüfer:
2. Prüfer:
3. Prüfer:
des Öffentlichen Promotionskolloquiums

Tag des Öffentlichen Promotionskolloquiums:
Doktorurkunde ausgehändigt am:

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 2000 bis März 2004 am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg unter der Anleitung von Frau Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe mit finanzieller Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft angefertigt.

Teile dieser Arbeit wurden bereits in folgender Form veröffentlicht:

Originalarbeiten

Muth M.; Bender W.; Scharfenstein O.; Holzgrabe U.; Balatkova E.; Tränkle C.; Mohr K.
Systematic development of high affinity bis(ammonio)alkane-type allosteric enhancers of muscarinic ligand binding
J Med Chem **2003**, 46, 1031-1040

Vortrag

Muth M.; Bender W.; Balatkova E.; Scharfenstein O.; Raasch A.; Tränkle C.; Mohr K.
Holzgrabe U.
Synthesis of bis(ammonio)alkane-type muscarinic allosteric modulators combining high affinity and positive cooperativity
Doktorandentagung der DPhG, Düsseldorf **2003**

Abstrakta und Kongressmitteilungen

Balatkova E.; Muth M.; Bender W.; Scharfenstein O.; Raasch A.; Tränkle C.; Mohr K.; Holzgrabe U.
Elevation of ligand binding to muscarinic to muscarinic M₂ acetylcholine receptors by bis(ammonio)alkane-type allosteric modulators
XVIIth International Symposium on Medicinal Chemistry, Barcelona 2002
Drugs Fut **2002**, 27 (Suppl. A), 277

Balatkova E.; Muth M.; Mohr K.; Holzgrabe U.
Molecular events leading to positive cooperativity in bis(ammonio)alkane-type muscarinic allosteric modulators
DPhG-Jahrestagung, Berlin 2002
Arch Pharm Pharm Med Chem **2002**, 335 (Suppl. 1), 1-159

Muth M.; Balatkova E.; Traenkle C.; Mohr K.; Holzgrabe U.
Synthesis of bis(ammonio)alkane-type muscarinic allosteric modulators combining high affinity and positive cooperativity
DPhG-Jahrestagung, Berlin 2002
Arch Pharm Pharm Med Chem **2002**, 335 (Suppl. 1), 1-159

Frunjang G.T.; Muth M.; Holzgrabe U.; Daiß J.O.; Tacke R.; Mohr K.

Probing the interaction of muscarinic allosteric agents with a model interphase

Frühjahrstagung der Dt. Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie, Mainz 2003

Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol **2003**, 367 (Suppl. 1), R26

Muth M.; Balatkova E.; Traenkle C.; Mohr K.; Holzgrabe U.

A QSAR-study describing the allosteric interactions of bis(ammonio)alkane-type allosteric modulators

DPhG-Jahrestagung, Würzburg **2003**

Schmalenbach C.; Muth M.; Tränkle C.; Holzgrabe U.; Mohr K.

Effect of the muscarinic alloster naphmethonium on acetylcholine induced G-Protein activation

DPhG-Jahrestagung, Würzburg **2003**

Disingrini T.; Muth M.; Barocelli E.; DeAmici M.; DeMicheli C.; Mohr K.; Holzgrabe U.

Allosteric modulation of muscarinic acetylcholine-receptors: oxotremorine-phthalimido-alkyl-hybrids of the hexamethonio-type

International Conference on Medicinal Chemistry, Copenhagen **2004**

Holzgrabe U.; Muth M.; Sennwitz M.; Tränkle C.; Mohr K.

Systematic development of enhancers of ligand binding to muscarinic acetylcholine receptors: bis(ammonio)alkane-type compounds

International Conference on Medicinal Chemistry, Copenhagen **2004**

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich während der Erstellung dieser Arbeit in den verschiedensten Bereichen unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe, unter deren Anleitung diese Arbeit entstand. Die freundliche Aufnahme in ihren Arbeitskreis, die interessante Aufgabenstellung, die im Laufe der Zeit in zahlreichen Gesprächen gemeinsam weiterentwickelt wurde, eine Vielzahl wertvoller Anregungen und Diskussionen sowie ihr stetes Interesse am Fortgang der Arbeit bildeten die Grundlage für die erfolgreiche Erstellung meiner Dissertation. Ebenso bedanke ich mich bei Frau Prof. Holzgrabe dafür, dass sie es mir ermöglicht hat, einen dreimonatigen Auslandsaufenthalt an der Universität Mailand zu verbringen.

Bei Prof. Dr. Klaus Mohr, Universität Bonn, sowie seinen Mitarbeitern Dr. Edith Balatková und Matthias Sennwitz bedanke ich mich herzlich für die sehr angenehme Zusammenarbeit im Rahmen gemeinsamer Publikationen und die rasche Erstellung der pharmakologischen Daten. Matthias Sennwitz danke ich insbesondere für die Anfertigung der pharmakologischen Diagramme.

Mein herzlicher Dank geht an Prof. Dr. Marco de Amici, der meine Arbeit während meines Aufenthaltes in Mailand betreut hat. Seine Gastfreundschaft und die vielen interessanten Gespräche über Oxotremorinderivate und „calcio“ haben dazu beigetragen, dass mir meine Zeit in Mailand in unvergesslicher Erinnerung bleiben wird. Mille grazie, Marco!

Terry Disingrini danke ich dafür, dass sie mir für die Synthese der Hybridmoleküle einige Vorstufen zur Verfügung gestellt hat und dass sie in Würzburg mit 50 cm² Schreibtischfläche auskam.

Vielen Dank an das gesamte NMR-Automationsteam der AKs Holzgrabe und Schirmeister sowie an die NMR-Abteilung im Institut für Organische Chemie für die Messung der NMR-Spektren.

Mein Dank geht auch an Nik Stiefl und Knut Baumann für die vielen interessanten Gespräche, die gute Zusammenarbeit im Praktikum und im Proberaum und den kleinen Einblick, den ich in ihr Arbeitsgebiet gewinnen konnte.

Bedanken möchte ich mich auch bei Rainer Zipf und Florian Diwischek für das angenehme und entspannte Arbeitsklima in Labor 213, das ich sicherlich sehr vermissen werde.

Ein Dankeschön geht an den gesamten AK Holzgrabe und vor allem an diejenigen, die für die gute Stimmung in und auf zahlreichen Ausflügen, Feten, Kaffeepausen und Weinproben verantwortlich waren.

Bei meiner Familie möchte ich mich für den Rückhalt und die Unterstützung bedanken, die sie mir während der Erstellung dieser Arbeit gewährt haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Steffi Matingen für die Durchführung der HPLC-Messungen und für einfach alles, was sie für mich getan hat. Danke, Steffi!

EINLEITUNG	1
1.1 Muscarinische Acetylcholinrezeptoren	1
1.1.1 Funktion und Aufbau	1
1.1.2 Subtypisierung.....	2
1.1.3 Ligand-Bindungs-Domänen	4
1.1.3.1 Orthostere Bindungsstelle.....	4
1.1.3.2 Allosterie Bindungsstelle	4
1.2 Allosterie Modulation von Muscarinrezeptoren	5
1.2.1 Definition und Funktionsweise	5
1.2.2 Vorteile und therapeutisches Potential allosterer Modulatoren	7
1.2.3 Klassische allosterie Modulatoren des M ₂ -Rezeptors	9
1.2.3.1 Gemeinsame allosterie Bindungsstelle	11
1.2.4 Strukturvariationen von Hexamethonium-Derivaten	13
1.2.5 Pharmakophormodell	15
1.3 Aufgabenstellung	17
2 SYNTHESE DER ZIELVERBINDUNGEN	21
2.1 Synthese symmetrischer und unsymmetrischer W84-Derivate	21
2.1.1 Synthese trifluormethyl- und trifluormethylthiosubstituierter Phthalsäureanhydride.....	23
2.1.1.1 Synthese von 5-Trifluormethylphthalsäureanhydrid	23
2.1.1.2 Versuch der Synthese von 5-Trifluormethylthiophthalsäureanhydrid	24
2.1.2 Synthese von 3-Amino-1,8-naphthalsäureanhydrid	26
2.1.3 Synthese einfach substituierter N,N-Dimethylpropan-1,3-diamine	27
2.1.3.1 Synthese von N,N,2-Trimethylpropan-1,3-diamin	27
2.1.3.2 Versuch der Synthese von 2-Chlor-3-(N,N-dimethylamino)propannitril	28
2.1.3.3 Versuch der Synthese von 2-Ethacrylnitril	28
2.1.4 Synthese der N-[3-(N',N'-Dimethylamino)propyl]-phthalimide bzw. -naphthalimide	29
2.1.5 Synthese der Zwischenprodukte 2 zur Herstellung unsymmetrischer W84-Derivate.....	31
2.1.5.1 Versuch der Synthese der amino-substituierten Verbindung 2j	32
2.1.6 Synthese der unsymmetrischen W84-Derivate	33
2.1.6.1 Diskussion des ¹ H-NMR-Spektrums der Verbindung 3a	35
2.1.6.2 Synthese aminosubstituierter Naphmethonium-Derivate	37
2.1.7 Synthese von Vorstufen zur Herstellung symmetrischer W84-Derivate	38
2.1.7.1 Synthese einfach und zweifach alkylierter Malonsäurediethylester	38

2.1.7.2	Synthese einfach und zweifach alkylierter 1,3-Propandiolderivate	39
2.1.7.3	Synthese einfach alkylierter 1,3-Dibromderivate.....	39
2.1.7.4	Versuch der Synthese von 2-Ethyl-2-methyl-1,3-dibrompropan	40
2.1.7.5	Synthese alkylierter N-(3-Brompropyl)phthalimidderivate	41
2.1.7.6	Synthese von N-(3-Brompropyl)-1,8-naphthalimid	42
2.1.7.7	Versuch zur Synthese von N-(3-Brom-2,2-dimethoxypropyl)phthalimid	43
2.1.7.8	Synthese von N-(3-Brom-2-hydroxy-2-methylpropyl)phthalimid.....	43
2.1.7.9	Synthese von N-(3-Brom-2-hydroxypropyl)phthalimid	45
2.1.7.10	Versuche zur Synthese von N-(3-Brom-2-methoxypropyl)phthalimid.....	45
2.1.7.11	Versuch der einseitigen Alkylierung von N,N,N',N'-Tetramethyl-1,6-hexandiamin mit N-(3-Brompropyl)phthalimid	47
2.1.8	Synthese der symmetrischen W84-Derivate.....	48
2.1.8.1	Umsetzung von Phthalimidopropylaminen mit 1,6-Dibromhexan	48
2.1.8.2	Umsetzung von Brompropylphthalimiden mit N,N,N',N'-Tetramethyl-1,6-hexandiamin ..	49
2.1.8.3	Diskussion des ¹ H-NMR-Spektrums der Verbindung 4n	50
2.1.8.4	Versuche zur Synthese weiterer symmetrischer W84-Derivate.....	51
2.1.9	Synthese eines verkürzten („halben“) W84-Derivates	53
2.1.10	Synthese eines tertiären W84-Derivates (tertiäres WB64)	53
2.2	Synthese von Agonist/Alloster-Hybridmolekülen.....	55
2.2.1	Synthese der Oxotremorinanaloge	57
2.2.1.1	Synthese von 2-(4-Dimethylamino)but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on.....	57
2.2.1.2	Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol.....	57
2.2.1.3	Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxyisoxazol	58
2.2.2	Synthese der Hybridmoleküle	60
2.2.2.1	Diskussion des ¹ H-NMR-Spektrums der Verbindung 52-C6	61
2.2.2.2	Synthese des monoquartären Hybridmoleküls 54	63
3	PHYSIKOCHEMISCHE EIGENSCHAFTEN	65
3.1	Stabilitätsmessungen mittels UV-Spektroskopie	65
3.2	Lipophiliebestimmung	68
3.2.1	Lipophilie von Arzneistoffen	68
3.2.2	Bestimmung der log <i>P</i> -Werte.....	68
3.3	Fluoreszenzmessungen	72
4	PHARMAKOLOGISCHE TESTUNG	75

4.1	Dissoziationsexperimente	75
4.2	Gleichgewichtsbindungsexperimente	76
4.3	Ergebnisse	77
5	QUANTITATIVE STRUKTUR-WIRKUNGSBEZIEHUNGEN	85
6	ZUSAMMENFASSUNG	95
7	SUMMARY	103
8	EXPERIMENTELLER TEIL	109
8.1	Allgemeine Angaben	109
8.1.1	Geräte	109
8.1.2	Chromatographie und Lösungsmittel	110
8.2	Synthesevorschriften und analytische Daten	111
8.2.1	Synthese von 4-Trifluormethylphthalsäure	111
8.2.2	Synthese von 5-Trifluormethylphthalsäureanhydrid	111
8.2.3	Synthese von 4-Aminophthalsäuredinitril	112
8.2.4	Synthese von Bis(3,4-dicyanophenyl)disulfid	113
8.2.5	Synthese von 3-Amino-1,8-naphthalsäureanhydrid	114
8.2.6	Synthese von 3-(N,N-Dimethylamino)-2-methylpropannitril	114
8.2.7	Synthese von N,N,2-Trimethylpropan-1,3-diamin	115
8.2.8	Synthese der N-[3-(N',N'-Dimethylamino)propyl]-phthalimide bzw. -naphthalimide	116
8.2.9	Synthese der Zwischenprodukte 2 zur Herstellung unsymmetrischer W84-Derivate	120
8.2.10	Synthese der unsymmetrischen W84-Derivate	123
8.2.10.1	Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Verbindungen 3a , 3b , 3f-3h , 3l , 5c-5e , 6 und 7	124
8.2.10.2	Synthese der aminosubstituierten Naphmethoniumderivate 3j und 3k	129
8.2.11	Synthese einfach alkylierter Malonsäureester	130
8.2.12	Herstellung zweifach alkylierter Malonsäureester: Synthese von Diethyl-2-ethyl-2-methylmalonat	131
8.2.13	Synthese einfach und zweifach alkylierter 1,3-Propandiolderivate	132
8.2.14	Synthese einfach substituierter 1,3-Dibrompropanderivate	133
8.2.14.1	Synthese von 1-Brom-2-(brommethyl)butan	133
8.2.14.2	Synthese von 1-Brom-2-(brommethyl)pentan und 1-Brom-2-(brommethyl)-4-methylpentan	134

8.2.15	Synthese von N-(3-Brompropyl)isoindolin-1,3-dion-Derivaten.....	135
8.2.16	Synthese von N-(3-Brompropyl)-1,8-benzo[de]isochinolin-1,3-dion.....	136
8.2.17	Synthese von N-(2-Methyl-2-propenyl)isoindolin-1,3-dion.....	137
8.2.18	Synthese von (2-Methyloxiran-2-yl)-N-methyl-isoindolin-1,3-dion.....	138
8.2.19	Synthese von N-[(3-Brom-2-hydroxy-2-methyl)propyl]isoindolin-1,3-dion.....	139
8.2.20	Synthese von N-(3-Brom-2-hydroxypropyl)isoindolin-1,3-dion.....	140
8.2.21	Synthese der symmetrischen W84-Derivate.....	141
8.2.21.1	Umsetzung von Dimethylaminopropylphthalimiden mit 1,6-Dibromhexan.....	141
8.2.21.2	Umsetzung von Brompropylphthalimiden mit N,N,N',N'-Tetramethyl-1,6-hexandiamin	142
8.2.22	Synthese von Propyl-[3-(1,3-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -benzo[de]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethyl- propyl]-dimethylammoniumbromid.....	145
8.2.23	Synthese von 2-{3-[1-(6-{1-Methyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-benzo[de]isochinolin-2- yl)-propyl]ammonio}hexyl)-1-methyl-ammonio]-propyl}-1,3-benzo[de]isochinolin-dion- Dichlorid (tertiäres WB64).....	146
8.2.24	Synthese der Oxotremorin-Anologa.....	147
8.2.24.1	Synthese von 2-(4-Dimethylamino)but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on.....	147
8.2.24.2	Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol.....	147
8.2.24.3	Synthese von 3-Hydroxyisoxazol.....	148
8.2.24.4	Synthese von 3-(Propin-2-yloxy)isoxazol.....	149
8.2.24.5	Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxyisoxazol.....	149
8.2.25	Synthese der Hybridmoleküle.....	150
8.3	Stabilitätsmessungen mittels UV-Spektroskopie.....	156
8.4	Lipophiliebestimmung.....	156
8.5	Fluoreszenzmessungen.....	158
9	ANHANG.....	161
10	LITERATURVERZEICHNIS.....	165

Einleitung

1.1 Muscarinische Acetylcholinrezeptoren

1.1.1 Funktion und Aufbau

Innerhalb des vegetativen Nervensystems werden nach morphologischen und funktionellen Gesichtspunkten zwei Teilsysteme unterschieden, der Sympathikus und der Parasympathikus. Sowohl im sympathischen als auch im parasympathischen Nervensystem erfolgt die Erregungsübertragung von den präganglionären auf die postganglionären Neurone durch den Neurotransmitter Acetylcholin. Im Parasympathikus ist Acetylcholin außerdem auch für die Erregungsübertragung auf die entsprechenden Erfolgsorgane verantwortlich. Diese Aufgabe wird im sympathischen System vom Überträgerstoff Noradrenalin übernommen. Durch Acetylcholin können nicotinische und muscarinische Rezeptoren stimuliert werden. Diese unterscheiden sich sowohl im Aufbau als auch in ihren Eigenschaften deutlich voneinander.

Bei den ionotropen Nicotinrezeptoren handelt es sich um ligandengesteuerte Natriumkanäle, deren Öffnungswahrscheinlichkeit durch Stimulation mit Acetylcholin erhöht wird. Ihren Namen verdanken sie der Tatsache, dass an ihnen das Alkaloid Nicotin selektiv als Agonist bindet. Sie sind im ZNS, in den vegetativen Ganglien und an den neuromuskulären Endplatten lokalisiert und werden nochmals in neuronale und muskuläre Nicotinrezeptoren unterteilt.

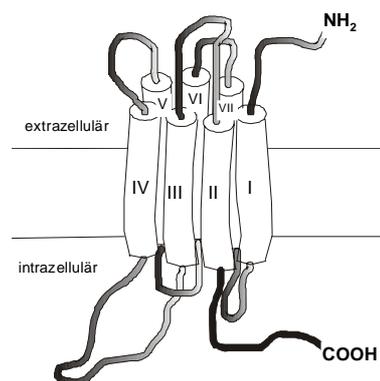


Abb. 1. Schematische Darstellung eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors (GPCR)

Die metabotropen Muscarinrezeptoren sind in Ganglien und parasympathischen Synapsen lokalisiert und werden unter anderem durch den Agonisten Muscarin, ein Gift des Fliegenpilzes, stimuliert. Sie gehören zur Superfamilie der G-Protein-gekoppelten

Rezeptoren (GPCRs). Zwar gibt es in letzter Zeit einzelne Hinweise darauf, dass GPCRs als Dimere oder Oligomere vorliegen können,¹ jedoch soll in dieser Arbeit im Folgenden das klassische, etablierte Rezeptormodell beschrieben werden.

GPCRs bestehen aus einem membranständigen, kanal-ähnlichen Protein. Der Rezeptorkanal wird aus sieben hydrophoben, transmembranären α -Helices (TM1-TM7) gebildet, die durch drei intrazelluläre und drei extrazelluläre Schleifen, sog. Loops, miteinander verbunden sind.² Der Aminoterminus befindet sich im Extrazellulärraum, während das carboxy-terminale Ende im Cytoplasma liegt.

Lange Zeit hatte die Struktur der Protonenpumpe Bakteriorhodopsin, die ebenfalls aus sieben Transmembranhelices besteht, Modellcharakter für den Aufbau vieler GPCRs. Dieses Modell wurde intensiv und kontrovers diskutiert, da es zu den GPCR-Sequenzen keine nennenswerte Homologie aufweist. Eine gewisse Bestätigung konnte jedoch durch die vorläufige Strukturbestimmung des Rhodopsins, das zur Familie der GPCRs gehört, erzielt werden.³ Vor kurzem gelang es nun, durch hochauflösende Röntgenstrukturanalyse die Kristallstruktur des Rinderrhodopsins zu ermitteln. Dessen dreidimensionale Struktur stellt ein Modell für alle anderen Rezeptoren aus der Familie der GPCRs dar.⁴

Die Signaltransduktion erfolgt bei den GPCRs in der Weise, dass ein heterotrimeres G-Protein nach dem Andocken eines Liganden am äußeren Rezeptor und der dadurch bedingten Konformationsänderung des Rezeptors eine Reaktionskaskade auslöst. Das aktivierte G-Protein kann dann entweder durch eine Erhöhung oder Erniedrigung der Öffnungswahrscheinlichkeit direkt einen Ionenkanal beeinflussen oder durch Interaktion mit einem Enzym die Bildung eines zweiten Botenstoffes (second messenger) induzieren oder hemmen. Den zahlreichen Funktionen entsprechend existiert eine Vielzahl verschiedener G-Proteine, z.B. Cyclasen-stimulierende (G_s -Proteine), Cyclasen-inhibierende (G_i -Proteine) oder Phospholipase-C-aktivierende G-Proteine (G_q -Proteine). G_q - und G_{11} -, sowie G_i - und G_o -Proteine sind verschiedene G-Proteine, sie stimulieren jedoch den gleichen Effektor.⁵

1.1.2 Subtypisierung

Den ersten Hinweis auf die mögliche Existenz verschiedener Subtypen von Muscarinrezeptoren gab die Entdeckung der cardioselektiven Wirkung von Gallamin im Jahre 1951.⁶ Doch erst durch die Ergebnisse aus Bindungsstudien mit dem muscarinischen

Antagonisten Pirenzepin in den achtziger Jahren begann die systematische Suche nach verschiedenen Muscarinrezeptor-Subtypen.⁷

Bis heute sind fünf verschiedene Subtypen des Muscarinrezeptors (M_1 - M_5) bekannt. Diese sind sowohl pharmakologisch charakterisiert als auch gentechnisch hergestellt worden.⁸⁻¹¹ Sie unterscheiden sich in ihren physiologischen Funktionen, dem Verteilungsmuster im Körper und dem Bindungsverhalten gegenüber bestimmten subtyp-prävalenten Antagonisten und Agonisten.^{12,13}

Auch die Signaltransduktion der verschiedenen Subtypen weist Unterschiede auf: Die M_1 -, M_3 - und M_5 -Rezeptoren koppeln an die α -Untereinheit von stimulierenden $G_{q/11}$ -Proteinen und aktivieren daraufhin die Phospholipase $C\beta$. Dagegen koppeln die M_2 - und M_4 -Rezeptoren vorwiegend an die α -Untereinheiten der inhibitorischen G_i - und G_o -Proteine und inhibieren so die Adenylatcyclase.

M_1 -Rezeptoren kommen vor allem in Nervenzellen vor. Zentral beeinflussen sie Gedächtnis und Lernvorgänge, peripher spielen sie bei der Magensäuresekretion und der Bronchokonstriktion eine Rolle. Der bekannteste M_1 -Antagonist ist das zur Ulcustherapie eingesetzte bereits oben erwähnte Pirenzepin. M_2 -Rezeptoren sind vor allem im Gehirn, am Herzen und in der glatten Muskulatur lokalisiert. Ihre Aktivierung führt u.a. zu einer Abnahme der Herzfrequenz und zu einer Inhibition von Calciumkanälen. Drüsen und die glatte Muskulatur z.B. des Darms und der Bronchien weisen eine hohe Dichte an M_3 -Rezeptoren auf. Sie sind auch im ZNS nachgewiesen worden, wo ihre physiologische Rolle bisher jedoch noch nicht aufgeklärt werden konnte. M_4 -Rezeptoren werden in der Lunge und im ZNS (z.B. im Striatum) gefunden, wo ihre Aktivierung ebenfalls zu einer Inhibition von Calciumkanälen führt.¹² Auch die M_5 -Rezeptoren werden vorwiegend im ZNS (v.a. in der Substantia nigra) exprimiert, ihre physiologische Funktion ist allerdings noch nicht vollständig charakterisiert worden. Man spricht ihnen jedoch wie allen anderen Subtypen eine Rolle in der Regulation zentraler Prozesse wie z.B. von Lernvorgängen, Gedächtnis, Bewegungsabläufen, kognitiven Prozessen sowie dem Schmerzempfinden zu.^{13,14}

Allen Subtypen gemeinsam ist, dass sie untereinander eine sehr hohe Sequenzhomologie von etwa 50% aufweisen. Innerhalb der transmembranären Helices beträgt diese sogar 80%, so dass vor allem die Loops spezifisch für die einzelnen Subtypen sind. Daraus wird deutlich, dass die Entwicklung subtypspezifischer Liganden, die ohne Zweifel ein bedeutendes therapeutisches Potential z.B. in der Behandlung von Schmerzen, Parkinson oder Morbus Alzheimer besitzen, eine große Hürde darstellt.¹² Bis heute sind keine subtypselektiven Muscarinagonisten oder -antagonisten verfügbar.

1.1.3 Ligand-Bindungs-Domänen

1.1.3.1 Orthostere Bindungsstelle

Die Bindungstasche für den endogenen Liganden Acetylcholin sowie für orthostere Agonisten und Antagonisten von Muscarinrezeptoren befindet sich bei allen GPCRs innerhalb der sieben transmembranären α -Helices.^{2,15} Diese Region des Rezeptors zeichnet sich wie bereits erwähnt durch einen hohen Konservierungsgrad von etwa 80% innerhalb der Aminosäuresequenzen aus.

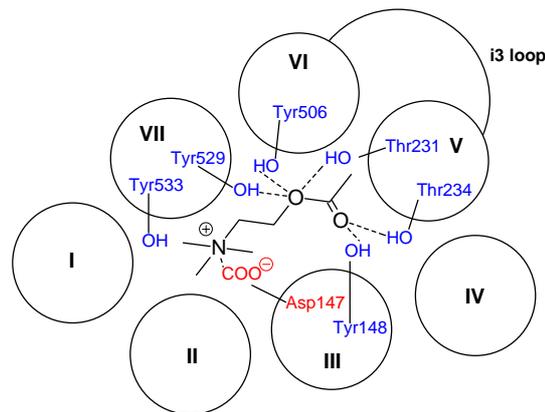


Abb. 2. Schematische Darstellung der Bindung von Acetylcholin an den M₂-Rezeptor (Aufsicht)

Die an der Bindung von Acetylcholin beteiligten Aminosäuren konnten über Punktmutationen aufgefunden werden. Eine wichtige Rolle spielt hierbei die in der TM3 lokalisierte Asparaginsäure¹⁴⁷. Die Bindung von Acetylcholin erfolgt in diesem Fall über Ion-Ion-Wechselwirkungen.¹⁶ Eine zusätzliche Stabilisierung erfährt das Ionenpaar über Kation- π -Wechselwirkungen über die drei aromatischen Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan. Außerdem fixieren weiterhin Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der Esterfunktion und den Hydroxylgruppen von Threonin²³⁴ in der TM5 bzw. Tyrosin¹⁴⁸ in der TM2 das Molekül in der Bindungstasche.^{17,18}

1.1.3.2 Allosterie Bindungsstelle

Neben der klassischen orthosteren Bindungsstelle weisen Muscarinrezeptoren jedoch auch eine zweite, allosterie Bindungsstelle auf, die im weniger konservierten extrazellulären Bereich des Rezeptors liegt.¹⁹⁻²⁵ Sie befindet sich in direkter Nachbarschaft zur orthosteren Bindungsstelle zwischen den extrazellulären Schleifen E2 und E3 und dem oberen Drittel der TM7.²⁶

Einzelne an der Bindung verschiedener allosterer Modulatoren an M₂-Rezeptoren beteiligte Epitope konnten in den letzten Jahren durch Mutagenesestudien identifiziert werden.^{27,28} Unter anderem wurde als essentielles Epitop eine negativ geladene saure Aminosäuresequenz (Glu-Asp-Gly-Glu, EDGE) in der Schleife E2 aufgefunden.²⁹ Vor allem Experimente mit chimären Rezeptoren und anschließende gezielte Punktmutationen konnten Aufschluss darüber geben, welche Bindungsareale für die hohe Affinität allosterer Modulatoren zum M₂-Subtyp verantwortlich sind.^{26,28,30} So sind für die Affinität von Bis(ammonio)alkanverbindungen zum M₂-Rezeptor relativ zum M₅-Rezeptor die Aminosäuren Thr⁴²³ am Beginn der TM7 sowie Tyr¹⁷⁷ im mittleren Bereich der extrazellulären Schleife E2 entscheidend.^{26,31} Mit Hilfe der so gewonnenen Erkenntnisse konnte nun erstmals ein dreidimensionales Modell des mit dem orthosteren Antagonisten N-Methylscopolamin (NMS) besetzten M₂-Rezeptors entwickelt werden,³² anhand dessen sicherlich weitere Einblicke in den Mechanismus allosterer Interaktionen gewonnen werden können.

1.2 Allosterische Modulation von Muscarinrezeptoren

1.2.1 Definition und Funktionsweise

Der Begriff der „Allosterie“ wurde erstmals im Rahmen enzymologischer Arbeiten von Monod im Jahre 1963 eingeführt.³³ Man spricht von allosterischer Modulation, wenn eine Substanz am selben Rezeptor an einer topographisch anderen (allosteren) Stelle bindet als der orthostere Ligand und gleichzeitig das Bindungsverhalten an der klassischen orthosteren Bindungsstelle beeinflusst und umgekehrt. Wichtig ist dabei, dass es sich um eine reziproke Beeinflussung handelt, d.h. Alloster und Orthoster beeinflussen sich gegenseitig. Generell lässt sich bis auf wenige Ausnahmen sagen, dass allosterische Modulatoren immer sowohl die Assoziation als auch die Dissoziation orthosterer Liganden hemmen. Es wird lediglich in zwei Fällen berichtet, dass ein allosterischer Modulator (Gallamin) die Dissoziation des Orthosters ([³H]Methyl-N-chinuclidinylbenzilat ([³H]QNB)) vom M₂-Rezeptor beschleunigt.^{34,35}

Das bekannteste Beispiel aus der Arzneimitteltherapie für einen allosteren Wirkmechanismus sind die Benzodiazepine. Durch die Interaktion der Benzodiazepine mit der allosteren Bindungsstelle am GABA_A-Rezeptor, einem Chloridkanal, wird die Affinität von GABA zu dessen orthosterer Bindungsstelle gesteigert. Dadurch kommt es zu einer erhöhten Öffnungswahrscheinlichkeit des Chloridkanals und somit zu einer Hyperpolarisation.

Auf molekularer Ebene wird die Beeinflussung des Bindungsverhaltens des Orthosters am M_2 -Rezeptor mit einer durch die Bindung des allosteren Modulators ausgelösten Konformationsänderung des gebildeten Ligand-Rezeptor-Komplexes erklärt.³⁶ Aufgrund der räumlichen Nähe der Bindungsstellen zueinander wurde jedoch auch eine mögliche sterische Hinderung als Grund für die Dissoziations- bzw. Assoziationshemmung diskutiert. Beide Vorstellungen werden durch das bereits oben erwähnte 3D-Modell des M_2 -Rezeptorproteins gestützt. Es wurde beobachtet, dass durch die Bindung des Allosters, der den Rezeptorkanal von außen verschließt, die Aminosäure Tyr¹⁷⁷ eine Veränderung ihrer räumlichen Lage erfährt und so π - π -Wechselwirkungen mit dem benachbarten aromatischen Ring des allosteren Modulators entstehen. Zusätzlich wird durch diese Bewegung die Verbindung zwischen der allosteren und der orthosteren Bindungsstelle blockiert, so dass NMS den Bindungskanal nicht mehr verlassen kann.³¹

Die einfachste Möglichkeit zur Beschreibung allosterer Wechselwirkungen an GPCRs bietet das abgebildete Modell eines ternären Komplexes.^{37,38}

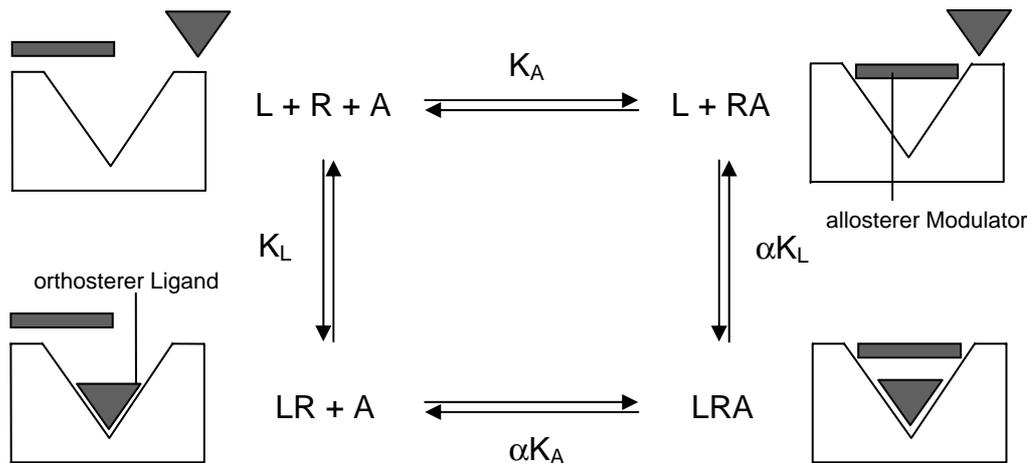


Abb. 3. Ternäres Modell zur Beschreibung allosterer Interaktionen

In einer Gleichgewichtsreaktion können an den unbesetzten Rezeptor R unter Ausbildung eines binären Komplexes entweder der orthostere Ligand L oder der allosterere Modulator A gebunden werden. Auf welcher Seite das Gleichgewicht dieser Reaktionen liegt, wird durch die Dissoziationskonstanten K_L bzw. K_A bestimmt. Im nächsten Schritt kann dann die Ausbildung des ternären Komplexes LRA erfolgen. Dieser ist durch die gleichzeitige Bindung von Alloster und Orthoster an den Rezeptor charakterisiert und kann durch die Dissoziationskonstanten αK_L bzw. αK_A beschrieben werden, wobei α den so genannten Kooperativitätsfaktor darstellt.

Der Kooperativitätsfaktor α eines allosteren Modulators berechnet sich aus dem Verhältnis zwischen der Affinität des Allosters zum orthoster-besetzten Rezeptor und der Affinität zum orthoster-unbesetzten Rezeptor. Ist $\alpha < 1$ ($p\alpha > 0$), so spricht man von *positiver Kooperativität*, d.h. die Gleichgewichtsbindung des orthosteren Liganden zum Rezeptor wird erhöht. Demnach ist das Ausmaß der Dissoziationshemmung durch den allosteren Modulator größer als das der Assoziationshemmung. Zeigt der allosterer Modulator *negative Kooperativität* ($\alpha > 1$, $p\alpha < 0$), so wird die Gleichgewichtsbindung des Orthosters erniedrigt. Unter Umständen kann eine sehr stark ausgeprägte negative Kooperativität als kompetitive Wechselwirkung gedeutet werden. Wenn $\alpha = 1$ ($p\alpha = 0$) ist, bleiben die Bindungsverhältnisse unverändert, d.h. die Hemmung der Dissoziation des orthosteren Liganden und die Assoziationshemmung halten sich die Waage. Im Zusammenhang mit der Beobachtung allosterer Interaktion muss jedoch beachtet werden, dass der Kooperativitätsfaktor α immer vom betrachteten Rezeptor und dem verwendeten Ligandenpaar abhängt, er ist eine für ein bestimmtes Modell spezifische Größe.

1.2.2 Vorteile und therapeutisches Potential allosterer Modulatoren

Es ist bekannt, dass neben den Muscarinrezeptoren auch weitere GPCRs wie z.B. Adenosin- A_1 -Rezeptoren, α_2 -Adrenorezeptoren oder Dopamin- D_2 -Rezeptoren durch allosterer Modulatoren beeinflusst werden können. Im Folgenden sollen am Beispiel der bisher am besten untersuchten Muscarinrezeptoren einige Vorteile und therapeutische Perspektiven, die sich durch die Entwicklung allosterer Modulatoren ergeben, diskutiert werden.²⁴

Wie bereits erwähnt, weisen die bisher entwickelten Antagonisten und Agonisten des Muscarinrezeptors nur eine Subtypprävalenz, aber keine Selektivität auf.³⁹ Ein Hauptgrund dafür ist die hohe Sequenzhomologie der Subtypen im Bereich der orthosteren Bindungsstelle. Im Gegensatz dazu zeigen sehr viele allosterer Modulatoren deutlich unterschiedliche Affinitäten zu den verschiedenen Subtypen, da die allosterer Bindungsstelle sich in weiter extrazellulär gelegenen, weniger konservierten Bereichen befindet. Somit stellt der Einsatz allosterer Modulatoren einen interessanten Ansatz zur Erzielung höherer Subtypselektivität dar, da beispielsweise gezielt die Dissoziation eines orthosteren Liganden von einem bestimmten Rezeptorsubtyp gehemmt werden kann.

Aber nicht nur über die unterschiedliche Affinität der allosteren Modulatoren zu verschiedenen Subtypen kann Selektivität erreicht werden, sondern auch über die Ausprägung

der Kooperativität mit dem orthosteren Liganden. So könnten allosterische Modulatoren, die die Bindung des endogenen Agonisten Acetylcholin am M_1 -Rezeptor positiv kooperativ (Dissoziationshemmung) beeinflussen, während an allen anderen Subtypen neutrale oder negative Kooperativität besteht, in der Therapie von Morbus Alzheimer oder von Schmerzen eingesetzt werden. Diese so genannte absolute Selektivität wird für einige Brucinderivate beschrieben.⁴⁰ Auch in der Therapie von Organophosphatvergiftungen könnte der Einsatz allosterischer Modulatoren in Kombination mit Antagonisten wie Atropin zu großen Fortschritten führen, da durch den dissoziationshemmenden Effekt des Allostere die nötige Dosis des Antidots Atropin deutlich verringert werden könnte.

Ein weiterer Vorteil der allosterischen Modulatoren besteht darin, dass ihre Wirkstärke nach oben begrenzt ist, da der entsprechende biologische Effekt, der ja durch den orthosteren Liganden ausgelöst wird, bei vollständiger Besetzung der allosterischen Bindungsstellen einer Sättigung unterliegt. Es herrscht sozusagen ein natürlicher Schutz gegen Überdosierung. Dieses Phänomen kann am bekannten Beispiel der Benzodiazepine beobachtet werden. Diese bieten durch ihr allosteres Wirkprinzip (siehe Kap. 1.2.1) eine sehr hohe Arzneimittelsicherheit in Bezug auf potentielle Intoxikationen. Direkt an der GABA-Bindungsstelle angreifende Substanzen sind dementsprechend nicht am Markt.

Aus der geschilderten Funktionsweise allosterischer Modulatoren wird auch deutlich, dass sie nur eine Wirkung ausüben können, wenn der endogene Agonist gleichzeitig in den synaptischen Spalt freigesetzt wird. Das heißt, dass sie bei niedrigen Konzentrationen des Orthosters einen minimalen Effekt besitzen, aber dass andererseits auch die gewünschte physiologische Wirkung des orthosteren Liganden durch die gleichzeitige Anwesenheit des Allostere deutlich gesteigert werden kann.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass allosterische Modulatoren aufgrund ihres beschriebenen Wirkmechanismus ein großes therapeutisches Potential besitzen und gegenüber vielen klassischen orthosteren Agonisten und Antagonisten zahlreiche Vorteile für die Arzneimitteltherapie aufweisen. Bisher werden allosterische Modulatoren muscarinischer Rezeptoren jedoch nicht therapeutisch angewendet.

1.2.3 Klassische allosterische Modulatoren des M₂-Rezeptors

Die ersten Hinweise auf allosterische Interaktionen an Muscarinrezeptoren wurden im Jahre 1968 von der Arbeitsgruppe Lüllmann im Rahmen einer Studie zur Verbesserung der Therapie von Organophosphatvergiftungen erhalten. Es wurden verschiedene Derivate des Ganglienblockers Hexamethonium an isolierten Organen und in Tierexperimenten an Mäusen auf ihre Wirksamkeit gegen Intoxikationen mit Diisopropylfluorophosphat (DFP) untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass die kombinierte Gabe von Atropin und der Hexamethoniumverbindung W84 zu einem unerwartet hohen Schutz vor Organophosphatvergiftungen führt.⁴¹ Wurden die Versuchstiere vor der Intoxikation lediglich mit Atropin oder W84 vorbehandelt, ergab sich ein Schutzfaktor (Quotient aus den LD₅₀ Werten für DFP mit und ohne Vorbehandlung) von zwei bis drei, d.h. der LD₅₀-Wert lag etwa zwei- bis dreimal so hoch wie ohne Prophylaxe. Der Schutzfaktor erhöhte sich jedoch bei der Gabe einer Kombination von W84 und einer selbst unwirksamen Dosis Atropin auf 15 und ist somit erheblich größer als die Summe der beiden Einzelfaktoren.⁴² Die Vorbehandlung der Versuchsmäuse mit W84 schützt also in diesem Fall vor dem Überangebot an Acetylcholin, indem es die Dissoziation des Antagonisten in entsprechender Konzentration nahezu verhindert. Dieser überadditive Effekt der Kombination Atropin/W84 legt den Schluss nahe, dass es sich nicht um einen kompetitiven Antagonismus handelt, sondern dass ein allosterischer Wirkmechanismus angenommen werden kann. Die qualitativ gleichen Beobachtungen wurden ebenfalls für das entsprechende Heptamethoniumderivat C₇/3'phth gemacht.⁴²

In den achtziger Jahren standen die zunächst scheinbar antagonistischen Eigenschaften des neuromuskulären Ganglienblockers Gallamin im Mittelpunkt zahlreicher Studien.⁴³ Durch die Einführung radioaktiv markierter Liganden wurde es nun möglich, die vermuteten allosterischen Wechselwirkungen indirekt an den beteiligten Rezeptoren zu messen. So konnte auch für Gallamin in Gleichgewichtsbindungsstudien mit den radioaktiv markierten Antagonisten [³H]N-Methylscopolamin ([³H]NMS) und [³H]Methyl-N-chinuclidinylbenzilat ([³H]QNB) ein allosterischer Wirkmechanismus festgestellt werden. Die Gleichgewichtsbindung beider Antagonisten wird am M₂-Rezeptor durch Gallamin negativ kooperativ beeinflusst (erniedrigt).³⁷ Analoge Beobachtungen konnten auch für das Ligandenpaar W84/[³H]NMS gemacht werden. Mit anderen Worten besitzt W84 zum freien Rezeptor eine größere Affinität als zum NMS-besetzten Rezeptor. W84 zeigt wie Gallamin und fast alle anderen allosterischen Modulatoren zu den verschiedenen Muscarinrezeptor-Subtypen ein Affinitätsprofil in der Reihenfolge M₂ > M₄ > M₁ > M₃ > M₅.³⁵

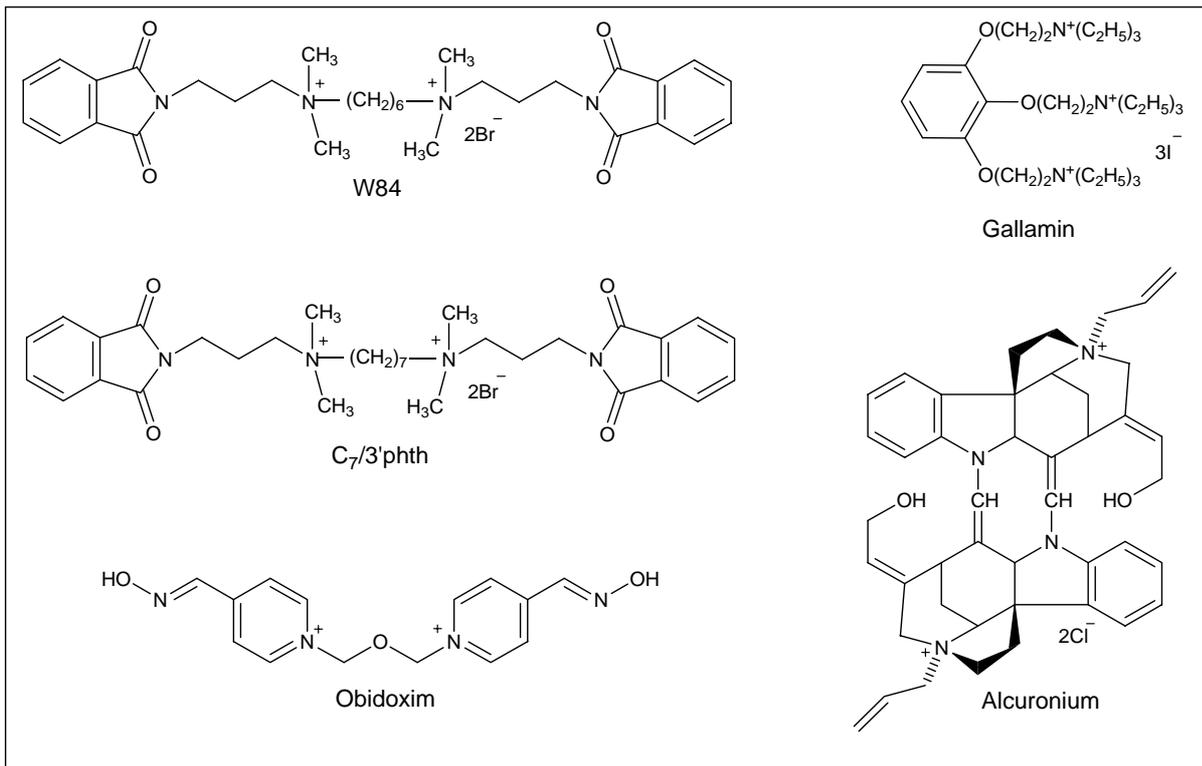


Abb. 4. Strukturformeln einiger klassischer allosterer Modulatoren von M₂-Rezeptoren

Neue Perspektiven in der Entwicklung allosterer Modulatoren eröffnete die Beobachtung von Tuček und Proška, dass das Muskelrelaxans Alcuronium, ein Derivat des Alkaloids Toxiferin, die Gleichgewichtsbindung von [³H]NMS an den M₂-Rezeptor erhöht und damit positive Kooperativität ($p\alpha = 0.42$) erzielt wird.^{36,44} Die Gleichgewichtsbindung von [³H]QNB wird dagegen erniedrigt. In diesem Zusammenhang wurde somit festgestellt, dass allosterische Wechselwirkungen stark von der Art des verwendeten Orthosters beeinflusst werden. Auch die Subtypspezifität des allosterischen Effekts konnte bewiesen werden, da positive Kooperativität für Alcuronium nur an M₂- und M₄-Rezeptoren, nicht aber an M₁-, M₃- und M₅-Rezeptoren beobachtet wurde. Die Affinitätsreihenfolge für Alcuronium an verschiedenen Subtypen entspricht der von W84 (s.o.).⁴⁵ Therapeutisch lässt sich Alcuronium wegen seiner neuromuskulär-blockierenden Wirkung nicht als allosterer Modulator nutzen. Als Leitstruktur für die Bestimmung der pharmakophoren Elemente von Hexamethoniumanalogen und zur Charakterisierung der allosteren Bindungsareale von M₂-Rezeptoren besitzen Alcuronium und seine Derivate jedoch einen hohen Stellenwert.

1.2.3.1 Gemeinsame allosterische Bindungsstelle

Ellis und Seidenberg machten sich die Eigenschaften des Bispyridiniumoxims Obidoxim zunutze, die Wirkung allosterer Modulatoren antagonisieren zu können.⁴⁶ Obidoxim selbst besitzt nur einen schwachen allosteren Effekt. In Dissoziationsexperimenten konnte bewiesen werden, dass Obidoxim Verbindungen wie Gallamin, C₇/3'phth und Alcuronium von der allosteren Bindungsstelle verdrängen kann. Es wurde beobachtet, dass die genannten Verbindungen untereinander kompetitiv um die so genannte „gemeinsame allosterische Bindungsstelle“ am M₂-Rezeptor konkurrieren.^{47,48}

Es ist unabdingbar, dass Struktur-Wirkungsbeziehungen (SARs) für eine Serie von Verbindungen nur aufgestellt werden können, wenn eindeutig geklärt ist, dass alle Substanzen an derselben Bindungsstelle auf die gleiche Art und Weise binden. Generell werden allosterische Effekte indirekt über den EC₅₀-Wert bestimmt. Der EC₅₀-Wert ist diejenige Konzentration an allosterem Modulator, bei der die Dissoziation des Radioliganden um die Hälfte reduziert wird.⁴⁹ Mit der Entwicklung des hochaffinen tritiierten Radioallosters [³H]Dimethyl-W84 wurde es erstmals möglich, allosterische Effekte direkt zu messen. So konnte auch auf diese Weise in Dissoziationsexperimenten die Bindung der klassischen allosteren Modulatoren W84, Gallamin und Alcuronium an der gemeinsamen allosteren Bindungsstelle bewiesen werden.^{50,51}

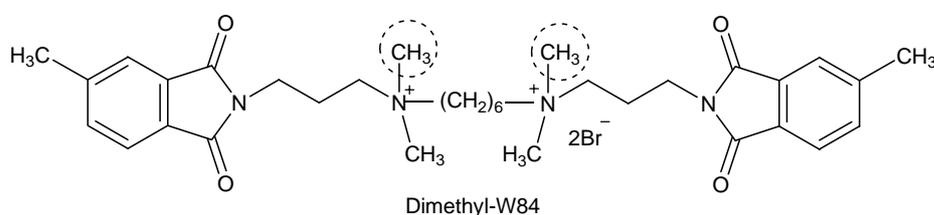


Abb. 5. Der radioaktiv markierte allosterische Modulator Dimethyl-W84. Die durch Tritium ausgetauschten Wasserstoffatome sind gekennzeichnet

In den letzten Jahren sind vermehrt Hinweise auf die Existenz einer zweiten allosteren Bindungsstelle aufgetreten, die bisher noch nicht lokalisiert werden konnte. So konnte für die Bispyridiniumverbindung DUO 3 ein von den üblichen Modulatoren abweichender Bindungsmodus festgestellt werden und Obidoxim war nicht in der Lage, den allosteren Effekt dieser Verbindung zu antagonisieren.^{48,51} Interessanterweise gehören jedoch die sehr gut untersuchten Derivate der Bispyridiniumverbindung W-DUO 3, die beidseitig - analog zu W84 - lateral Phthalimide tragen, wiederum zur Gruppe der Liganden der gemeinsamen Bindungsstelle.

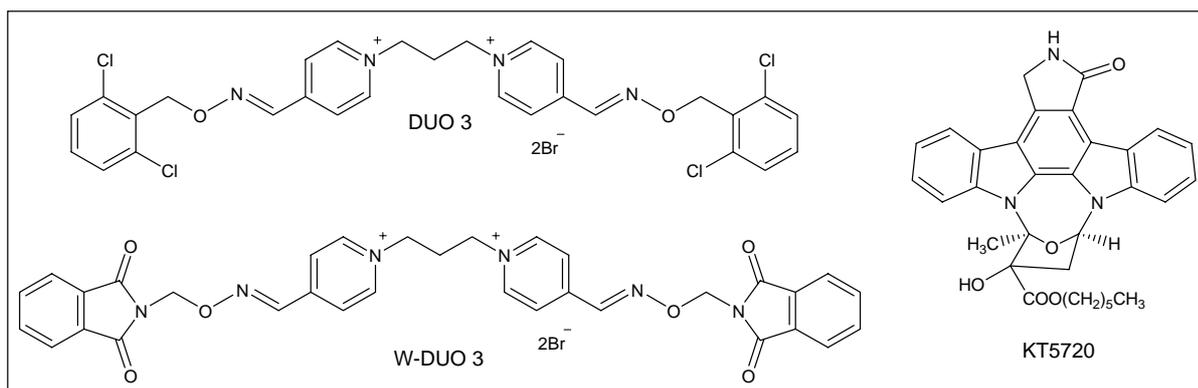


Abb. 6. Einige weitere allosterische Modulatoren, die teilweise nicht an der gemeinsamen allosterischen Bindungsstelle binden

Ein weiterer allosterischer Modulator, der nicht mit Gallamin um die gemeinsame allosterische Bindungsstelle zu konkurrieren scheint, ist der Proteinkinaseinhibitor KT5720 aus der Gruppe der Staurosporinderivate.⁵² KT5720 erhöht die Gleichgewichtsbindung von Acetylcholin am M_1 -Rezeptor. Um jedoch die komplexen allosterischen Interaktionen, die bei der gleichzeitigen Bindung zweier allosterischer Liganden auftreten, beschreiben zu können, muss das weiter oben beschriebene ternäre Modell auf ein kubisches Modell mit vier Kooperativitätsfaktoren erweitert werden.

In der folgenden Tabelle sind die Bindungskonstanten einiger muscarinischer allosterischer Modulatoren am freien und am NMS-besetzten Rezeptor angegeben. Die Messung erfolgte jeweils in Mg/Tris-Puffer (pH 7.3). Es ist zu beachten, dass die allosterische Potenz der Verbindungen auch vom verwendeten Inkubationsmedium abhängt. Mg^{2+} -Ionen binden schwach an die allosterische Bindungsstelle und können den allosterischen Modulator zum Teil kompetitiv verdrängen. Deshalb sind die erhaltenen Werte nicht direkt mit den in Na-K-Phosphatpuffer gemessenen zu vergleichen.⁵³

Verbindung	Bindungskonstante am freien M_2 -Rezeptor [nM]	Bindungskonstante am NMS-besetzten M_2 -Rezeptor [nM]
W84	389	1348
Dimethyl-W84	120	288
DUO 3	63	1230
W-DUO 3	331	229
Gallamin	150	12 882
Alcuronium	275	60

Tabelle 1. Bindungskonstanten einiger ausgewählter allosterischer Modulatoren von M_2 -Rezeptoren

1.2.4 Strukturvariationen von Hexamethonium-Derivaten

Die Hexamethoniumverbindung W84 ist in der Lage, die Bindung von Antagonisten wie z.B. Atropin oder N-Methylscopolamin (NMS) alloster zu beeinflussen. Man beobachtet eine leichte Erniedrigung der Gleichgewichtsbindung von NMS am M₂-Rezeptor, die Affinität von W84 zum freien Rezeptor ist etwa drei Mal so groß wie die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor ($pEC_{50} = 5.87$; $p\alpha = -0.47$). Aus mehreren Gründen stellt W84 trotzdem eine wichtige Leitstruktur für die Entwicklung neuer allosterer Modulatoren dar.²⁵

- Die bereits oben erwähnten Tierversuche legen den Schluss nahe, dass W84 in Dosen, die zu allosterisch wirksamen Konzentrationen führen, verträglich ist.
- In Bindungsstudien mit anderen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, wie z.B. α_1 - und β_1 -Rezeptoren, Adenosin-A₁-Rezeptoren und Histaminrezeptoren, konnte gezeigt werden, dass der allosterische Wirkmechanismus von W84 spezifisch für Muscarinrezeptoren ist.^{54,55}
- W84 verhält sich subtypeselektiv mit einer Präferenz für den M₂-Subtyp und ist ein Ligand, der an die gemeinsame allosterische Bindungsstelle bindet (siehe oben).
- Der relativ einfache chemische Aufbau von W84 erlaubt strukturelle Veränderungen an zahlreichen Positionen im Molekül.

Auf die im Arbeitskreis Holzgrabe in den letzten Jahren durchgeführten strukturellen Modifikationen und deren Einfluss auf die allosterische Potenz der hergestellten W84-Derivate soll im Folgenden näher eingegangen werden.^{22,25}

Die schrittweise einseitige Verkürzung von W84 (Entfernung eines lateralen Aromaten und des positiv geladenen Stickstoffs) führte zu einem deutlichen Wirkungsverlust. Daraus kann man schließen, dass das komplette W84-Molekül in Wechselwirkung mit dem Rezeptorprotein tritt.^{56,57}

Der sukzessive Ersatz der Phthalimide durch gesättigte Ringsysteme führt zu einer starken Abnahme der Affinität. Der völlige Verlust des Ringsystems geht mit einer Erniedrigung der Affinität um den Faktor 400 einher.^{58,59} An diesen Ergebnissen kann man erkennen, dass das Vorhandensein planarer, hydrophober Reste auf beiden Seiten des Moleküls für die allosterische Wirkung essentiell ist.

* Dieselben Beobachtungen wurden auch für die klassischen allosteren Modulatoren Alcuronium und Gallamin gemacht.

Eine Verkürzung der aliphatischen Kette zwischen den beiden Stickstoffatomen auf bis zu drei Methylengruppen bewirkt eine Erniedrigung der allosteren Potenz. Dagegen hat die Verlängerung der Zwischenkette von sechs auf sieben Methylengruppen in der Verbindung C_{7/3}'phth eine Erhöhung der Affinität um das dreifache zur Folge. Jedoch führt eine Kettenverlängerung über sieben Methylengruppen hinaus zu keiner weiteren Wirkungssteigerung, da der optimale Abstand der positiven Ladungen von 10Å überschritten wird.⁶⁰

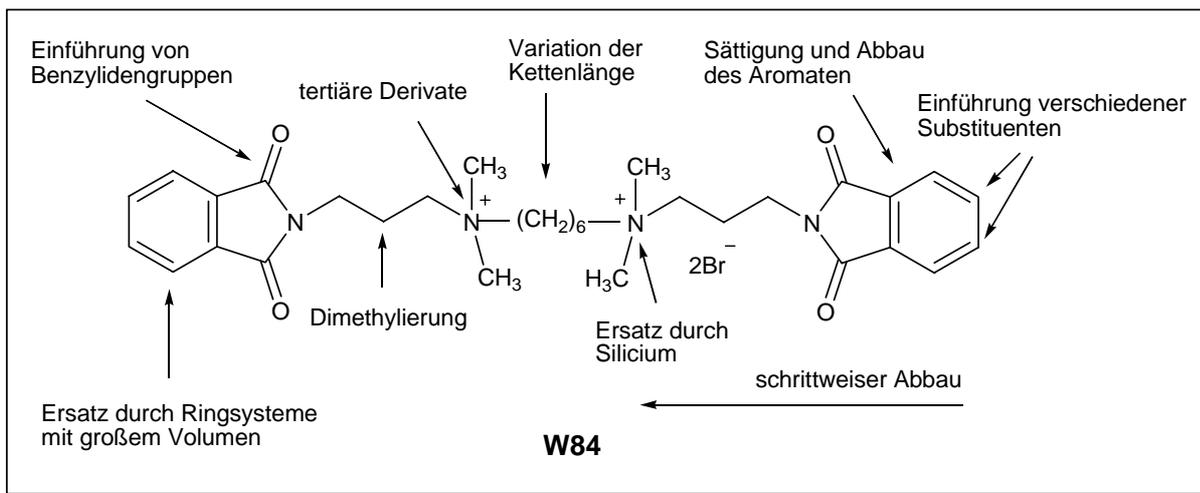


Abb. 7. Durchgeführte strukturelle Veränderungen an der Leitstruktur W84

Durch den Austausch eines quartären Stickstoffs gegen Silizium wird die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor erhöht, die Affinität zum freien Rezeptor bleibt jedoch unverändert.⁶¹ Dies resultiert in einer Erhöhung der Gleichgewichtsbindung des Antagonisten ($p\alpha = 0.44$). Der Austausch beider Stickstoffe gegen Siliziumatome führt hingegen zu einem völligen Verlust der allosteren Wirksamkeit. Daraus lässt sich schließen, dass für den allosteren Effekt das Vorhandensein eines positiv geladenen Stickstoffatoms unverzichtbar ist. Die Ladung muss allerdings nicht in Gestalt eines quartären Salzes permanent vorhanden sein, da analoge W84-tertiäre Amine unter den Bedingungen der pharmakologischen Testung (pH 7.3) ebenfalls zum großen Teil doppelt protoniert vorliegen und somit keinen Wirkungsverlust aufweisen.⁶²

Die Einführung von zwei Methylgruppen in die Propylseitenkette auf einer Seite des Moleküls führt zu neutraler Kooperativität und zu einer Erhöhung der allosteren Wirkung um eine Zehnerpotenz. In Kombination mit einer Methylierung des benachbarten Phthalimidringes in Position 5 wird sogar positive Kooperativität erzielt ($p\alpha = 0.19$).⁶³

Entscheidenden Einfluss auf die Affinität zur allosteren Bindungsstelle hat der Aromat bzw. die Art der Substitution des Phthalimidringes. Durch die Einführung einer Methylgruppe in Position 5 entstand der allosterische Modulator Dimethyl-W84 (DMW84).⁶⁴ Er besitzt eine deutlich erhöhte Affinität zum NMS-besetzten M₂-Rezeptor als W84 (pEC₅₀ = 6.77) und dessen tritiiertes Derivat wird als bisher einziger alloster wirksamer Radioligand in Bindungsstudien eingesetzt (siehe oben).

Der Austausch eines Sauerstoffatoms der Imidfunktion gegen Hydroxy-, Alkoxy- und Phenylgruppen beeinflusst die Affinität nicht, während sie durch einen rigiden Benzyliden-substituenten an derselben Position zwanzigfach gesteigert wird.⁶⁵ Somit hängt die allosterische Potenz unter anderem von einer hohen Polarisierbarkeit und der Anwesenheit eines sp²-hybridisierten Kohlenstoffatoms ab.

Eine teilweise deutliche Steigerung der Affinität kann durch den Ersatz der Phthalimide durch Aromaten mit einem größeren Volumen erzielt werden, da die lipophile Kontaktfläche zur Bindungsstelle zunimmt.^{66,67} Die besten Resultate werden durch die beidseitige Einführung eines Naphthalimidrests erzielt (WB64), was die Affinität im Vergleich zu W84 um den Faktor 100 erhöht (pEC₅₀ = 7.86). WB64 stellte vor Beginn dieser Arbeit das W84-Derivat mit der höchsten allosteren Potenz dar.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch zahlreiche Strukturmodifikation die Affinität der W84-Derivate zum M₂-Rezeptor zum Teil deutlich erhöht werden konnte. Kaum beeinflusst wurde dagegen die Gleichgewichtsbindung des Antagonisten NMS. Lediglich durch die Substitution des Stickstoffs mit Silizium sowie durch die Kombination der doppelten Methylierung mit der Einführung der Methylgruppe in den Phthalimidring konnte positive Kooperativität erzielt werden. Dieser Sachverhalt sowie die hohe allosterische Potenz der Naphthalimiderivate stellen einen wichtigen Ansatzpunkt für die Zielsetzung dieser Arbeit dar.

1.2.5 Pharmakophormodell

Durch die Struktur der Bindungstasche eines Proteins wird festgelegt, welche funktionellen Gruppen des Liganden wichtig für eine Bindung sind. Die räumliche Anordnung dieser funktionellen Gruppen und Strukturmerkmale bezeichnet man als den *Pharmakophor* einer Verbindung oder einer Leitstruktur.

Um die pharmakophoren Elemente von W84 zu bestimmen, wurden zunächst Vergleiche mit anderen Liganden der gemeinsamen allosteren Bindungsstelle durchgeführt. So konnte vor allem Alcuronium wegen seiner hohen allosteren Potenz und der rigiden Struktur als Vorlage für die Bis(ammonio)alkanverbindungen dienen.

In Molecular-Modelling-Studien wurden das elektrostatische Potential sowie die molekulare Oberfläche von Alcuronium, Gallamin und W84 berechnet. Mit Hilfe neuronaler Netze konnte so für W84 eine verdrehte Sandwich-Struktur als aktive Konformation postuliert werden. Es wurde festgestellt, dass die zwei positiv geladenen Stickstoffatome im Abstand von 10 Å (entsprechend sechs bzw. sieben Methylengruppen) sowie die lateralen aromatischen Reste im Abstand von 4 Å oberhalb bzw. unterhalb des aliphatischen Spacers für die allosterische Potenz von W84 essentiell sind.⁶⁸ Eine ausreichende Kettenlänge von mindestens drei Methylengruppen zwischen dem Amin- und dem Imidstickstoff soll dem Molekül erlauben, die aktive Konformation einzunehmen.

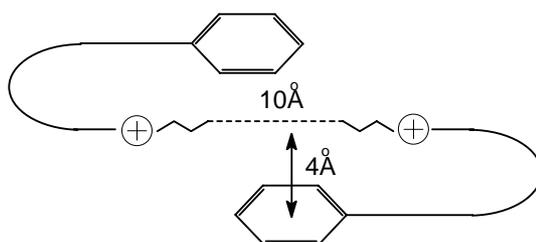


Abb. 8. Vereinfachte Darstellung der pharmakophoren Elemente von W84

Eine zusätzlich durchgeführte Studie zur Analyse dreidimensionaler Struktur-Wirkungsbeziehungen (3D-QSAR) stützt dieses Pharmakophormodell und kam zu dem Ergebnis, dass auch die DUO- und W-DUO-Verbindungen in der Lage sind, in der verdrehten Sandwichstruktur vorzuliegen.⁶⁹

Legt man W84 in seiner aktiven Konformation auf die rigide Struktur von Alcuronium, in der die Lage der genannten Pharmakophorelemente optimal verwirklicht ist, wird erkennbar, dass sich alle essentiellen Strukturmerkmale der beiden Verbindungen räumlich überlagern. Vor kurzem wurde von Stiefl ein neuartiges 3D-QSAR-Modell entwickelt, das mit hoher Güte die zu Alcuronium analoge Anordnung der pharmakophoren Elemente bestätigt.⁷⁰

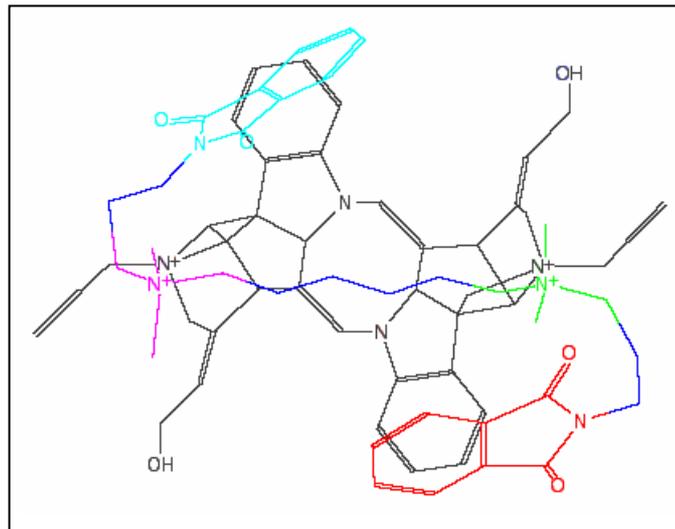


Abb. 9. Überlagerung der pharmakophoren Elemente der aktiven Konformation von W84 und Alcuronium

1.3 Aufgabenstellung

Die bisher synthetisierten Derivate der Leitstruktur W84 führten zur Entwicklung eines aussagekräftigen Pharmakophormodells und halfen, mehr Einblick in den Mechanismus allosterer Interaktionen am M₂-Rezeptor zu gewinnen. Es gelang unter anderem, hochaffine Verbindungen herzustellen und die Gleichgewichtsbindung des Antagonisten NMS an der orthosteren Bindungsstelle zu erhöhen.

Ziel dieser Arbeit war zunächst, diejenigen Strukturmerkmale, die auf die allosterische Potenz und die Gleichgewichtsbindung positiven Einfluss haben, in neuen W84-Derivaten zu vereinen.

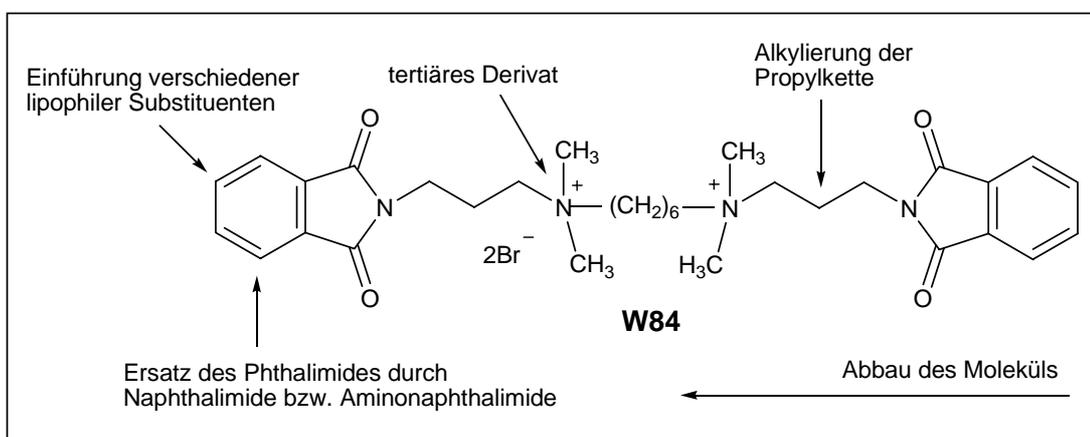


Abb. 10. Geplante Strukturvariationen an der Leitstruktur W84

- (1) Da die höchste Affinität durch den Austausch der Phthalimidstruktur gegen Naphthalimidreste erreicht wurde, sollten Verbindungen hergestellt werden, die einseitig oder beidseitig Naphthalimide tragen. Außerdem sollten 5-Methylphthalimidderivate, die ebenfalls hohe Affinitätswerte aufweisen, synthetisiert werden. Zusätzlich dazu sollten Methylgruppen in die lateralen Propylketten eingeführt werden, da über eine Dimethylierung der Propylkette erstmals positive Kooperativität für ein W84-Derivat erzielt werden konnte. Um aufzuklären, ob die Symmetrie der Verbindungen in Zusammenhang mit der allosteren Wirksamkeit steht, sollten sowohl symmetrische als auch unsymmetrische Strukturvariationen durchgeführt werden.
- (2) Von der bisher aktivsten Verbindung WB64, die beidseitig Naphthalimide trägt, sollte ein tertiäres Derivat hergestellt werden, für das eine höhere Wahrscheinlichkeit besteht, die Blut-Hirn-Schranke überwinden zu können.
- (3) Da der einseitige Abbau von W84 zu einem starken Wirkungsverlust führte, sollte durch die Herstellung eines „halben“ dimethylierten Naphthalimidderivates überprüft werden, ob derselbe Effekt auch bei Verbindungen mit hoher allosterer Potenz zu beobachten ist.
- (4) Offensichtlich wird die allosterische Wirksamkeit durch die Art der Aromaten beeinflusst. Es wurde die Beobachtung gemacht, dass Aromaten mit einem größeren Volumen, d.h. einer größeren lipophilen Kontaktfläche zum Rezeptor, die Affinität der Verbindungen erhöhen. Deshalb sollten Substituenten in die Phthalimidreste eingeführt werden, die die Lipophilie steigern. So sollten die Methylgruppen von Dimethyl-W84 isoster durch Trifluormethylgruppen ersetzt werden. Analog zu vielen Beispielen aus der Arzneistoffentwicklung sollte durch die Erhöhung der Lipophilie bei nahezu gleich bleibender Größe des Substituenten eine Steigerung der Affinität zu erwarten sein. Eine weitere Möglichkeit stellt die Einführung eines Trifluormethylthioethers dar. Dieser Substituent zeichnet sich durch noch ausgeprägtere lipophile Eigenschaften aus.
- (5) Im Laufe der Arbeit stellte sich die Methylierung der Propylketten als kritische Position zur Beeinflussung der Gleichgewichtsbindung heraus. Aus diesem Grund sollten Verbindungen hergestellt werden, die an der Propylkette sowohl unverzweigte als auch verzweigte Alkylgruppen verschiedener Länge tragen. Außerdem sollten an derselben Stelle Methoxy- und Halogensubstituenten eingeführt werden.
- (6) Es ist bekannt, dass N-substituierte Naphthalimide fluoreszierende Eigenschaften besitzen. Diese Tatsache könnte in Zukunft zur direkten Charakterisierung allosterer Interaktionen in Bindungsstudien ausgenutzt werden. Aus diesem Grund sollten intensiv

fluoreszierende Verbindungen hergestellt werden, was durch geeignete Substitution der Naphthalimide mit Aminogruppen erreicht werden sollte.

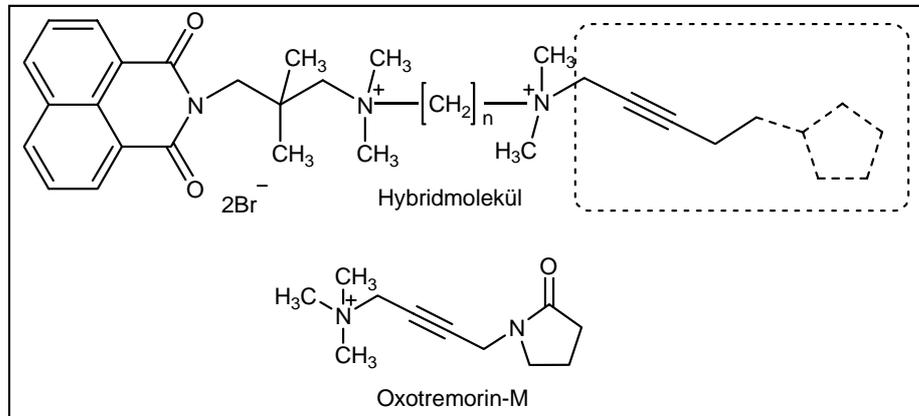


Abb. 11. Allgemeine Struktur der hergestellten Hybridmoleküle sowie von Oxotremorin-M

- (7) W84-Derivate beeinflussen in nennenswertem Maße bisher nur die Bindung von Antagonisten am Rezeptor. Da die allosterische und die orthostere Bindungsstelle räumlich nahe zusammenliegen, soll der Versuch unternommen werden, Agonist und allosteren Modulator in einem Molekül unterzubringen. Deshalb sollten in einem weiteren Teilprojekt in Kooperation mit Prof. De Amici, Universität Mailand, Hybridmoleküle aus einem hochaffinen allosteren Modulator und Derivaten des Muscarinagonisten Oxotremorin-M, verbunden durch Spacer verschiedener Länge, hergestellt werden. Es soll aufgeklärt werden, ob es möglich ist, mit einem Agonist/Alloster-Hybridmolekül gleichzeitig die orthostere und die allosterische Bindungsstelle zu besetzen.

2 Synthese der Zielverbindungen

2.1 Synthese symmetrischer und unsymmetrischer W84-Derivate

Zur Synthese der symmetrischen und unsymmetrischen W84-Derivate wurden aus Gründen der präparativen Zugänglichkeit zwei verschiedene Wege gewählt.

Weg A:

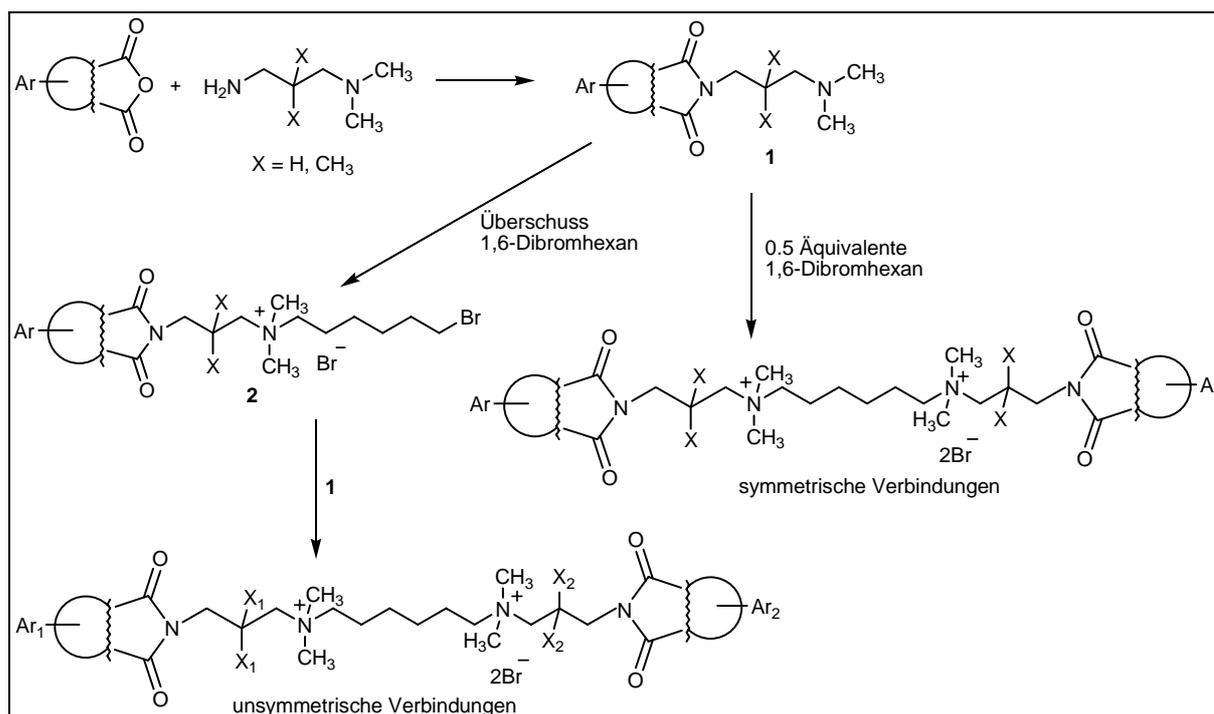


Abb. 12. Syntheseweg A zur Herstellung symmetrischer und unsymmetrischer W84-Derivate

Die erste Serie von Verbindungen wurde nach Weg A hergestellt. Auf diesem Syntheseweg war es möglich, Verbindungen mit unterschiedlichen aromatischen Resten (siehe unten) zu synthetisieren. Außerdem konnten Methyl- und Dimethylgruppen in die lateralen Propylketten eingeführt werden.

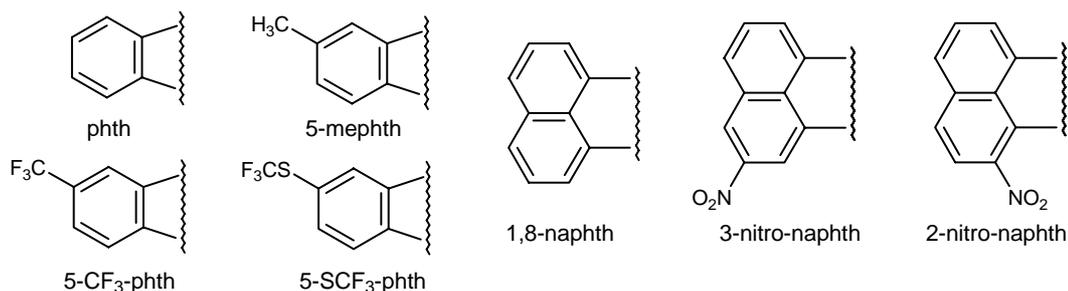


Abb. 13. Die im Syntheseweg A eingesetzten aromatischen Reste

Die Phthalsäure- bzw. Naphthalsäureanhydride werden in einer Kondensationsreaktion in Toluol mit dem entsprechenden Amin zum jeweiligen Phthalimidopropylaminderivat **1** umgesetzt. Durch die Reaktion von zwei Äquivalenten desamins mit einem Äquivalent 1,6-Dibromhexan in Acetonitril erhält man die symmetrischen W84-Derivate. Um unsymmetrische W84-Derivate zu erhalten, muss zunächst das jeweilige Phthalimidopropylamin einseitig durch 1,6-Dibromhexan ohne weiteres Lösungsmittel alkyliert werden. Im letzten Schritt werden dann äquimolare Mengen der alkylierten Verbindung **2** und eines Phthalimidopropylamins **1** in Acetonitril umgesetzt.

Weg B:

Um in die Propylseitenkette weitere Substituenten wie Ethyl-, Propyl- und *iso*-Butylgruppen einführen zu können, wurde Syntheseweg B entwickelt. Auf die Herstellung der substituierten 1,3-Dibromderivate wird erst später eingegangen. Es konnten auf diese Weise nur symmetrische W84-Derivate hergestellt werden, die auf beiden Seiten einen Phthalimidrest tragen.

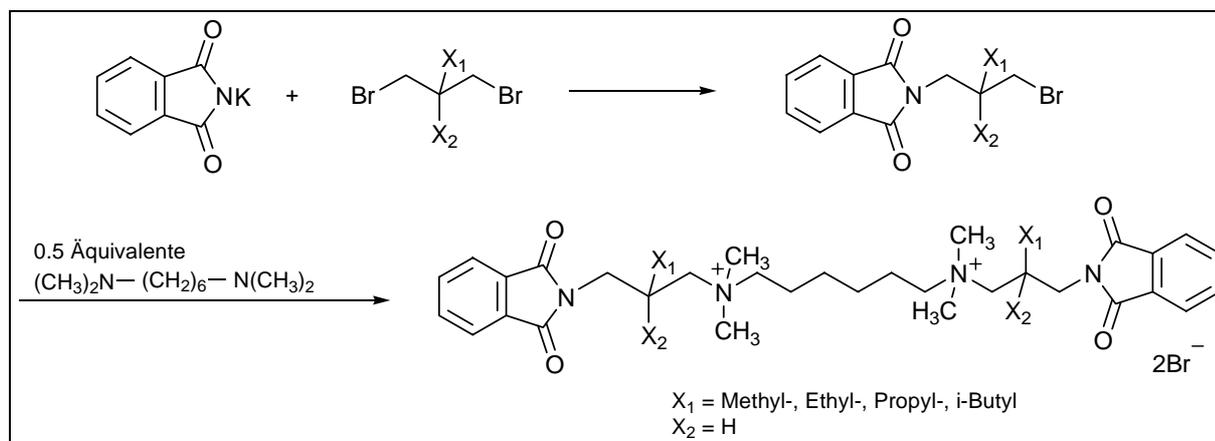


Abb. 14. Syntheseweg B zur Herstellung symmetrischer W84-Derivate

Es wurde Kaliumphthalimid in DMF mit unterschiedlich substituierten 1,3-Dibromderivaten zum jeweiligen 3-Brompropylphthalimidderivat umgesetzt. Zwei Äquivalente der Brompropylphthalimide reagierten dann in Acetonitril mit einem Äquivalent N,N,N',N'-Tetramethyl-1,6-hexandiamin zu den entsprechenden symmetrischen W84-Derivaten.

In den folgenden Kapiteln soll jeweils zunächst auf die Synthese der zur Herstellung der Zielverbindungen benötigten Vorstufen eingegangen werden. Im Anschluss daran werden die oben als Weg A bzw. Weg B bezeichneten Reaktionsfolgen beschrieben.

2.1.1 Synthese trifluormethyl- und trifluormethylthiosubstituierter Phthalsäureanhydride

2.1.1.1 Synthese von 5-Trifluormethylphthalsäureanhydrid

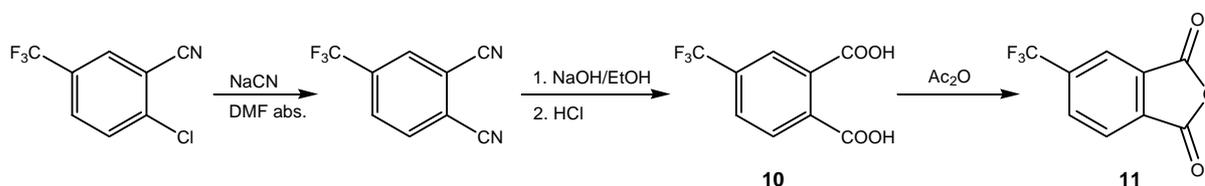


Abb. 15. Syntheseweg zur Herstellung von 5-Trifluormethylphthalsäureanhydrid

In einer von Bender hergestellten Serie von W84-Derivaten wurde durch die Einführung von Alkyl- und Halogensubstituenten und die Vergrößerung des aromatischen Systems gezielt die Lipophilie der Verbindungen erhöht. Dies führte durch die Vergrößerung der lipophilen Kontaktfläche zum Rezeptor zu einem deutlichen Anstieg der allosteren Wirksamkeit.⁶⁶ Durch die Analyse quantitativer Struktur-Wirkungsbeziehungen (QSARs) konnte eine gute Korrelation zwischen dem Volumen der lateralen aromatischen Reste und der biologischen Aktivität gefunden werden. Da jedoch in diesem Fall die Lipophilie und das Volumen des aromatischen Bereichs ebenfalls in engem Zusammenhang stehen, sollten im Rahmen dieser Arbeit Substituenten in das aromatische Ringsystem eingeführt werden, die ohne eine wesentliche Vergrößerung des Volumens die Lipophilie der Verbindungen erhöhen. Auf diese Weise sollte geprüft werden, ob die ermittelten Korrelationen weiterhin aufrecht gehalten werden können. So kann beispielsweise durch den Austausch einer Methylgruppe gegen eine Trifluormethylgruppe bei vergleichbarer Größe des Substituenten die Lipophilie einer Verbindung deutlich gesteigert werden. Der Lipophilieparameter π , der die Lipophilie eines Substituenten relativ zu einem Wasserstoffatom beschreibt, beträgt für die Methylgruppe 0.56*, für die Trifluormethylgruppe beträgt er 0.88.⁷¹ Es gibt zahlreiche Beispiele aus der Arzneistoffentwicklung, bei denen dieser isostere Austausch mit einer Steigerung der biologischen Wirkung einherging.

Die Synthese von 5-Trifluormethylphthalsäureanhydrid **11** erfolgte in Analogie zu Lombardino und Pawlowski in zwei Schritten.^{72,73} Zunächst wurde 4-Chlor-3-cyanobenzotrifluorid mit Natriumcyanid im Sinne einer nucleophilen Substitution umgesetzt,

* Der $\log P$ -Wert als Maß für die Lipophilie einer Verbindung setzt sich additiv aus den Lipophilieparametern π der verschiedenen Substituenten und dem $\log P$ -Wert der entsprechenden Grundstruktur zusammen.

indem der Reaktionsansatz zwei Stunden in DMF unter Rückfluss erhitzt wurde. Das entstandene 4-Trifluormethylphthalsäuredinitril wurde nicht isoliert, sondern direkt mit wässriger NaOH/Ethanol in der Siedehitze zur Dicarbonsäure **10** hydrolysiert. Nach einer basischen und einer sauren Extraktion mit Diethylether wurde der erhaltene Feststoff aus Benzol unter Zusatz weniger Tropfen Ethanol umkristallisiert, so dass Verbindung **10** in einer Ausbeute von 52% erhalten wurde. Die Umsetzung zu 5-Trifluormethylphthalsäureanhydrid erfolgte durch Erhitzen in Acetanhydrid unter Zusatz einer katalytischen Menge Schwefelsäure. Nach der Aufreinigung durch Destillation wurde das halbfeste Produkt zur Entfernung von restlichem Acetanhydrid mit einer Mischung aus Diethylether/Petrolether (3:5) gewaschen. Nach dem Trocknen erhielt man Verbindung **11** als weißen, kristallinen Feststoff in einer Ausbeute von 41%.

2.1.1.2 Versuch der Synthese von 5-Trifluormethylthiophthalsäureanhydrid

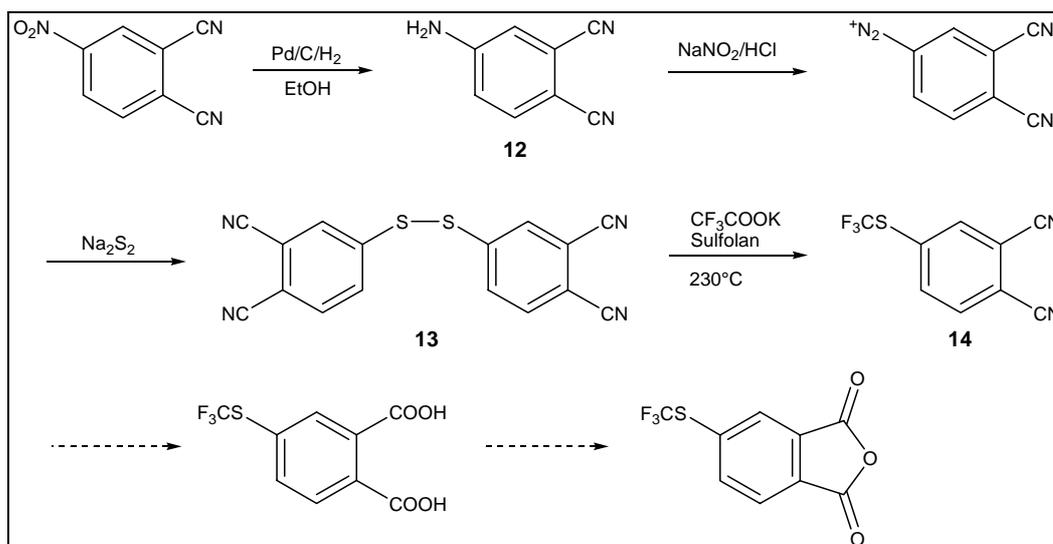


Abb. 16. Synthesepfad zur Herstellung von 5-Trifluormethylthiophthalsäureanhydrid

Trifluormethylthioether zeichnen sich gegenüber trifluormethylierten Verbindungen durch eine noch höhere Lipophilie aus (Lipophilieparameter $\pi = 1.44$).⁷¹ Übertroffen werden sie in dieser Hinsicht nur durch langkettige Alkylreste und aromatische Systeme. Es konnte jedoch von Bender in QSAR-Studien gezeigt werden,⁶⁶ dass das Volumen des aromatischen Ringsystems in W84-Derivaten ein Optimum von 600-650 Å³ aufweist*. Aus diesem Grund

* Die hohe allosterische Potenz erzeugenden Naphthalimidreste besitzen ein nahezu optimales Volumen von 604 Å³.

kann der aromatische Bereich nicht beliebig erweitert werden, da sonst das Molekül wegen seines zu hohen Volumens in der Bindungstasche nicht mehr die für die Bindung wichtigen aromatischen Wechselwirkungen eingehen kann.

Die Synthese von 5-Trifluormethylthiophthalsäureanhydrid sollte in mehreren Schritten erfolgen. Zunächst wurde 4-Nitrophthalsäuredinitril in Ethanol unter Verwendung von Palladium/Kohle-Katalysator an der Schüttelapparatur über Nacht zum entsprechenden primären aromatischen Amin **12** reduziert. Die Verbindung konnte ohne Aufreinigung für die weitere Umsetzung verwendet werden. Zur Bildung des Diazoniumsalzes wurde Verbindung **12** unter leichtem Erwärmen in 20%iger Salzsäure gelöst. Dann wurde auf 0-5 °C abgekühlt und ein leichter Überschuss 2.5 M wässrige Natriumnitritlösung zugetropft. Überschüssige salpetrige Säure wurde mit Harnstoff zerstört. Das Diazoniumsalz wurde nach Negrimovsky sofort weiter zum Bis(3,4-dicyanophenyl)disulfid **13** umgesetzt.⁷⁴ Dazu musste zunächst eine 5 mM Natriumdisulfidlösung frisch hergestellt werden, indem pulverisierter Schwefel und Natriumsulfid bei 80°C in Wasser bis zur Bildung einer intensiv gelben Lösung erhitzt wurden. Die erkaltete Lösung wurde bei 0-5°C langsam zur Lösung des Diazoniumsalzes zugetropft. Dabei bildete sich spontan ein voluminöser oranger Niederschlag, der abfiltriert und getrocknet wurde. Gemäß der Literaturvorschrift sollte dieser Feststoff dann zwei Stunden an einer Soxhletapparatur mit Ethanol extrahiert werden. Dabei war jedoch eine Zersetzung des Produktes zu beobachten, so dass dieser Schritt durch eine Extraktion mit kaltem Aceton ersetzt wurde. Nachdem der unlösliche Rückstand abfiltriert worden war, wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 15:1, R_f 0.66), da die beschriebene Umkristallisation aus Ethanol ebenfalls zu einer Zersetzung der Verbindung führte. Der gelbe Feststoff **13** wurde nicht ganz sauber und in einer geringen Ausbeute von 16% (Literatur 53%) isoliert. Diese Reaktion war sehr schlecht reproduzierbar. Die Trifluormethylthiogruppe sollte dann nach Quiclet-Sire durch thermische Decarboxylierung von Kaliumtrifluoracetat eingeführt werden.⁷⁵ Dazu wurden das Disulfid **13** und Kaliumtrifluoracetat mit Sulfolan als Lösungsmittel in einer Destillationsapparatur in ein auf 180°C vorgeheiztes Ölbad eingebracht. Es entstand eine dunkelbraune Lösung. Die Temperatur des Ölbad wurde auf 230°C erhöht und es ging bei 168°C / 50 mbar eine gelbe Lösung über. Diese bestand im Gegensatz zur Literaturvorschrift, in der ein Sulfolangehalt von ca. 3% beschrieben ist, hauptsächlich aus Sulfolan. Dieses konnte nicht durch Destillation, sondern nur durch mehrfaches Ausschütteln mit Wasser und Diethylether abgetrennt werden, da Sulfolan eine sehr schlechte Löslichkeit in Ether besitzt. Der halb feste Rückstand erwies sich bei der DC-Kontrolle (Kieselgel, CH₂Cl₂, R_f 0.55) als einheitliches

Produkt. Die Ausbeute lag jedoch nur im Milligrammbereich. Das von dieser Probe angefertigte Massenspektrum ließ darauf schließen, dass das gewünschte Produkt entstanden war ($m/z = 228$). Die Synthese von Verbindung **14** war jedoch nicht reproduzierbar, so dass die weitere Umsetzung zur Dicarbonsäure und schließlich zum Anhydrid nicht mehr durchgeführt werden konnte.

Andere Synthesewege zur Einführung der Trifluormethylthioethergruppe wurden nicht verfolgt, da viele in der Literatur bekannte Methoden nur für elektronenreiche Aromaten angewendet werden können oder die verwendeten Reagenzien (z.B. Trifluormethylthiosilber bzw. -kupfer) sehr toxisch oder sehr teuer sind.⁷⁶

2.1.2 Synthese von 3-Amino-1,8-naphthalsäureanhydrid

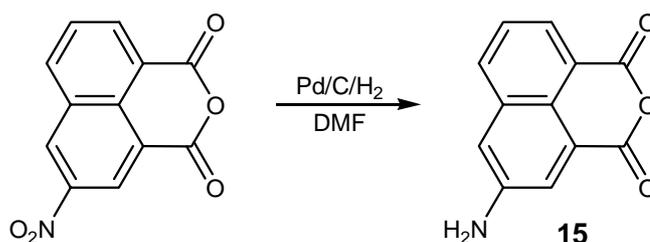


Abb. 17. Syntheschema zur Herstellung von 3-Amino-1,8-naphthalsäureanhydrid

Wie in Kapitel 1.3 erläutert wurde, könnten die fluoreszierenden Eigenschaften N-substituierter Naphthalimide zur Charakterisierung allosterer Interaktionen in Bindungsstudien mittels Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie genutzt werden. Um die Fluoreszenz der synthetisierten Verbindungen noch zu intensivieren, sollten deshalb elektronenliefernde Aminogruppen in das 1,8-Naphthalimidringsystem eingeführt werden.⁷⁷ Durch Reduktion von 3-Nitro-1,8-naphthalsäureanhydrid unter Verwendung von Palladium-Kohle-Katalysator wurde 3-Amino-1,8-naphthalsäureanhydrid **15** erhalten. Die Reaktion erfolgte über Nacht bei einem Druck von 3 atm an der Schüttelapparatur. Die Reaktionskontrolle erfolgt dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, Ethylacetat, R_f 0.75). Das Produkt fluoresziert unter UV-Licht intensiv gelb und weist zusätzlich einen geringeren R_f -Wert als das Edukt auf. Nach der Entfernung des Katalysators durch Filtration wurde die braune Lösung auf Eiswasser gegossen. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und im Vakuum über P_2O_5 getrocknet. Verbindung **15** fiel als gelber Feststoff in einer Ausbeute von 81% an.

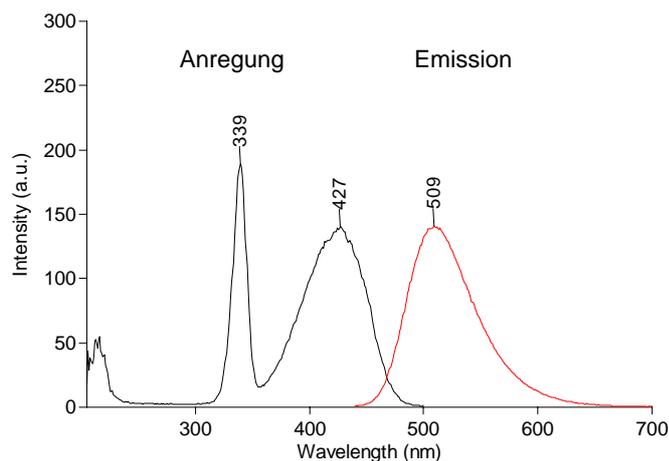


Abb. 18. Anregungs- und Emissionsspektrum der Verbindung **15**, gemessen in Aceton ($1\mu\text{M}$), Anregung bei 427 nm

2.1.3 Synthese einfach substituierter N,N-Dimethylpropan-1,3-diamine

2.1.3.1 Synthese von N,N,2-Trimethylpropan-1,3-diamin

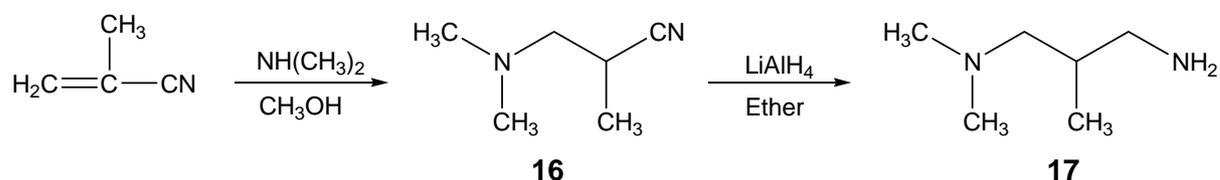


Abb. 19. Syntheseweg zur Herstellung von N,N,2-Trimethylpropan-1,3-diamin

In eine Lösung von 0.5 mol Methacrylnitril in wasserfreiem Methanol wurde nach Marcinkiewicz unter Eiskühlung und Rühren 1 mol Dimethylamin eingeleitet.⁷⁸ Der Ansatz wurde vier Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen und dann im Vakuum fraktioniert destilliert. Das erhaltene 3-(N,N-Dimethylamino)-2-methylpropannitril **16** (84%) wird dann in wasserfreiem Diethylether nach einer Standardvorschrift mit Lithiumaluminiumhydrid zu N,N,2-Trimethylpropan-1,3-diamin reduziert. Nach der Destillation erhält man das Produkt **17** als farblose Flüssigkeit in einer Ausbeute von 69%.

2.1.3.2 Versuch der Synthese von 2-Chlor-3-(N,N-dimethylamino)propannitril

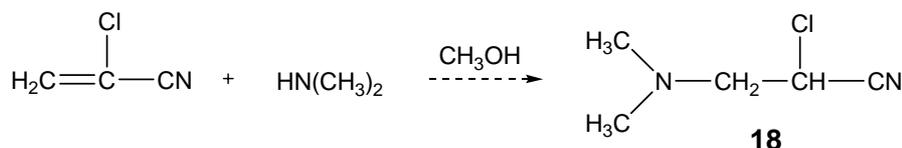


Abb. 20. Synthesepfad zur Herstellung von 2-Chlor-3-(N,N-dimethylamino)propannitril

Analog zur Synthese der methylierten Verbindung **16** sollte 2-Chlor-3-(N,N-dimethylamino)propannitril **18** hergestellt werden. Es wurden unter Eiskühlung in eine Lösung von 2-Chloracrylnitril in absolutem Methanol zwei Äquivalente Dimethylamin eingeleitet. Die Lösung verfärbte sich innerhalb eines Tages von gelb nach braun. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels blieb eine braune, ölige Flüssigkeit zurück, die sich bei der Destillation schwarz verfärbte und nicht aus dem gewünschten Produkt bestand. Um eine eventuelle Polymerisation zu vermeiden, wurde die Reaktion nochmals unter Zusatz einer Spatelspitze Kupfer(II)acetat als Polymerisationsinhibitor durchgeführt. Jedoch wurde nach der Destillation nur eine geringe Menge einer NMR-spektroskopisch nicht definierbaren Verbindung erhalten. Da man vermuten konnte, dass die Substanz einer zu hohen thermischen Belastung nicht Stand hält, wurde im dritten Ansatz auf die Destillation zur Aufreinigung verzichtet und stattdessen die Lösung mit Ether sauer und basisch ausgeschüttelt. Zusätzlich wurde entsprechend Stewart noch der Katalysator Benzyltrimethylammoniumhydroxid (Triton B) zugesetzt.⁷⁹ Es wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels jedoch erneut ein braunes Öl erhalten, in dem NMR-spektroskopisch die Zielverbindung nicht identifiziert werden konnte. Weitere Versuche zur Synthese der Verbindung **18** wurden nicht unternommen.

2.1.3.3 Versuch der Synthese von 2-Ethacrylnitril

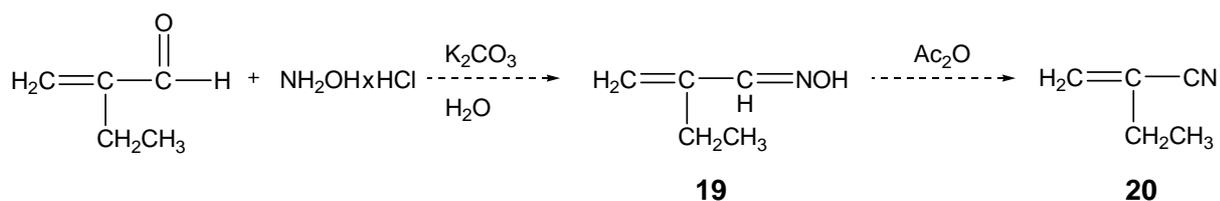


Abb. 21. Synthesepfad zur Herstellung von 2-Ethacrylnitril

Da über die Umsetzung von Methacrylnitril mit Dimethylamin und der anschließenden Reduktion des Nitrils zum primären Amin N,N,2-Trimethylpropan-1,3-diamin **17** hergestellt werden konnte, sollte versucht werden, auf dem gleichen Reaktionsweg ein einfach ethyliertes 1,3-Propandiaminderivat zu synthetisieren. Dazu musste allerdings erst entsprechend den Vorschriften von Mowry und Marvel die Ausgangsverbindung Ethacrylnitril hergestellt werden.^{80,81}

2-Ethylacrolein wurde langsam zu einer Lösung von Hydroxylamin-HCl und K₂CO₃ in Wasser zugetropft. Es wurde für eine Stunde bei 5°C gerührt. Nach der Extraktion mit Diethylether sollte das gebildete Oxim **19** im zweiten Schritt zum Nitril **20** dehydriert werden. Dazu wurde das Oxim unter Rühren bei 110°C zu einem Überschuss Acetanhydrid, das als wasserentziehendes Agens dient, zugetropft. Anschließend wurde über eine Kolonne destilliert. Die zwischen 70°C / 300 mbar und 60°C / 100 mbar übergehenden Fraktionen des Destillats konnten jedoch nicht identifiziert werden, auch der Brechungsindex entsprach nicht dem Literaturwert. Da zur Einführung verschiedener Alkylgruppen in die Propylketten von W84 später ein alternativer Reaktionsweg entwickelt wurde, wurden an dieser Stelle keine weiteren Versuche zur Synthese von Ethacrylnitril **20** unternommen.

2.1.4 Synthese der N-[3-(N',N'-Dimethylamino)propyl]-phthalimide bzw. -naphthalimide

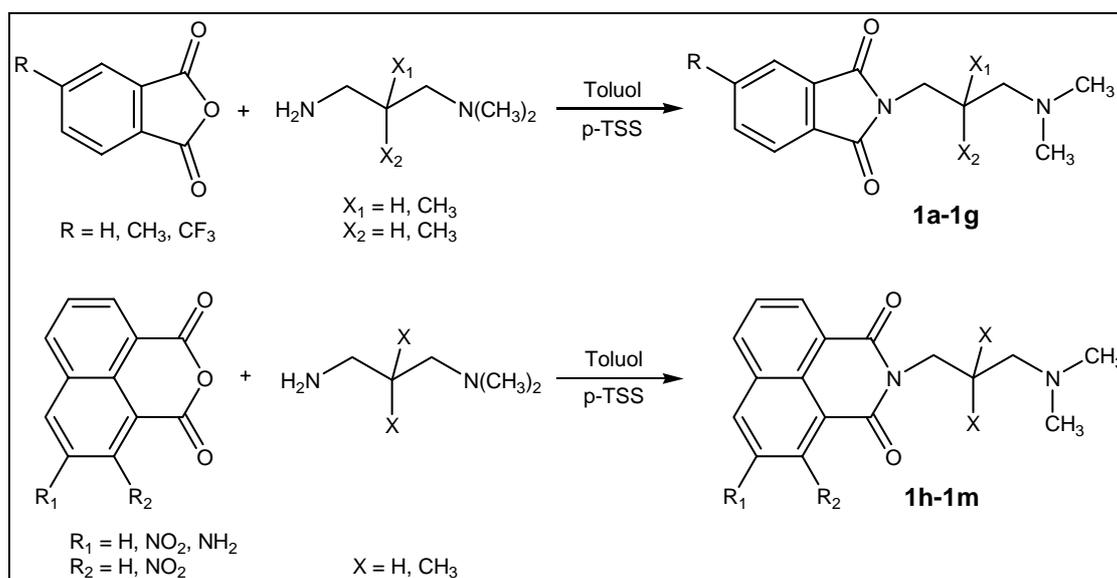


Abb. 22. Synthesewege zur Herstellung der Verbindungen **1a-1m**

Zur Herstellung der Verbindungen **1** wurden äquimolare Mengen der Phthalsäureanhydrid- bzw. Naphthalsäureanhydridderivate und des jeweiligen N,N-Dimethylpropan-1,3-diaminderivates in Toluol unter Zusatz einer katalytischen Menge p-Toluolsulfonsäure am Wasserabscheider unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktion erfolgte entsprechend den Vorschriften von Bender⁶⁶ für die Verbindungen **1a**, **1b** und **1h** und von Scharfenstein⁶³ für die Verbindungen **1f** und **1g**. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach zwei bis zehn Stunden wurde kein Wasser mehr abgeschieden und das Lösungsmittel wurde entfernt. Die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes erfolgte auf zwei verschiedenen Wegen. Einige Verbindungen wurden aus Ethanol umkristallisiert. Diejenigen Substanzen, die als Rohprodukt ölig anfielen (**1a-1e**) oder durch Umkristallisation nicht aufgearbeitet werden konnten (**1h**), wurden säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CH₂Cl₂/CH₃OH 1:1, R_f 0.4-0.6). Bis auf die ölige Verbindung **1b** lagen alle Phthalimido- und Naphthalimidopropylamine **1** als weiße bis bräunliche Feststoffe vor.

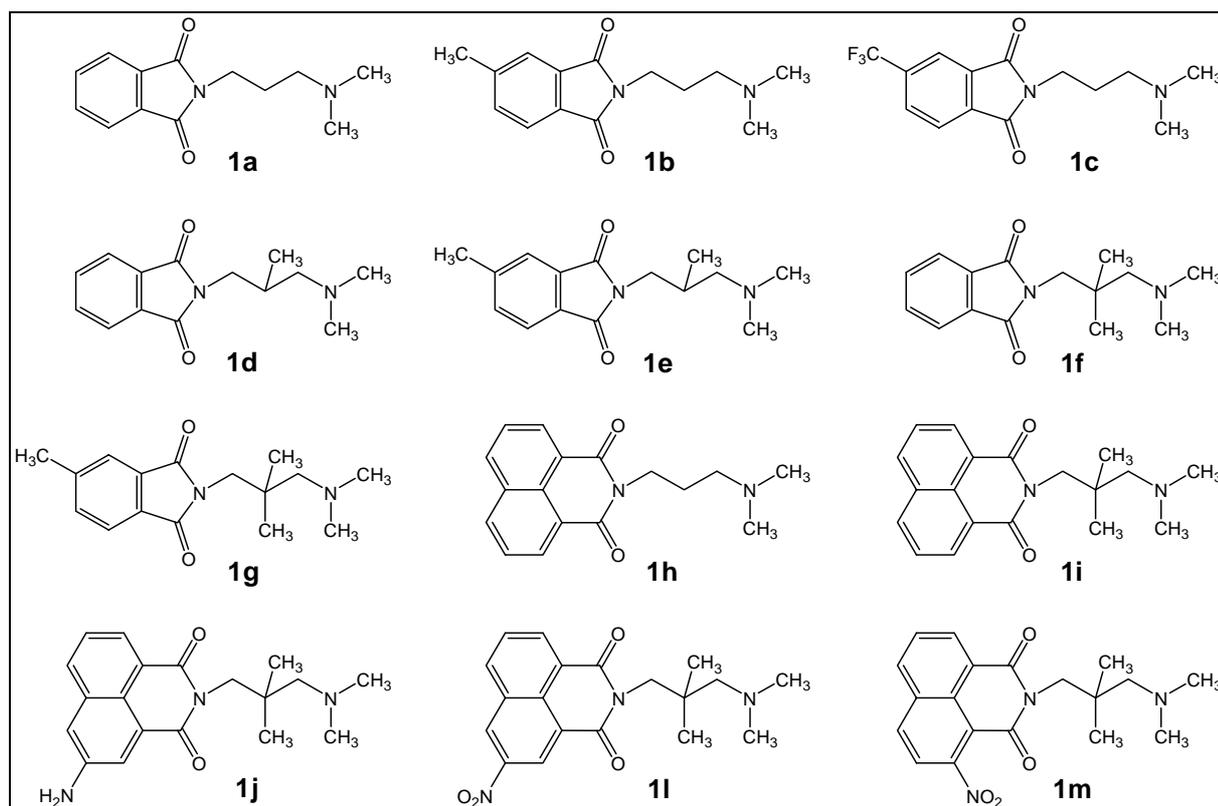


Abb. 23. Strukturformeln der synthetisierten Verbindungen **1a-1m**

2.1.5 Synthese der Zwischenprodukte 2 zur Herstellung unsymmetrischer W84-Derivate

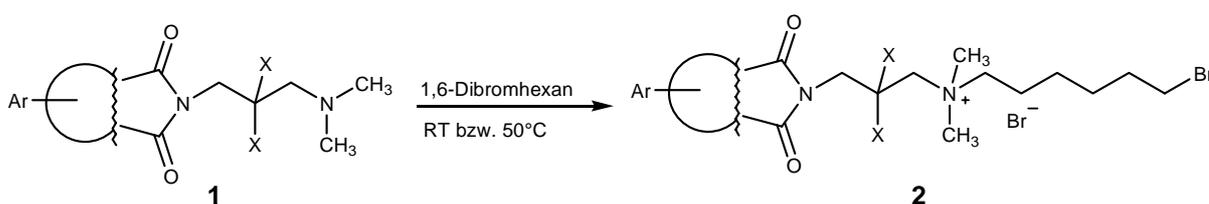


Abb. 24. Syntheseweg zur Herstellung der Zwischenprodukte **2**

Um unsymmetrische W84-Derivate synthetisieren zu können, müssen zunächst die einfach positiv geladenen Zwischenstufen **2** hergestellt werden. Dies erreicht man durch Umsetzung der entsprechenden Verbindung **1** mit einem mindestens zehnfachen Überschuss 1,6-Dibromhexan ohne Verwendung eines weiteren Lösungsmittels.⁶⁶ Die gebildeten Verbindungen **2** fallen aufgrund ihrer Ladung sofort aus der unpolaren Reaktionslösung aus, wodurch die Entstehung der symmetrischen, zweifach alkylierten Produkte verhindert wird. Der entstandene voluminöse Niederschlag wurde nach zwei bis elf Tagen abfiltriert. Um noch vorhandene Dibromhexanreste zu entfernen, wurde der Feststoff anschließend noch einige Minuten in reichlich Diethylether zum Sieden erhitzt und erneut abfiltriert. Die fast quantitative Umsetzung der Verbindungen **1a** und **1b** erfolgte bei Raumtemperatur innerhalb von zwei Tagen. Die Umsetzung aller anderen Verbindungen erfolgte bei 50-60°C und erforderte wegen der sterischen Hinderung durch die doppelte Methylierung der Propylkette deutlich längere Reaktionszeiten von bis zu elf Tagen. Die Herstellung von **2i-C4** und **2i-C8** wurde analog zu der beschriebenen Vorschrift mit 1,4-Dibrombutan (C4) bzw. 1,8-Dibromoctan (C8) durchgeführt.

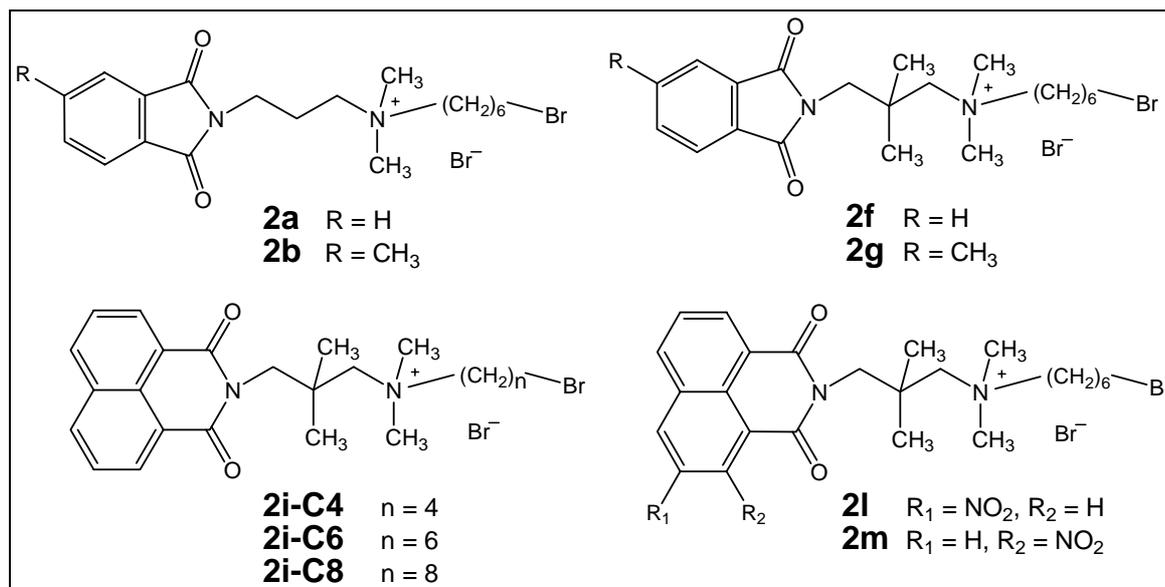


Abb. 25. Strukturformeln der synthetisierten Verbindungen 2

2.1.5.1 Versuch der Synthese der amino-substituierten Verbindung 2j

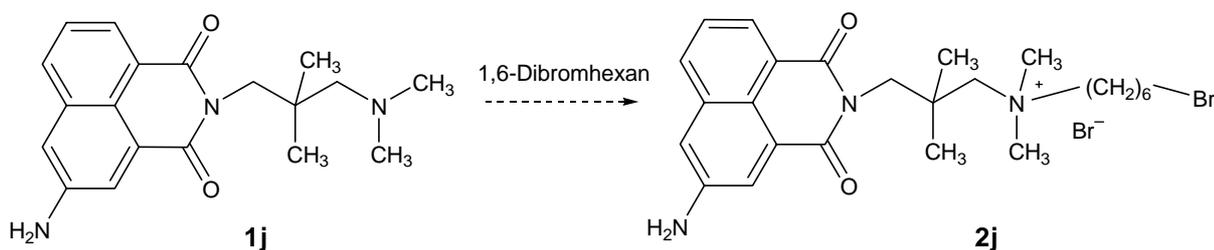


Abb. 26. Synthesepfad zur Herstellung der Verbindung 2j

Verbindung **1j** wurde in einem fünfzehnfachen Überschuss 1,6-Dibromhexan bei 50°C gerührt. Die DC-Kontrolle (Kieselgel, CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2) der rot gefärbten Lösung zeigte, dass kein einheitliches Reaktionsprodukt, sondern ein Gemisch von mehreren fluoreszierenden Substanzen entstanden war. Die Reaktion wurde nach zwölf Tagen abgebrochen. Der rot-braune Feststoff wurde in Ether aufgenommen, einige Minuten zum Sieden erhitzt und anschließend abfiltriert und getrocknet. Aus der NMR- und massenspektroskopische Analyse konnte geschlossen werden, dass neben der Alkylierung des aliphatischen Stickstoffs auch eine Alkylierung des primären aromatischen Amins stattgefunden hatte. Dieses Produktgemisch konnte nicht getrennt werden. Deshalb sollte zur Einführung von Aminogruppen in den Naphthalimidring der W84-Derivate die Reduktion der

apolarer Lösungsmittel wie Diethylether zu beschleunigen, da auf diese Weise nur Niederschläge von halbfester Konsistenz entstehen. Überraschend scheint zunächst die gute Löslichkeit der zweifach geladenen Verbindungen in vielen organischen Lösungsmitteln. Diese ist wohl auf die gute Abschirmung der Ladung durch die benachbarten Methylgruppen zurückzuführen, was dem Molekül lipophile Eigenschaften verleiht (siehe Kapitel 3.2). Der Niederschlag wurde abfiltriert und nochmals mit einer kleinen Menge Acetonitril und anschließend mit Pentan gewaschen. Wichtig ist die intensive Trocknung der Feststoffe im Vakuum, um eventuelle Rückstände von Acetonitril zu entfernen. Die unsymmetrischen W84-Derivate wurden in stark variierenden Ausbeuten von 8-78% erhalten. Verbindung **3a** soll im Folgenden mit dem Trivialnamen „Naphmethonium“ bezeichnet werden. Die Verbindungen **3** weisen auf der einen Seite alle ein Naphmethonium-Grundgerüst auf, einen Naphthalimidring mit einer benachbarten Dimethylierung der Propylkette. Dagegen besitzen die Verbindungen **5** keinen gemeinsamen Grundaufbau.

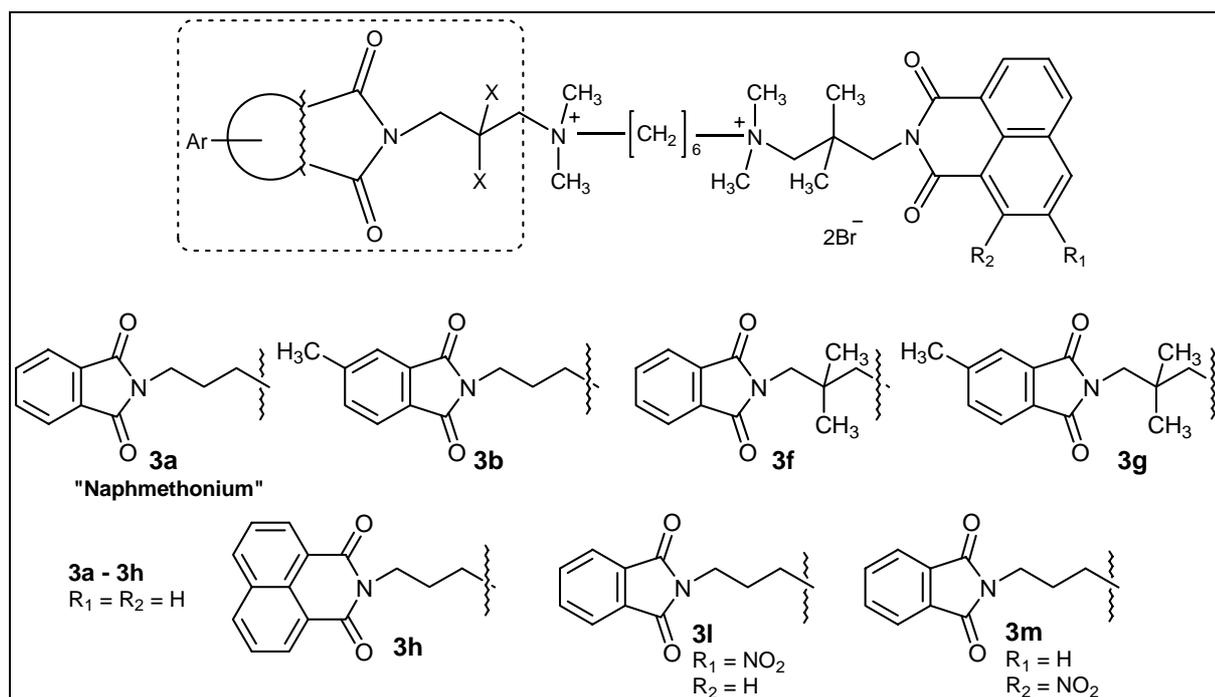


Abb. 28. Strukturformeln der Verbindungen **3a**, **3b**, **3f-3h**, **3l** und **3m**

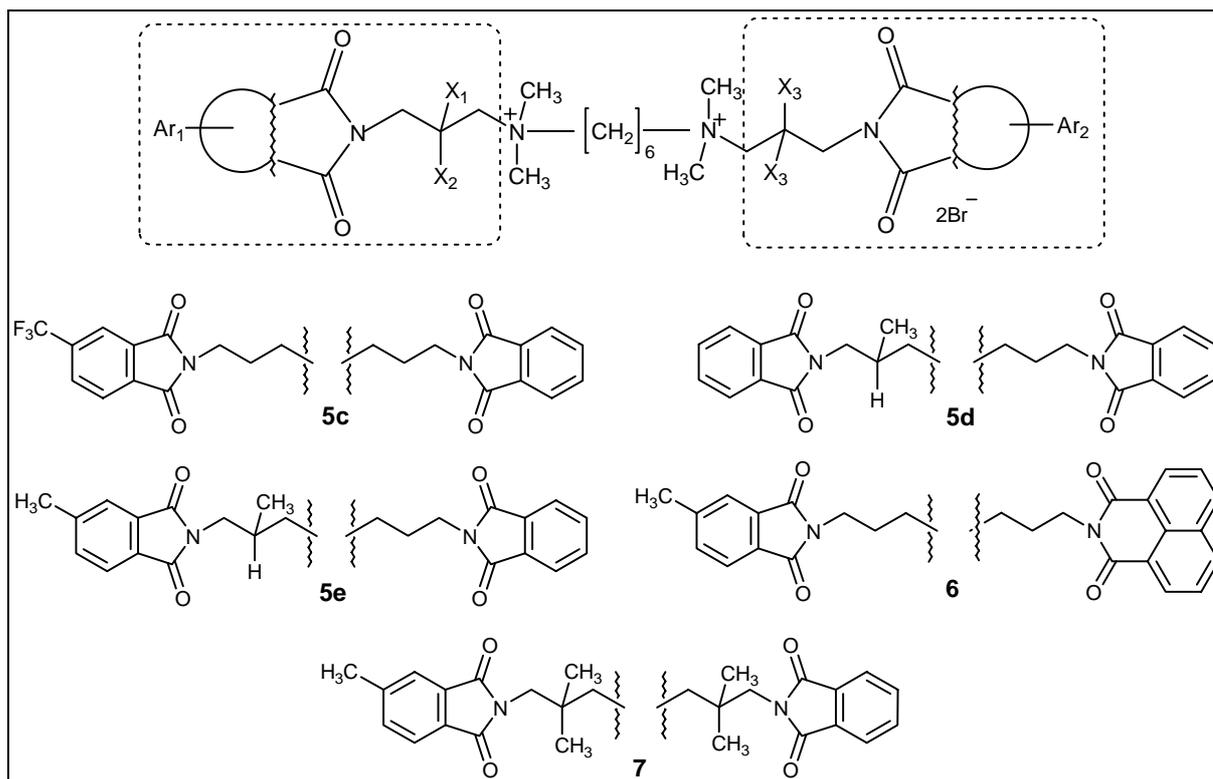


Abb. 29. Strukturformeln der Verbindungen 5c-5e, 6 und 7

2.1.6.1 Diskussion des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums der Verbindung 3a

Nachfolgend soll stellvertretend für die anderen unsymmetrischen W84-Derivate das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung 3a, aufgenommen in DMSO-d_6 , besprochen werden. Im aromatischen Bereich sind zwei Multipletts erkennbar. Das Signal bei $\delta = 8.49$ ppm wird durch vier Protonen des Naphthalimidringes hervorgerufen, während das Multiplett bei $\delta = 7.87$ ppm durch zwei Protonen des Naphthalimides und die vier Protonen des Phthalimidringes entsteht. Das Singulett der zum Imidstickstoff benachbarten Methylengruppe H_a ist beim Naphthalimidteil etwas weiter tieffeldverschoben ($\delta = 4.13$ ppm) als das entsprechende zum Triplet aufgespaltene Signal der Methylengruppe H_a' des Phthalimidteils ($\delta = 3.65$ ppm), da in Analogie zu früher hergestellten Verbindungen der entschirmende Effekt des Naphthalimides größer als der des Phthalimides ist.⁸² Die Signale der Protonen H_a und H_c sind als scharfe Singulettts erkennbar. Eine starke Verbreiterung ist wegen des benachbarten positiv geladenen Stickstoffatoms bei den Signalen der Protonen H_c' , H_d und H_d' feststellbar. Diese zeichnen sich durch eine sehr ähnliche chemische Verschiebung aus ($\delta = 3.3\text{-}3.5$ ppm) und sind teilweise durch das Signal des Wassers verdeckt. Durch den unsymmetrischen Aufbau des Moleküls werden die Signale der am positiv geladenen

Stickstoff gebundenen Methylgruppen in zwei Singulets ($\delta = 3.03$ bzw. 3.20 ppm) aufgespalten, wobei das Signal der zur zweifach methylierten Propylkette benachbarten Methylgruppen eine größere Tieffeldverschiebung erfährt. Alle Signale der aliphatischen Mittelkette erscheinen stark verbreitert. Als Grund dafür kann die aufgrund der Größe des Moleküls eingeschränkte Rotationsfähigkeit der Methylengruppen angenommen werden. Es ist eine Tieffeldverschiebung zu beobachten, die mit zunehmender Distanz der Methylengruppen zum Stickstoffatom geringer wird, da der Einfluss des entschirmenden Effekts abnimmt. Eine Differenzierung der beiden Molekülhälften ist noch bis zu den Protonen H_e und $H_{e'}$ erkennbar. Die beiden mittleren Methylengruppen der Mittelkette scheinen jedoch bereits zu weit von den lateralen Enden des Moleküls entfernt zu sein, als dass ihr lokales magnetisches Feld durch die verschiedenen Reste unterschiedlich beeinflusst werden könnte. Diese Aufspaltung der aliphatischen Signale kann bei allen unsymmetrischen W84-Derivaten beobachtet werden und ist somit auf die anderen Verbindungen, deren NMR-Daten in Tabelle 26-31 (Kap. 8.2.10, Experimenteller Teil) aufgeführt sind, übertragbar.

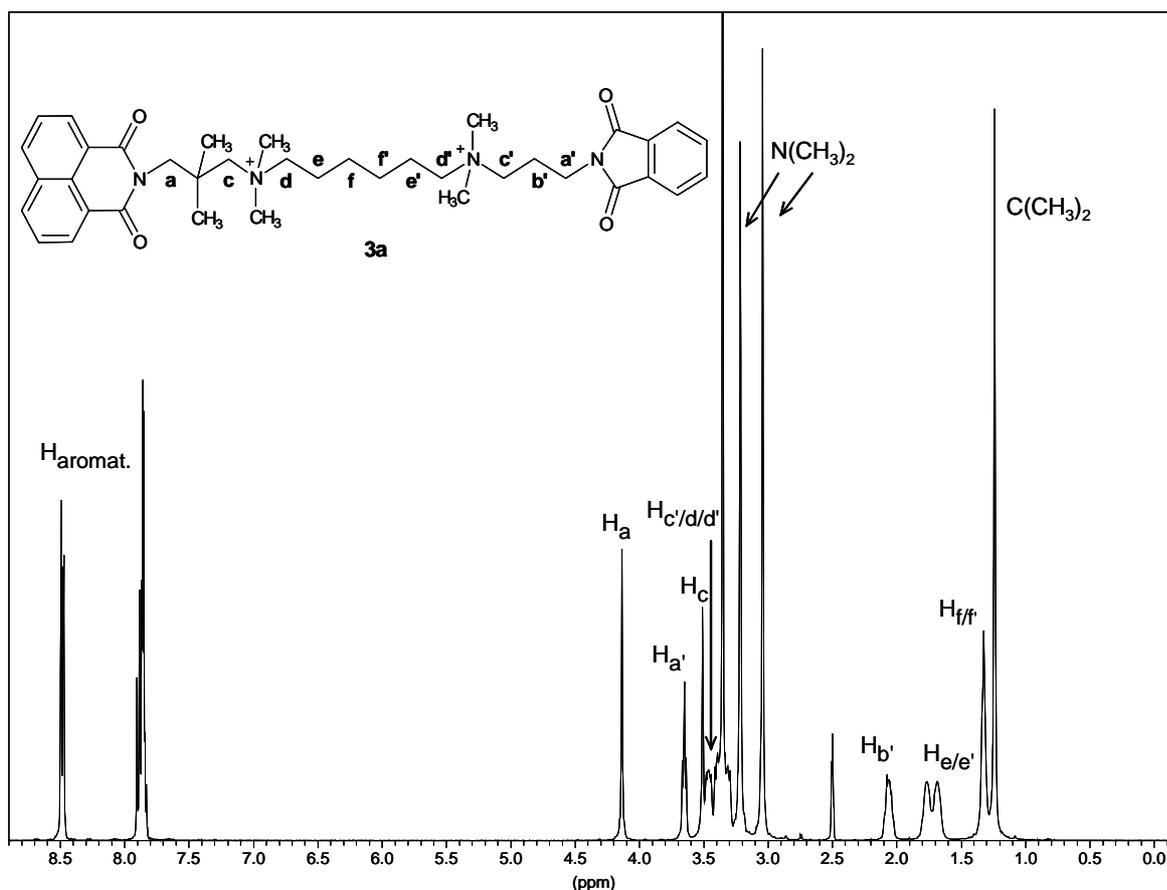


Abb. 30. ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung **3a**, aufgenommen in $\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz

2.1.6.2 Synthese aminosubstituierter Naphmethonium-Derivate

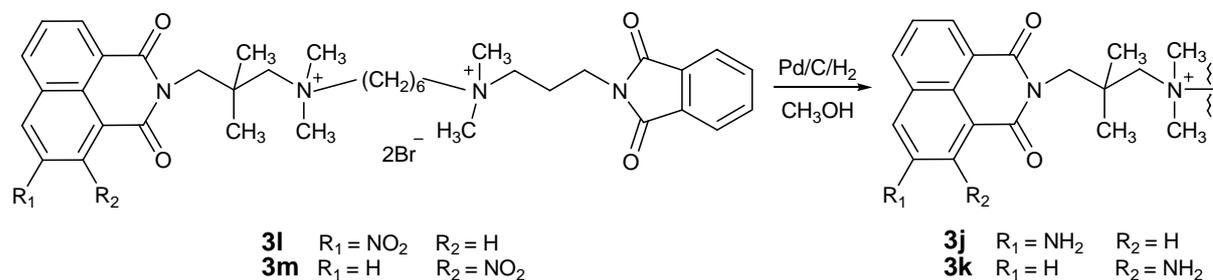


Abb. 31. Syntheseweg zur Herstellung der aminosubstituierten Verbindungen **3j** und **3k**

Die Nitrogruppen der Verbindungen **3l** bzw. **3m** wurden unter Verwendung von Palladium-Kohle-Katalysator bei 3.5 atm zu den Aminen **3j** und **3k** reduziert. Die Umsetzung erfolgte in Methanol an der Schüttelapparatur. Die Reaktion konnte durch die intensive Fluoreszenz der Produkte sehr gut dünnstschichtchromatographisch verfolgt werden (Kieselgel, $\text{CH}_3\text{OH}/0.2 \text{ M NH}_4\text{NO}_3$ -Lösung 3:2, R_f 0.15). Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator mehrmals abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt. Es blieb ein DC-reiner, öliges Rückstand zurück. Dieser wurde in Ethylacetat erhitzt, worauf sich der Rückstand nach einigen Minuten verfestigte. Der orange bzw. braune Feststoff wurde abfiltriert und getrocknet und fiel in einer Ausbeute von etwa 60% an. Die Diskussion der Anregungs- und Emissionsspektren der Verbindungen **3a** und **3j-3m** erfolgt in Kapitel 3.3. Die Fluoreszenzspektren der genannten Verbindungen, gemessen in Methanol und Magnesium/Tris-Puffer, sind in Kapitel 8.5 dargestellt.

2.1.7 Synthese von Vorstufen zur Herstellung symmetrischer W84-Derivate

Über den oben beschriebenen Reaktionsweg A war es nur möglich, Methylgruppen in die lateralen Propylketten von W84-Derivaten einzuführen. Die Art der Substitution an dieser Position im Molekül scheint einen entscheidenden Einfluss auf die Gleichgewichtsbindung des orthosteren Liganden zu besitzen, da durch eine doppelte Methylierung erstmals neutrale bzw. sogar positive Kooperativität für eine Bis(ammonio)alkanverbindung erzielt wurde.

Um an dieser Stelle des Moleküls weitere Strukturvariationen durchführen zu können, wurde der bereits zu Beginn des Kapitels beschriebene Weg B entwickelt. Im Folgenden soll nun die mehrstufige Synthese von substituierten 1,3-Dibrompropanen beschrieben werden. Diese dienen als Vorstufen zur Herstellung symmetrischer, an der Propylkette unterschiedlich alkylierter W84-Derivate.

2.1.7.1 Synthese einfach und zweifach alkylierter Malonsäurediethylester

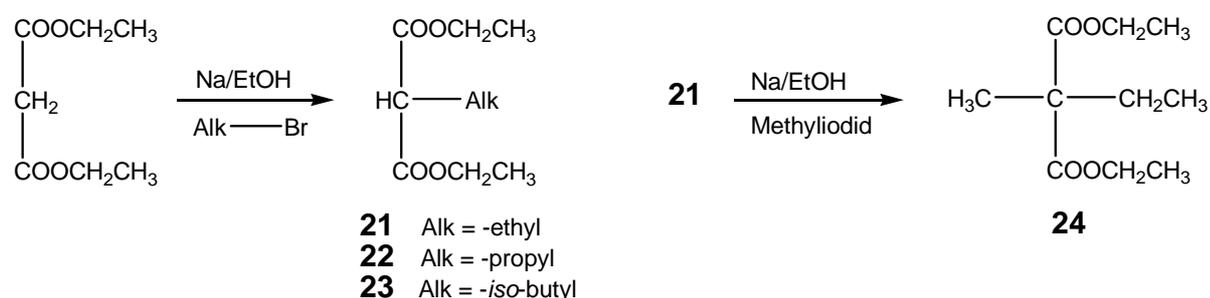


Abb. 32. Syntheseweg zur Herstellung der alkylierten Malonsäureester **21-24**

Nach einer allgemeinen Synthesevorschrift⁸³ wurde in eine noch heiße, frisch hergestellte Natriumethanolatlösung eine äquimolare Menge Malonsäurediethylester zugetropft. Anschließend wurden unter mäßigem Sieden 1.05 Äquivalente des entsprechenden Alkylbromids zugegeben. Nach 2-5 Stunden war die Reaktion beendet und der Ansatz zeigte keine basische Reaktion mehr. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und das in großem Umfang abgeschiedenen Natriumbromid in Wasser gelöst. Nach der Extraktion mit Diethylether wurde die organische Phase getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung erfolgte mittels fraktionierter Destillation, die Ausbeuten für die farblosen Flüssigkeiten lagen bei etwa 65%. Da die Siedepunkte der Edukte und der Produkte **21-23** sehr nah beieinander liegen, war die Trennung nur über eine Vigreux-Kolonnen möglich.

Zur Herstellung der zweifach alkylierten Verbindung **24** wurde zu einer Lösung von Diethylethylmalonat **21** und Methyljodid (1.1 Äquivalente) eine äquimolare Menge einer frisch hergestellten Natriumethanolatlösung zugetropft. Die Zugabe erfolgte unter Wasserkühlung, um ein Verdampfen des leicht flüchtigen Methyljodids zu verhindern. Nach zwei Stunden wurde der Ansatz noch für drei Stunden auf 40°C erwärmt und dann über Nacht stehen gelassen. Die weitere Aufarbeitung erfolgte analog zu den Verbindungen **21-23**. Verbindung **24** wurde nach fraktionierter Destillation als leicht rosa gefärbte Flüssigkeit in einer Ausbeute von 74% erhalten.

2.1.7.2 Synthese einfach und zweifach alkylierter 1,3-Propandiolderivate

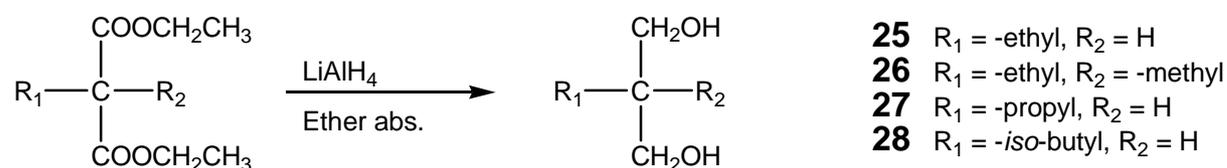


Abb. 33. Syntheseweg zur Herstellung der 1,3-Propandiole **25-28**

Die substituierten Malonsäureester **21-24** wurden in wasserfreiem Diethylether mit Lithiumaluminiumhydrid zu den entsprechenden Diolen **25-28** reduziert.⁸⁴ Der Reaktionsansatz wurde etwa vier Stunden unter Rückfluss erhitzt und anschließend mit Eiswasser vorsichtig hydrolysiert. Nach der Abtrennung des gebildeten Niederschlags und der Trocknung wurde das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde fraktioniert destilliert und es wurden die 1,3-Propandiolderivate **25-28** als viskose, farblose Flüssigkeiten erhalten.

2.1.7.3 Synthese einfach alkylierter 1,3-Dibromderivate

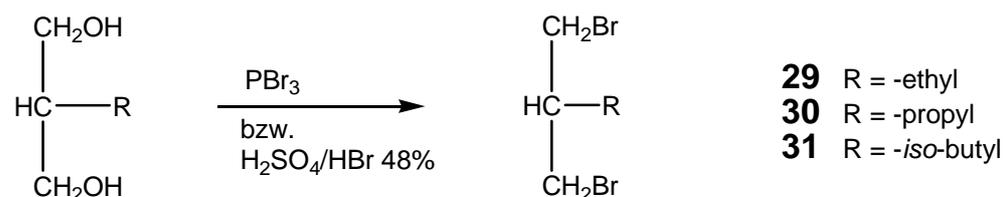


Abb. 34. Zwei Synthesewege zur Herstellung der 1,3-Dibrompropane **29-31**

Die Synthese der ethylsubstituierten Verbindung **29** erfolgte durch Umsetzung des entsprechenden 1,3-Propandiols **25** nach Haramoto.⁸⁴ Es wurde unter Eiskühlung eine Mischung aus Schwefelsäure und Bromwasserstoffsäure 48% hergestellt. Bei 0°C wurde unter heftigem Rühren erst Verbindung **25** und dann nochmals konzentrierte Schwefelsäure zugetropft. Die Lösung wurde 16 Stunden auf 100°C erhitzt, wobei sie sich dunkelbraun bis schwarz verfärbte. Nach dem Erkalten wurde die Mischung auf Eiswasser gegossen, das Produkt abgetrennt und die Wasserphase noch mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden zur Entfernung von Säureresten mit NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und anschließend getrocknet. Das braune Rohprodukt wurde durch Destillation gereinigt, so dass Verbindung **29** als grünliche Flüssigkeit in einer Ausbeute von maximal 51% erhalten werden konnte.

Da im nächsten Reaktionsschritt ein großer Überschuss der Dibromverbindungen eingesetzt werden sollte, und die Ausbeute der oben beschriebenen Reaktion nur 40-50% betrug, sollte zur Herstellung der propyl- und *iso*-butylsubstituierten Verbindungen **30** und **31** ein alternativer Syntheseweg gewählt werden.

Entsprechend einer Vorschrift von Escalé⁸⁵ wurde ein zweifacher Überschuss Phosphortribromid bei einer Temperatur von unter 70°C langsam zu den Diolen **27** bzw. **28** zugetropft. Die Lösung wurde fünf Stunden auf 100°C erhitzt, wobei keine Braunfärbung, sondern nur die Bildung einer orangefarbenen Emulsion zu beobachten war. Zur Zerstörung des überschüssigen PBr₃ wurde der Ansatz auf Eiswasser gegossen. Die Dibromverbindung wurde abgetrennt und die Wasserphase noch mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und getrocknet. Die Reinigung erfolgte durch fraktionierte Destillation, die Ausbeuten für die farblosen Produkte **30** und **31** betragen 60 bzw. 64%.

2.1.7.4 Versuch der Synthese von 2-Ethyl-2-methyl-1,3-dibrompropan

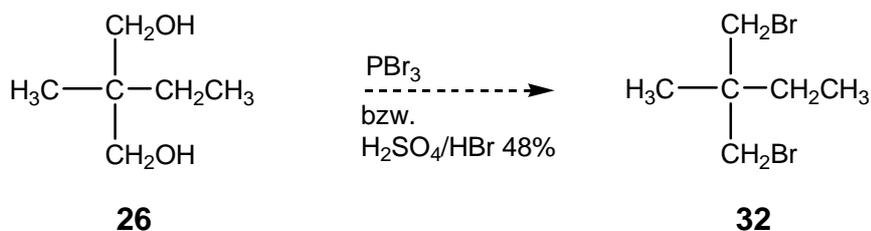


Abb. 35. Synthesepfad zur Herstellung des zweifach alkylierten Dibrompropans **32**

Die Herstellung der zweifach alkylierten Dibromverbindung **32** war auf den beiden oben geschilderten Reaktionswegen nicht möglich. Aus der Reaktion mit $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HBr}$ wurde eine geringe Menge (ca. 8%) eines gelben Destillates erhalten, das nicht als das gewünschte Produkt identifiziert werden konnte. Bei der Analyse des Destillates aus den Umsetzungen mit PBr_3 wurde mehrfach festgestellt, dass es sich entweder um das eingesetzte Edukt **26** oder um ein nicht identifizierbares Produktgemisch handelte. Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde die Beobachtung gemacht, dass zweifach substituierte Dibromderivate mit räumlich anspruchsvolleren Substituenten (Diethyl-, Dimethoxygruppen) aufgrund der sterischen Hinderung nicht mehr zu den gewünschten Endstufen reagieren (Kap. 2.1.8.3). Es konnten lediglich Verbindungen hergestellt werden, die an Position 2 der Propylkette zwei Methylgruppen tragen. Aus diesem Grund wurde die Synthese von Verbindung **31** nicht weiterverfolgt.

2.1.7.5 Synthese alkylierter N-(3-Brompropyl)phthalimidderivate

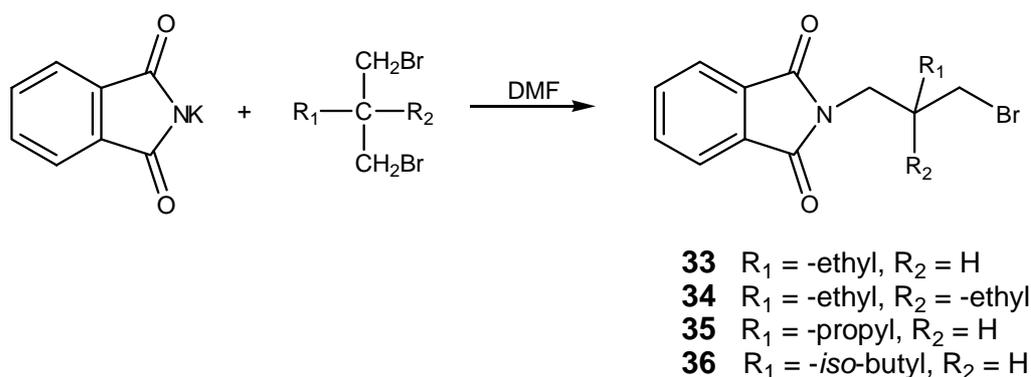


Abb. 36. Syntheseweg zur Herstellung der N-(3-Brompropyl)phthalimide **33-36**

In Anlehnung an eine Vorschrift von Pfammatter⁸⁶ wurde Kaliumphthalimid mit einem dreifachen Überschuss der entsprechenden Dibromverbindung **29-31** bzw. 2,2-Diethyl-1,3-dibrompropan (kommerziell erhältlich) in DMF für etwa sieben Stunden auf 80°C (bei Verbindung **34** auf 95°C) erhitzt. Wurde eine höhere Temperatur gewählt, verfärbte sich die Lösung dunkel bzw. kam es zu einer doppelten Alkylierung des 1,3-Dibrompropan. Es war zu beobachten, dass sich das Kaliumphthalimid erst nach einigen Stunden vollständig löste, gleichzeitig fiel im Laufe der Reaktion KBr aus der Lösung aus. Der Verlauf der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Aceton}$ 15:1, R_f 0.8-0.9). Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung vom in großer Menge ausgefallenen KBr

abdekantiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der flüssige Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und mehrfach mit viel Wasser ausgeschüttelt, um einen Teil des noch vorhandenen Überschusses des Eduktes zu entfernen. Das Rohprodukt konnte anschließend mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, CH_2Cl_2 , R_f 0.45-0.65) von den 1,3-Dibrompropanderivaten abgetrennt werden. In den meisten Fällen war es notwendig, die Säulenchromatographie zu wiederholen. Die erhaltenen farblosen Öle erstarrten nach einigen Tagen bei 4°C zu wachsartigen Feststoffen. Die Ausbeuten aus der Synthese der Brompropylphthalimide **33-36** betrug 41-64%.

2.1.7.6 Synthese von *N*-(3-Brompropyl)-1,8-naphthalimid

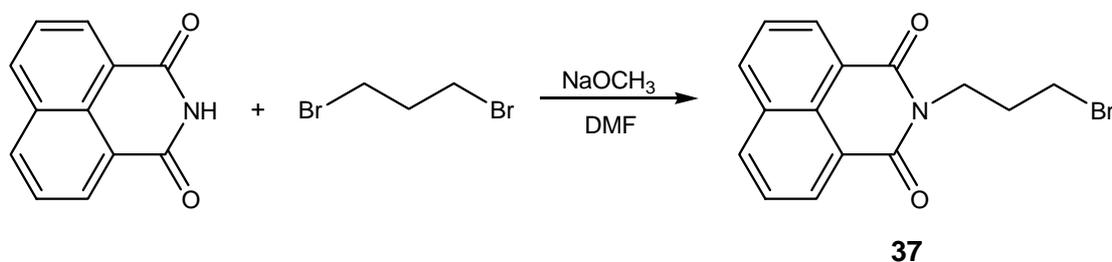


Abb. 37. Syntheseweg zur Herstellung von *N*-(3-Brompropyl)-1,8-naphthalimid **37**

Naphthalimid wird nach einer Vorschrift von Middleton mit einem vierfachen Überschuss 1,3-Dibrompropan in DMF suspendiert.⁷⁷ In diese Mischung wurden zur Deprotonierung 1.25 Äquivalente einer frisch hergestellten Natriummethanolatlösung gegeben. Der Reaktionsansatz wurde 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach etwa 15 Minuten eine klare braune Lösung entstand. Nachdem die Reaktion beendet war (DC-Kontrolle: Kieselgel, CH_2Cl_2 , R_f 0.5), wurde die Mischung auf Eiswasser gegossen. Der entstandene hellbraune Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus Ethanol umkristallisiert. Zur Vervollständigung der Fällung wurde die Mutterlauge nochmals eingeeengt und es konnte bei 4°C erneut ein Niederschlag erhalten werden. *N*-(3-Brompropyl)-1,8-naphthalimid **37** kristallisierte in Form kleiner hellbrauner Nadeln aus.

2.1.7.7 Versuch zur Synthese von *N*-(3-Brom-2,2-dimethoxypropyl)phthalimid

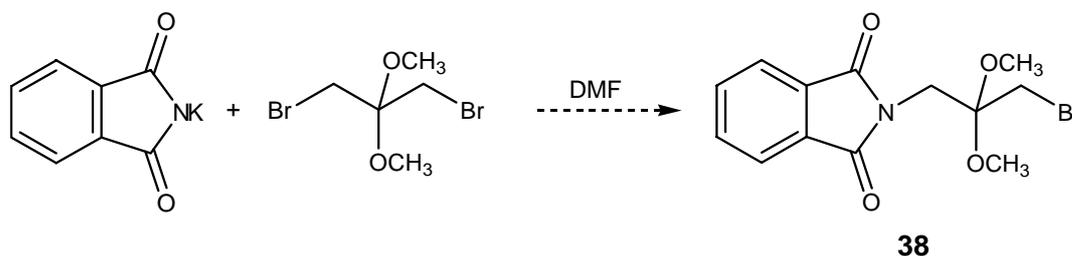


Abb. 38. Syntheseplan zur Herstellung von *N*-(3-Brom-2,2-dimethoxypropyl)phthalimid **38**

Die Umsetzung von Kaliumphthalimid mit 2,2-Dimethoxy-1,3-dibromopropan zur Verbindung **38** führte unter den für die Verbindungen **33-36** angegebenen Bedingungen nicht zum Erfolg. Laut DC-Kontrolle (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 15:1, R_f 0.75) war nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden nur eine minimale Umsetzung zum gewünschten Produkt erkennbar. Eine weitere Erhöhung der Reaktionszeit führte lediglich zu einer starken Erhöhung der Anzahl der Nebenprodukte, so dass eine säulenchromatographische Trennung nicht möglich war. Es wurde versucht, durch eine Temperaturerhöhung die Reaktion zu beschleunigen, doch auch bei Temperaturen von bis zu 130°C verlief die Umsetzung nicht wesentlich schneller. Auch der Versuch der mikrowellenunterstützten Synthese unter Variation der Temperatur und der Reaktionszeit (bis zu 60 min/130°C) führte nur zur Bildung eines Produktgemisches, dessen Trennung in den meisten Fällen nicht zum Erfolg führte. Es konnten nur wenige Milligramm des vermuteten Produktes isoliert werden. Die massenspektroskopische Analyse lieferte im EI-Spektrum den Molekülpeak $m/z = 299$. Da die Molekülmasse von Verbindung **38** 328 g/mol beträgt, kann man auf eine Spaltung einer Methoxygruppe der Acetalstruktur unter den Messbedingungen schließen. Wegen der minimalen Ausbeute konnte Verbindung **38** jedoch nicht weiter umgesetzt werden.

2.1.7.8 Synthese von *N*-(3-Brom-2-hydroxy-2-methylpropyl)phthalimid

Die Synthese von *N*-(3-Brom-2-hydroxy-2-methylpropyl)phthalimid **41** erfolgte in drei Stufen.⁸⁷ Im ersten Schritt wurde Kaliumphthalimid mit 3-Chlor-2-methyl-1-propen in DMF umgesetzt. Die Mischung wurde drei Stunden auf 95°C erhitzt, wobei der Reaktionsansatz sich durch ausfallendes Kaliumchlorid trübte. Nach dem Abkühlen wurde auf Eiswasser gegossen. Der ausgefallene weiße Feststoff (87%) wurde abfiltriert, im Vakuum getrocknet

und konnte ohne Aufreinigung für die weitere Umsetzung verwendet werden. Die Literatursausbeute für diesen Reaktionsschritt betrug 71%

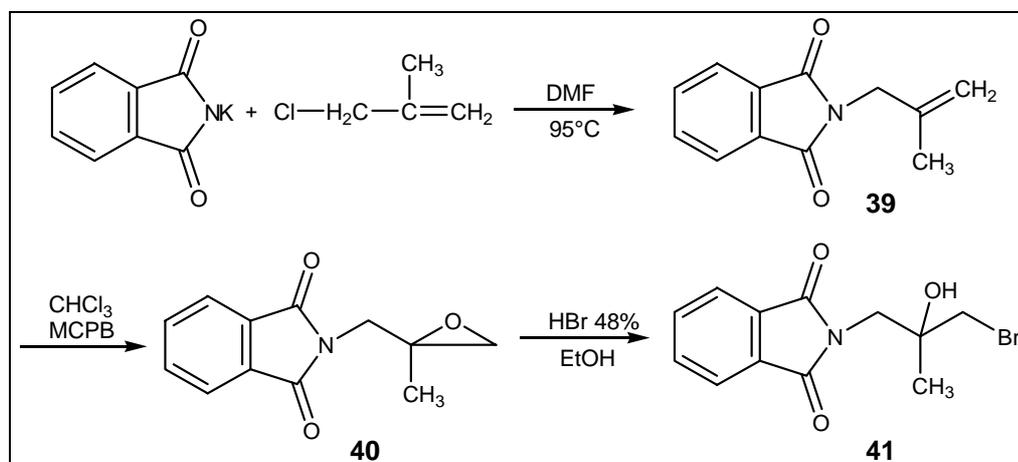


Abb. 39. Syntheseweg zur Herstellung von *N*-(3-Brom-2,2-dimethoxypropyl)phthalimid **41**

Im zweiten Schritt wurde zur Bildung des Epoxids Verbindung **39** in Chloroform gelöst und eine äquimolare Menge 3-Chlorperoxybenzoesäure (MCPB) in Chloroform zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde über Nacht stehen gelassen und am nächsten Tag noch eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Es wurde nacheinander mit NaHCO_3 -Lösung, Wasser, 5%iger Na_2SO_3 -Lösung und erneut Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und abdestilliert. Verbindung **40** wurde nach der Trocknung im Vakuum als weißer Feststoff in einer Ausbeute von 90% erhalten. Schließlich wurde der Epoxidring mit Bromwasserstoffsäure in Ethanol zum Alkohol geöffnet. Verbindung **40** wurde in Ethanol bei 70°C gelöst. Der Ansatz wurde mit 48%iger Bromwasserstoffsäure versetzt und über Nacht stehen gelassen. Es wurde dann Wasser bis zur Bildung eines bleibenden Niederschlags zugegeben und die Fällung wurde bei 4°C vervollständigt. Der Niederschlag wurde abfiltriert. Zur Reinigung wurde das Rohprodukt unter Wärmezufuhr in Ethanol gelöst. Es wurde wiederum Wasser bis zur bleibenden Trübung zugegeben und der Ansatz wurde nochmals erhitzt, bis eine klare Lösung entstand. Der bei 4°C entstandene Niederschlag der hydroxylierten Verbindung **41** (73%, Literatur 63%) wurde abfiltriert und im Vakuum über P_2O_5 getrocknet.

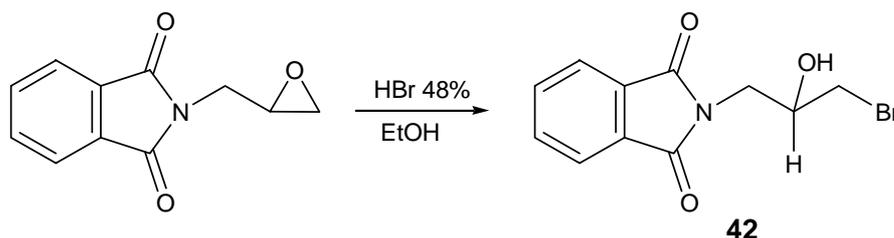
2.1.7.9 Synthese von *N*-(3-Brom-2-hydroxypropyl)phthalimid

Abb. 40. Syntheseweg zur Herstellung von *N*-(3-Brom-2-hydroxypropyl)phthalimid **42**

In einer früheren Arbeit des Arbeitskreises Holzgrabe wurde bereits ein W84-Derivat synthetisiert, das in Position 2 der Propylkette eine Hydroxygruppe trägt. Um die Lipophilie dieser Verbindung zu erhöhen, sollte das analoge Methoxyderivat hergestellt werden. Zu diesem Zweck wurde zunächst analog zur Synthese der Verbindung **41** der Epoxidring des kommerziell erhältlichen *N*-(2,3-Epoxypropyl)phthalimid mit Bromwasserstoffsäure in Ethanol geöffnet. Der über Nacht bei Raumtemperatur entstandene Niederschlag wurde abgesaugt und mit Ethanol gewaschen. *N*-(3-Brom-2-hydroxypropyl)phthalimid **42** wurde als weißer Feststoff in einer Ausbeute von 46% erhalten und sollte im Folgenden weiter zum entsprechenden Methylether **43** umgesetzt werden.

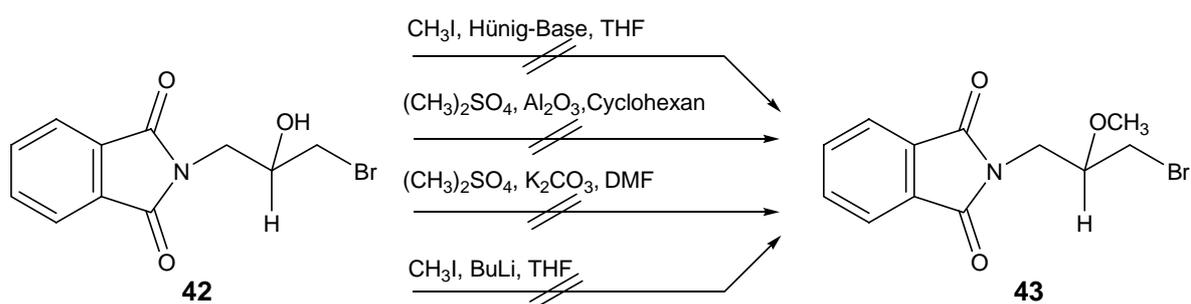
2.1.7.10 Versuche zur Synthese von *N*-(3-Brom-2-methoxypropyl)phthalimid

Abb. 41. verschiedene Synthesepläne zur Herstellung von *N*-(3-Brom-2-methoxypropyl)phthalimid **43**

Es wurden verschiedene Versuche unternommen, Verbindung **42** durch Alkylierung der Hydroxygruppe in den Methylether **43** zu überführen.

Verbindung **42** wurde in absolutem THF gelöst und es wurden 1.4 Äquivalente Methyljodid als Alkylans und zwei Äquivalente Hünig-Base (N-Ethyldiisopropylamin) zum Abfangen der gebildeten Protonen zugegeben. Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur gerührt. Zunächst

war eine Farbvertiefung nach gelb zu beobachten. Nach einigen Minuten entfärbte sich die Lösung wieder und es bildete sich ein Niederschlag. Dieser war sehr leicht in Wasser, jedoch nicht in organischen Lösungsmitteln wie Aceton, Dichlormethan und Diethylether löslich und konnte somit nicht dem erwarteten Produkt entsprechen. Auch nach einer Reaktionszeit von 12 Stunden hatte laut DC-Kontrolle der Reaktionslösung (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 15:1) noch keine Umsetzung des Eduktes stattgefunden. Es ist anzunehmen, dass die Hilfsbase, obwohl sie sterisch stark gehindert ist, alkyliert wurde und als Ammoniumsalz aus der Lösung ausgefallen ist.

Im nächsten Versuch wurde entsprechend Ogawa Dimethylsulfat als Alkylierungsmittel unter Einsatz von Aluminiumoxid als Adsorbens verwendet.⁸⁸ Zunächst wurde 1 mol **42** in wenig THF gelöst und es wurden 2 g Al₂O₃ zugegeben. Dann wurde das Lösungsmittel entfernt, so dass die Verbindung an Al₂O₃ adsorbiert vorlag. Diese Probe und 1.2 Äquivalente Dimethylsulfat wurden in wasserfreiem Cyclohexan suspendiert und zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Adsorbens wurde abfiltriert und die Substanz mit Aceton wieder eluiert. Die DC-Kontrolle ergab jedoch, dass wiederum keine Umsetzung zum Produkt stattgefunden hatte. Der Grund dafür könnte eine ungünstige Adsorption der Carbonylgruppen an Al₂O₃ sein, die eine Methylierung des Alkohols verhindert.

Auch bei der Durchführung der Reaktion von **42** mit Dimethylsulfat und K₂CO₃ in DMF bei 80°C war selbst nach mehreren Stunden keine Umsetzung erkennbar. In wässrigen Lösungsmitteln wurde die Reaktion nicht durchgeführt, da unter diesen Bedingungen eine Hydrolyse des Phthalimidringes zu beobachten ist.⁸⁹⁻⁹¹

In einem weiteren Versuch wurde Verbindung **42** in absolutem THF gelöst. Bei 0°C wurden erst 1.6 Äquivalente Methyljodid und dann tropfenweise eine Lösung von Butyllithium in Hexan zugegeben. Der Ansatz wurde zwei Stunden gerührt, wobei sich die Lösung gelb verfärbte. Die DC-Kontrolle ergab, dass eine Umsetzung stattgefunden hatte. Es wurde Wasser zugegeben und die Wasserphase wurde mit Diethylether extrahiert. Nach der Trocknung wurde das Lösungsmittel entfernt und die Probe NMR-spektroskopisch vermessen. Das erhaltene Spektrum deutete auf die Entstehung eines Multiproduktgemisches hin. Vermutlich wurde teilweise wieder das Epoxid gebildet oder es fanden inter- und intramolekulare Nebenreaktionen statt, bevor der Alkohol zum Ether methyliert werden konnte. Ebenso war im aromatischen Bereich ein unsymmetrisches Substitutionsmuster erkennbar, was auf die Entstehung des bereits oben erwähnten Hydrolyseproduktes hindeutet. Die Synthese von Verbindung **43** wurde daraufhin nicht weiter verfolgt.

2.1.7.11 Versuch der einseitigen Alkylierung von *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamin mit *N*-(3-Brompropyl)phthalimid

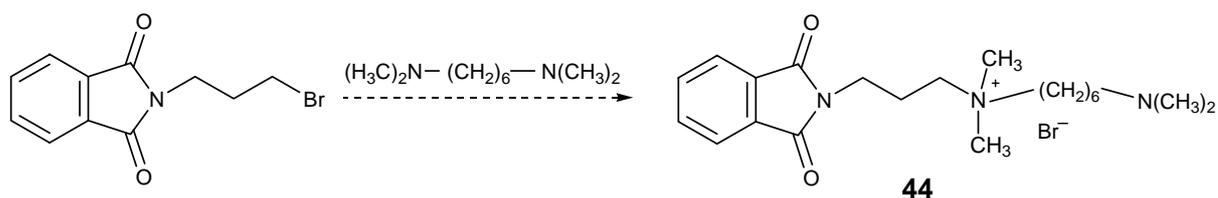


Abb. 42. Syntheseplan zur Herstellung des Zwischenproduktes **44**

Die Synthese unsymmetrischer W84-Derivate nach Weg A verlief über die einfach positiven Verbindungen **2** als Zwischenprodukte (Kapitel 2.1.5). Diese wurden durch eine einseitige Alkylierung von 1,6-Dibromhexan mit den Phthalimidopropylaminen **1** hergestellt. Um auch über Weg B die Synthese unsymmetrischer Verbindungen über die Zwischenstufe **44** zugänglich zu machen, sollte *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamin ebenfalls einseitig durch *N*-(3-Brompropyl)phthalimid alkyliert werden. Dies sollte analog zu Weg A über den Einsatz eines großen Überschusses des Diamins ohne weiteres Lösungsmittel erreicht werden. Der Reaktionsansatz wurde über mehrere Tage bei Raumtemperatur gerührt. Dabei ging nach einiger Zeit *N*-(3-Brompropyl)phthalimid in Lösung und ein Niederschlag begann sich abzuscheiden. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Kieselgel, CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2). Nach vier Tagen waren das Edukt (*R_f* 0.86) sowie der vermutete Produktfleck (*R_f* 0.4) erkennbar.

Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Petrolether gewaschen. Bei der NMR-spektroskopischen Analyse des weißen Feststoffs zeigte sich jedoch, dass die Reaktion auf beiden Seiten des Diamins erfolgt und somit W84 entstanden war. Die gleiche Beobachtung wurde bei der Umsetzung von Verbindung **37** mit *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamin gemacht. In diesem Fall wurde die beidseitig mit Naphthalimiden substituierte, symmetrische Verbindung WB64 erhalten. Somit lässt sich die in Kapitel 2.1.5 für die einseitige Alkylierung von Dibromhexan mit Phthalimidopropylaminen beschriebene Synthese nicht ohne weiteres auf die Umsetzung von Tetramethylhexandiamin mit Brompropylphthalimiden übertragen.* Aus diesem Grund war die Herstellung unsymmetrischer W84-Derivate, die verschiedene Alkylgruppen (Ethyl-, Propyl-, *iso*-Butyl-) in der Propylkette tragen, nicht möglich.

* Diese Beobachtung wurde auch in früheren Arbeiten des Arbeitskreises Holzgrabe gemacht.⁸²

2.1.8 Synthese der symmetrischen W84-Derivate

Die symmetrischen W84-Derivate wurden auf zwei verschiedenen Wegen hergestellt. Im Fall der Verbindungen **4c-4e** und **4i** (Abb. 44) wurde der am Anfang des Kapitels beschriebene Weg A gewählt, die Synthese der Verbindungen **4n**, **4o** und **4p** (Abb. 44) erfolgte dagegen nach Weg B.

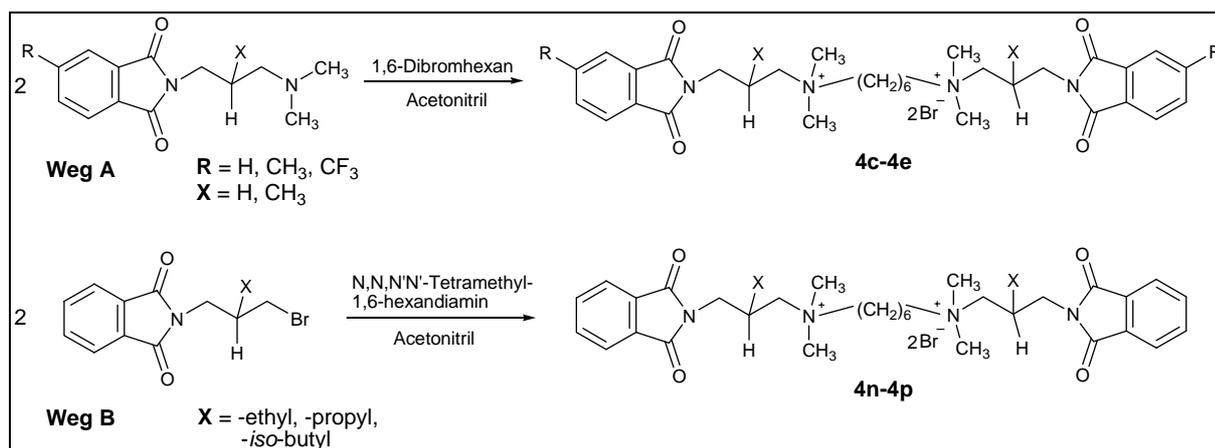


Abb. 43. Herstellung der symmetrischen W84-Derivate auf zwei verschiedenen Wegen

2.1.8.1 Umsetzung von Phthalimidopropylaminen mit 1,6-Dibromhexan

Es wurden zwei Äquivalente der Phthalimidopropylamine **1c-1e** in Acetonitril unter Zusatz einer Spatelspitze einer Mischung aus KI/K₂CO₃ (1:1) unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionszeit betrug zwei bzw. vier Tage und der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Kieselgel, CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2, R_f 0.35 - 0.5). Während die trifluormethylsubstituierte Verbindung **4c** bereits aus der siedenden Lösung ausfiel und direkt abfiltriert werden konnte, musste zur Fällung der Verbindungen **4d** und **4e** die Lösung auf etwa die Hälfte eingengt werden. Der Niederschlag bildete sich nach etwa 24 Stunden bei 4°C. Die erhaltenen Feststoffe wurden jeweils mit Acetonitril und Pentan gewaschen und anschließend im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

Die Herstellung der dimethylierten Naphthylverbindung **4i** erfolgte analog zur Synthese der unsymmetrischen W84-Derivate über Verbindung **2i** als Zwischenstufe (siehe Kap. 2.1.6). Durch diese Vorgehensweise konnte die wegen der beidseitigen Dimethylierung der Propylkette ohnehin schon sehr lange Reaktionszeit auf zwölf Tage verkürzt werden. Verbindung **4i** fiel nach zehn Tagen aus der siedenden Lösung aus und wurde zur Entfernung

der noch vorhandenen Edukte mit heißem Acetonitril gewaschen. Bemerkenswert ist die sehr schlechte Löslichkeit der Substanz in DMSO und Methanol, was an der Abschirmung der positiven Ladung des Stickstoffs durch die Methylgruppen und die beiden Naphthalimidreste liegt.

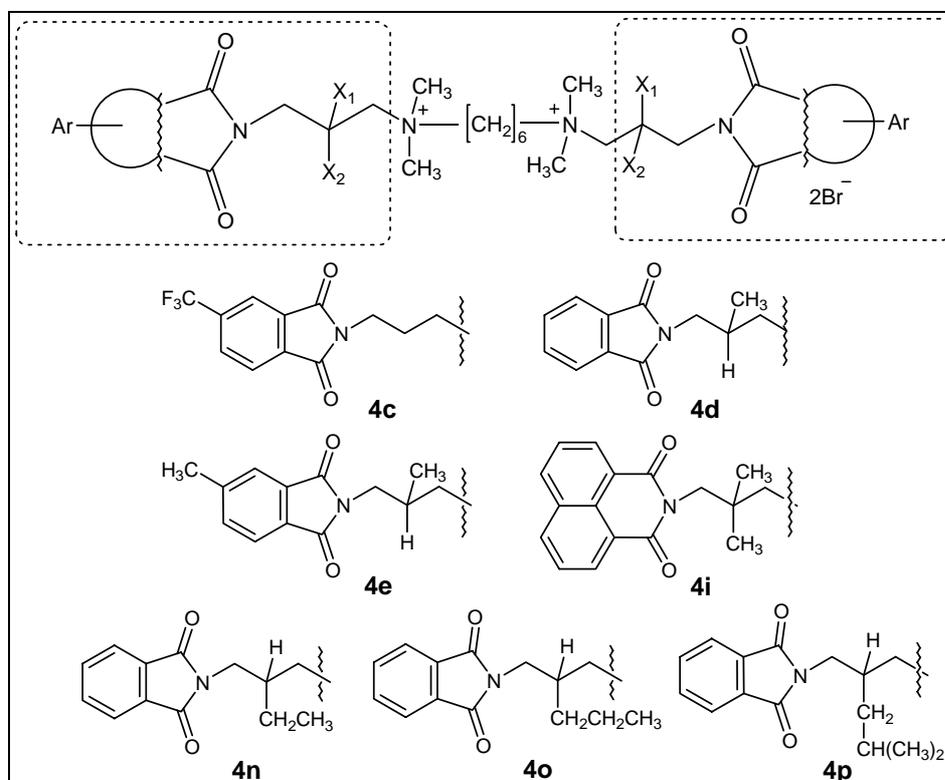


Abb. 44. Strukturformeln der synthetisierten symmetrischen W84-Derivate

2.1.8.2 Umsetzung von Brompropylphthalimiden mit *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamin

2.1 Äquivalente der alkylierten Verbindungen **33**, **35** bzw. **36** wurden mit einem Äquivalent *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamin unter Zusatz einer Spatelspitze einer Mischung aus KI/K₂CO₃ (1:1) in Acetonitril gelöst und drei bis sieben Tage unter Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsverlauf wurde kontinuierlich dünnschichtchromatographisch verfolgt (Kieselgel, CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2, R_f 0.3-0.45). Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung auf etwa die Hälfte eingeeengt und es bildete sich nach zwei bis drei Tagen bei 4°C ein Niederschlag. Dieser wurde abfiltriert, mit wenig Acetonitril und Diethylether gewaschen und im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

2.1.8.3 Diskussion des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums der Verbindung **4n**

Stellvertretend für die symmetrischen W84-Derivate soll das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **4n**, gemessen in DMSO-d_6 , besprochen werden. An diesem soll exemplarisch die NMR-spektroskopische Auswirkung einer einfachen Alkylierung an Position 2 der Propylkette dargestellt werden.

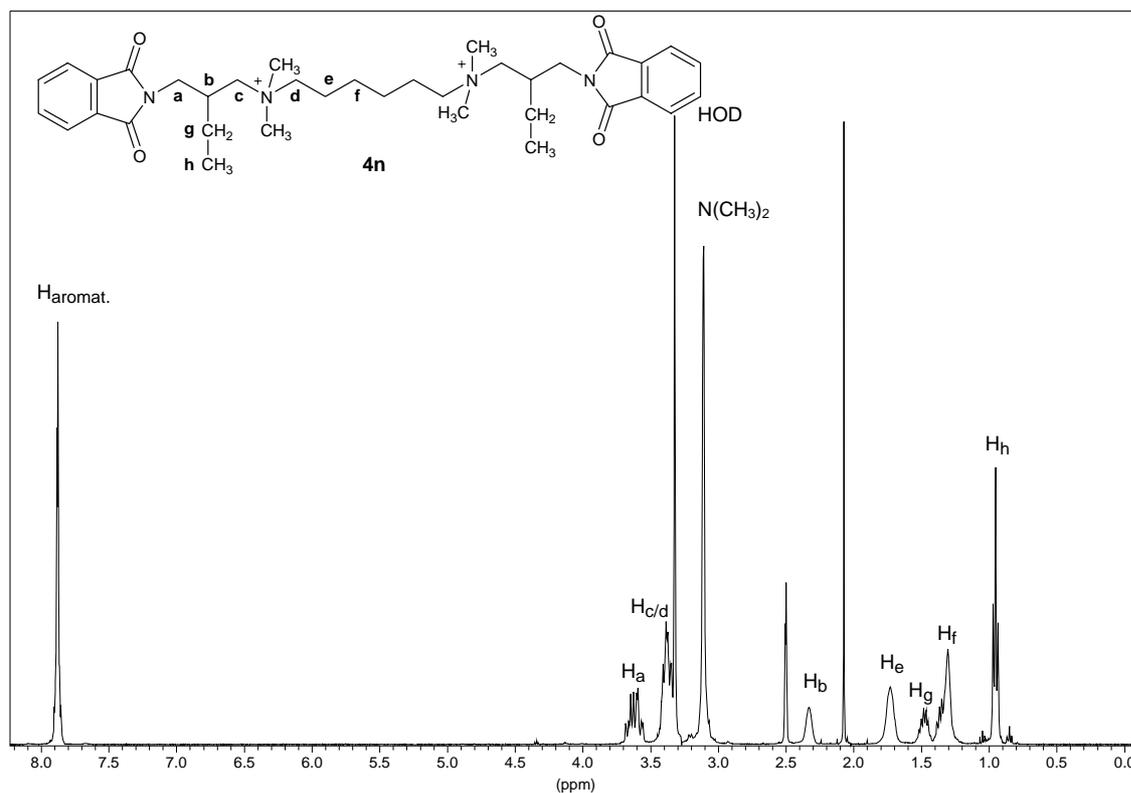


Abb. 45. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **4n**, DMSO-d_6 , 400 MHz

Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der symmetrischen Verbindungen **4** zeichnen sich erwartungsgemäß durch einen halben Signalsatz aus. Der aromatische Bereich zeigt für die Protonen des Phthalimidringes ein schmales Multiplett bei $\delta = 7.87$ ppm. Die Methylgruppen am Stickstoff erscheinen als scharfes Singulett bei 3.09 ppm. Bei den Verbindungen **4o** und **4p**, die in der Propylkette Propyl- bzw. iso-Butylreste tragen, erscheinen für die zwei Methylgruppen zwei Signale, da die Verbindungen in mehreren isomeren Formen vorliegen. Durch das Vorhandensein eines stereogenen Zentrums an der Position 2 der Propylkette sind die beiden Protonen der Methylengruppe H_a magnetisch inäquivalent und werden zum Multiplett aufgespalten. Stereochemisch besteht **4n** aus einem Gemisch aus zwei Enantiomeren und der entsprechenden meso-Verbindung. Die Signale für die Protonen H_a der beiden Diastereomere überlagern sich jedoch und es besteht kein Unterschied in der chemischen Verschiebung, so

dass sich **4n** als NMR-spektroskopisch einheitliche Verbindung darstellt. Die Aufspaltung in zwei Dubletts vom Dublett des entsprechenden Signals des Eduktes **33** (Kap. 8.2.15), das als Racemat vorliegt, ist dementsprechend nicht mehr erkennbar. Die Aufspaltung der Signale der Protonen H_c und H_d , die sich fast vollständig überlappen, ist nur noch andeutungsweise zu erkennen. So ist außerdem nur das Signal der Methylgruppe H_h sauber in ein Triplet aufgespalten, alle anderen Signale erscheinen stark verbreitert. Als Grund dafür kann die aufgrund der Größe des Moleküls eingeschränkte Rotationsfähigkeit der Methylengruppen angenommen werden. Die Tieffeldverschiebung der Signale der Protonen H_d , H_e und H_f nimmt erwartungsgemäß mit zunehmender Distanz vom abschirmenden Feld des Stickstoffatoms ab. Durch den Einfluss des benachbarten Asymmetriezentrums wird das Signal für die chemisch inäquivalenten Protonen H_g in zwei Multipletts aufgespalten, von denen eines unter dem Signal der Methylengruppen H_f liegt. In H,H-COSY-Messungen konnte eine geminale Kopplung zwischen den beiden Signalen für H_g beobachtet werden. Es kann also aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nicht entschieden werden, ob sowohl die Enantiomere als auch die meso-Verbindung entstanden sind, obgleich dies aufgrund der fehlenden chiralen Induktion zu erwarten war. Die exakten NMR-Daten der Verbindungen **4** sind in den Tabellen 47-50 (Kapitel 8.2.21, Experimenteller Teil) angegeben.

2.1.8.4 Versuche zur Synthese weiterer symmetrischer W84-Derivate

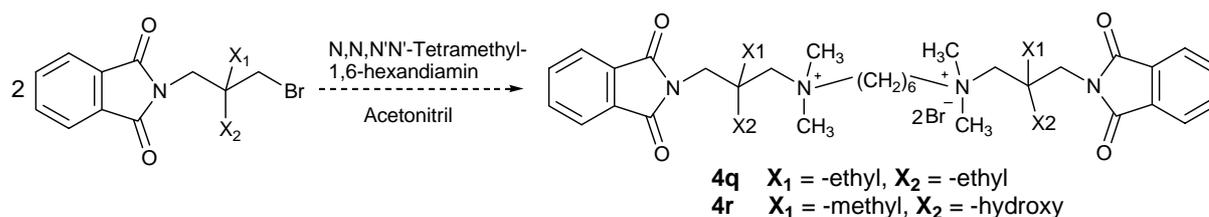


Abb. 46. Syntheseplan zur Herstellung weiterer symmetrischer W84-Derivate

Die Herstellung der Verbindungen **4q** und **4r** sollte zunächst analog zu der in Kap. 2.1.8.2 beschriebenen Reaktion erfolgen.

Bei der Synthese der jeweils zweifach ethylierten Verbindung **4q** war jedoch laut DC nach einer Reaktionszeit von zwei Wochen noch keine Umsetzung zu erkennen. Auch bei der Durchführung der Reaktion unter erhöhtem Druck war dünnschichtchromatographisch nur ein winziger Produktfleck erkennbar. Dies ist sicherlich auf die beiden sterisch anspruchsvollen Ethylgruppen in der Seitenkette zurückzuführen, deren großer Platzbedarf eine Alkylierung

der beiden Stickstoffatome verhindert. Der Versuch, diese Reaktion in der Labormikrowelle durchzuführen (5 Stunden, 150°C), führte ebenfalls nicht zum Erfolg.

Aus diesen Beobachtungen lässt sich schließen, dass die Größe der Alkylgruppen, die auf dem beschriebenen Weg in das Molekül eingeführt werden können, begrenzt ist. Eine zweifache Alkylierung an Position 2 der Propylkette war nur im Falle der zweifachen Methylierung erfolgreich, Verbindungen mit räumlich anspruchsvolleren Alkylgruppen reagieren nicht mehr zum gewünschten Produkt.

Die Synthese von Verbindung **4r**, die in der Propylkette jeweils durch eine Methyl- und durch eine Hydroxygruppe substituiert ist, verlief ebenfalls nicht erfolgreich. Die Reaktion wurde nach zwölf Tagen abgebrochen, da das Edukt dünnschichtchromatographisch kaum noch sichtbar war. Es waren jedoch zwei unmittelbar aneinander liegende Produktflecken entstanden (R_f 0.38), die nicht getrennt werden konnten. Da die Kristallisation bei niedrigen Temperaturen und auch durch die Zugabe von Diethylether nicht gelang, wurde das ausgefallene Öl in Ethylacetat erhitzt, worauf es als schaumiger Feststoff aus der Lösung ausfiel. Die Analyse des NMR-Spektrums dieses Feststoffs ergab, dass mit hoher Wahrscheinlichkeit das gewünschte Produkt entstanden war. Jedoch war auch eine große Anzahl an Peaks vorhanden, die nicht der Verbindung **4r** zugeordnet werden konnten. Das Nebenprodukt konnte weder identifiziert noch durch Umkristallisation entfernt werden. Um die Bildung des Nebenprodukts zu verhindern, wurde die Reaktion daraufhin bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt. Wenn es zu einer Umsetzung kam, entstand jedoch laut DC-Kontrolle immer ein verunreinigtes Produktgemisch aus zwei Substanzen, so dass es nicht möglich war, Verbindung **4r** zu synthetisieren.

2.1.9 Synthese eines verkürzten („halben“) W84-Derivates

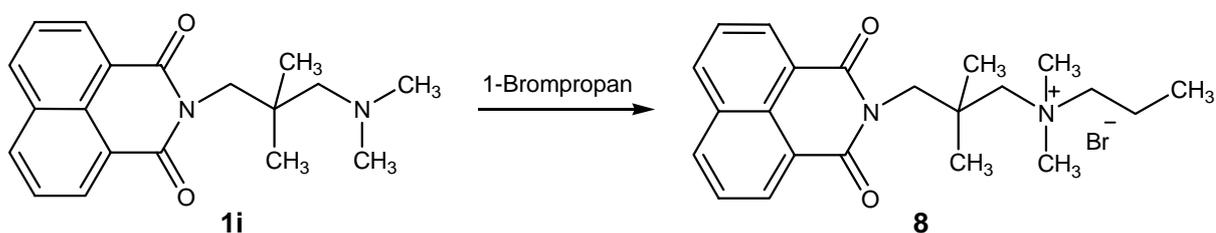


Abb. 47. Syntheseweg zur Herstellung des halben W84-Derivates **8**

Bei der pharmakologischen Testung (Kapitel 4) der hergestellten Substanzen stellte sich heraus, dass Verbindungen mit einer „Naphmethonium“-Teilstruktur, d.h. einem Naphthalimidrest mit einer benachbarten Dimethylierung der Propylkette, sehr potente allosterische Modulatoren sind. Bisher führte der einseitige Abbau von W84-Derivaten immer zu einem drastischen Verlust an allosterischer Potenz. Deshalb sollte ein „halbes“ Naphmethonium-Derivat hergestellt werden, um zu überprüfen, ob diese Beobachtungen auch bei hochaffinen und gleichzeitig positiv kooperativen Verbindungen gemacht werden können.

Verbindung **1i** wurde in einem zwanzigfachen Überschuss 1-Brompropan ohne weiteres Lösungsmittel bei 80°C für acht Tage gerührt. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert, mit Diethylether zur Entfernung von Brompropanresten gewaschen und im Vakuum getrocknet. Der weiße Feststoff **8** wurde in einer Ausbeute von 71% erhalten.

2.1.10 Synthese eines tertiären W84-Derivates (tertiäres WB64)

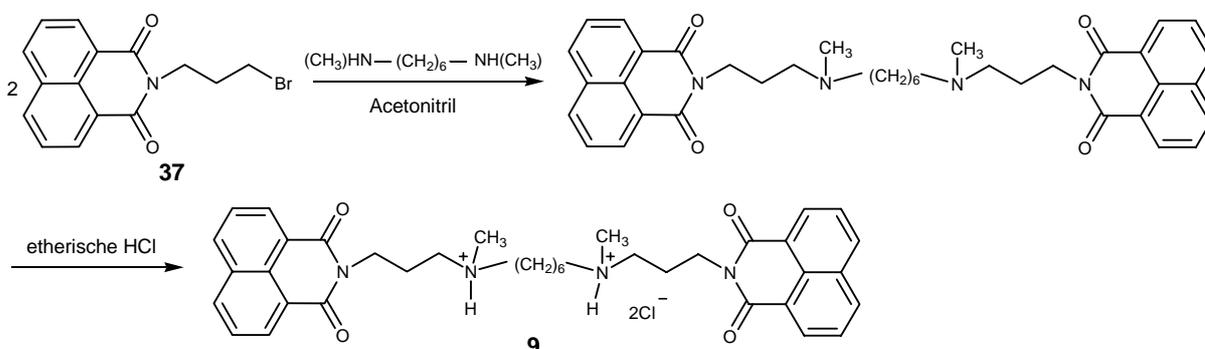


Abb. 48. Syntheseweg zur Herstellung des tertiären W84-Derivates **9**

Die bisquartäre Verbindung WB64 wies bisher die höchste allosterische Potenz aller bekannten W84-Derivate auf. Deshalb sollte von dieser Verbindung das bistertiäre Analogon **9**, für das eine höhere Wahrscheinlichkeit zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke besteht, hergestellt werden. Aufgrund der besseren Löslichkeit im wässrigen Puffermedium sollte die freie Base dann als Hydrochlorid gefällt werden.

1 Äquivalent N-(3-Brompropyl)-1,8-naphthalimid **37** und 2 Äquivalente N,N'-Dimethyl-1,6-hexandiamin wurden in Acetonitril unter leichter Wärmezufuhr gelöst. Der Ansatz wurde zwei Tage unter Zusatz von K₂CO₃ und einer Spatelspitze KI bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa einem Tag bildete sich ein voluminöser Niederschlag, der nach zwei Tagen abfiltriert wurde. Zur Reinigung wurde das Rohprodukt in Chloroform aufgenommen und zur Entfernung der Salze mit NaHCO₃-Lösung gewaschen. Es war auf dem Dünnschichtchromatogramm nur noch der Produktfleck sichtbar (Kieselgel, CHCl₃/Methanol/NH₃ 10:1:0.3). Nach der Entfernung des Lösungsmittels wurde die freie Base der Verbindung **9** als gelbes Öl (86%) erhalten, das nach einigen Tagen zu einem wachsartigen Feststoff erstarrte. Anschließend wurde versucht, die Base als Perchlorat zu fällen. Dazu wurde die Verbindung in wenig Chloroform gelöst und es wurde im Überschuss 70%ige Perchlorsäure zugetropft. Diese Mischung wurde kurz erhitzt. Aus der kalten Lösung fiel bei -20°C eine geringe Menge feiner Nadeln aus, die sich jedoch bei Raumtemperatur wieder lösten. Dies war vermutlich auf den Wassergehalt der Perchlorsäure zurückzuführen. Deshalb wurde versucht, die Fällung mit etherischer Salzsäure durchzuführen. Die Base wurde in einer CHCl₃-Ethanol-Mischung in der Wärme gelöst und es wurde ein etwa zweifacher Überschuss etherische HCl zugetropft. Es bildete sich bei 4°C ein Niederschlag, der abfiltriert werden konnte. Die Messung des NMR-Spektrums musste aus Löslichkeitsgründen in D₂O statt im normalerweise verwendeten DMSO durchgeführt werden.

Über den geschilderten Reaktionsweg ist es möglich, symmetrische tertiäre W84-Derivate herzustellen. Aufgrund der im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen pharmakologischen Daten bietet es sich an, auch von Verbindung **4i**, die in den lateralen Propylketten auf beiden Seiten zusätzlich Dimethylgruppen trägt, die analoge tertiäre Verbindung herzustellen. Im Gegensatz zu WB64 ($p\alpha = -0.28$) erhöht die positiv kooperative Verbindung **4i** ($p\alpha = 0.53$) die Gleichgewichtsbindung von NMS und weist gleichzeitig eine etwas höhere allosterische Potenz auf (Kapitel 4.3, Pharmakologische Testung).

2.2 Synthese von Agonist/Alloster-Hybridmolekülen

Durch W84-Derivate wird bisher nur das Bindungsverhalten von Antagonisten am M₂-Rezeptor beeinflusst. Wegen der räumlichen Nähe der allosteren und der orthosteren Bindungsstelle sollte der Versuch unternommen werden, einen muscarinischen Agonisten und einen allosteren Modulator in einem Hybridmolekül zu vereinen. Für Agonisten des Muscarinrezeptors konnte bisher nur eine Prävalenz, aber keine Selektivität für die verschiedenen Subtypen erzielt werden. So besteht durch die Verknüpfung mit einem subtypselektiven allosteren Modulator die Möglichkeit, den Agonisten gezielt zu einem bestimmten Subtyp zu dirigieren und somit indirekt Subtypselektivität entsprechend einem Rezeptor-Targeting zu erzeugen. Die beiden Molekülteile sollten durch aliphatische Spacer verschiedener Kettenlänge verbunden werden. In der pharmakologischen Testung soll anschließend aufgeklärt werden, ob es auf diese Weise möglich ist, gleichzeitig die allosterische und die orthostere Bindungsstelle zu besetzen. Ein ähnliches Konzept wird im Arbeitskreis Holzgrabe bereits mit der Entwicklung von Hybriden aus dem subtyp-prävalenten M₂-Antagonisten AFDX-384 und dem allosteren Modulator W84 verfolgt.⁹²

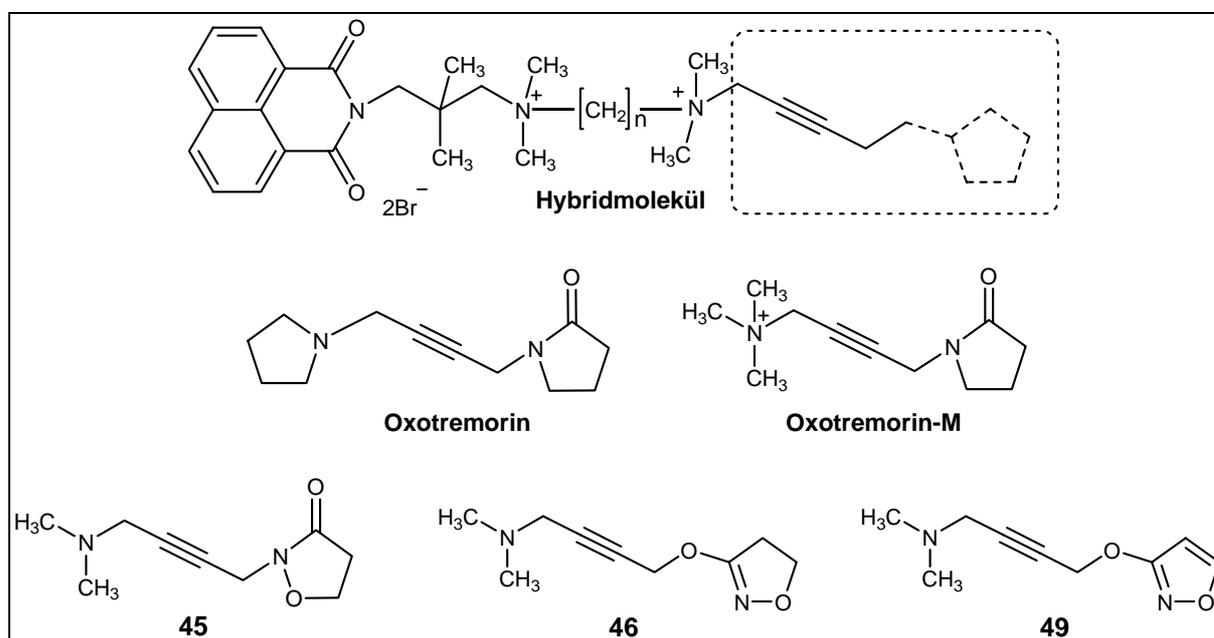


Abb. 49. Allgemeine Struktur eines Agonist/Alloster-Hybridmoleküls und Strukturformeln der Muscarinagonisten Oxotremorin und Oxotremorin-M sowie der synthetisierten Oxotremorin-M-Analoga **45**, **46** und **49**

Die Synthese der Agonist/Alloster-Hybridmoleküle wurde an der Universität Mailand im Arbeitskreis von Prof. Dr. Marco De Amici durchgeführt. In dessen Arbeitsgruppe werden Derivate des Muscarinagonisten Oxotremorin entwickelt. Vor allem am Lactamringsystem

wurden bisher Strukturvariationen durchgeführt. So wurde es beispielsweise durch Isoxazol-, Isoxazolin- und Isoxazolidinonreste ersetzt, die auf verschiedene Weisen über eine Butinkette mit einem tertiären oder quartären Stickstoffatom verbunden sind. Es wurden nicht nur hoch affine Agonisten, sondern auch Oxotremorin-Analoga, die einen analgetischen Effekt besitzen, aufgefunden.⁹³⁻⁹⁶ Ein Vertreter der analgetisch wirksamen Oxotremorinderivate ist Verbindung **45**. Die Verbindungen weisen allerdings wie alle anderen bisher bekannten Muscarinagonisten keine Subtypselektivität auf, die jedoch durch die Verknüpfung mit dem allosteren Modulator erreicht werden könnte. Die *in-vitro*-Potenzen an M₁-, M₂-, und M₃-Rezeptoren (pD₂-Werte) der zur Synthese der Hybridmoleküle eingesetzten Agonisten **45**, **46** und **49** und von Oxotremorin-M sind in Tabelle 2 aufgeführt.⁹⁴ Verbindung **46** übertrifft an M₁-Rezeptoren die muscarinische Potenz von Oxotremorin-M, während Verbindung **49** die geringste Potenz aufweist. Eine gewisse Subtypprävalenz ist für die Verbindungen **45** und **46** an M₃-Rezeptoren feststellbar.

Verb	pD ₂	pD ₂	pD ₂
	Vas deferens, Hase (M ₁ -Rezeptor)	Meerschweinchen, linker Vorhof (M ₂ -Rezeptor)	Meerschweinchen, Ileum (M ₃ -Rezeptor)
Oxo-M	7.85	7.94	8.40
45	6.82	6.62	8.01
46	8.16	7.94	8.23
49	6.47	6.66	6.37

Tabelle 2. *In-vitro*-Potenzen (pD₂-Werte) von Oxotremorin-M (Oxo-M) und den Verbindungen **45**, **46** und **49** an den Muscarinrezeptor-Subtypen M₁-M₃

Der alloster wirksame Teil des Hybridmoleküls sollte aus den Verbindungen **2i-C4**, **2i-C6** und **2i-C8** bestehen, die sich in der Länge der aliphatischen Kette unterscheiden. Die Länge dieser Kette könnte entscheidend dafür sein, ob es möglich sein wird, allosterere und orthostere Bindungsareale gleichzeitig zu besetzen. Zusätzlich sollte eine Verbindung ohne den aliphatischen Spacer hergestellt werden.

Durch die Verknüpfung eines allosteren Modulators mit einem Agonisten könnte das Molekül in der Lage sein, sich selbst am Rezeptor „festzuhalten“. Dieses Konzept stellt in Kombination mit der möglichen Subtypselektivität einen interessanten Ansatz für die Behandlung von Schmerzen oder Morbus Alzheimer dar.

2.2.1 Synthese der Oxotremorinanaloge*

2.2.1.1 Synthese von 2-(4-Dimethylamino)but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on⁹⁴

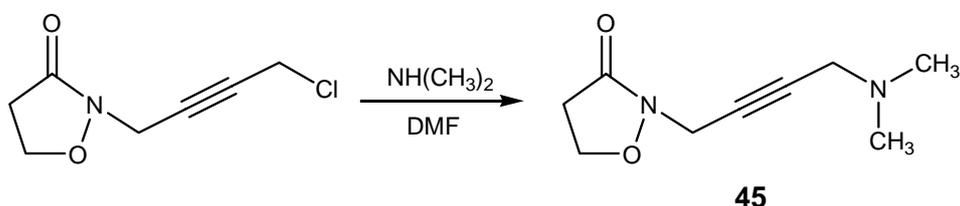


Abb. 50. Syntheseweg zur Herstellung von 2-(4-Dimethylamino)but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on **45**

Zu einer Lösung von 2-(4-Chlor-but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on in DMF wurde ein kleiner Überschuss bei -20°C verflüssigtes Dimethylamin, zugetropft. Die Mischung wurde zwei Stunden dicht verschlossen bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionskontrolle erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1, R_f 0.40).[#] Nach beendeter Reaktion wurde der Ansatz mit wenig Wasser versetzt, mit Salzsäure angesäuert und mit Diethylether extrahiert. Dann wurde mit festem K_2CO_3 alkalisiert und mehrmals mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde getrocknet und das Lösungsmittelgemisch im Vakuum entfernt. Die Reinigung des braunen Rohprodukts erfolgte mittels Säulenchromatographie, so dass 2-(4-Dimethylamino)but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on **45** als gelbes Öl in einer Ausbeute von 63% erhalten wurde.

2.2.1.2 Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol⁹⁴

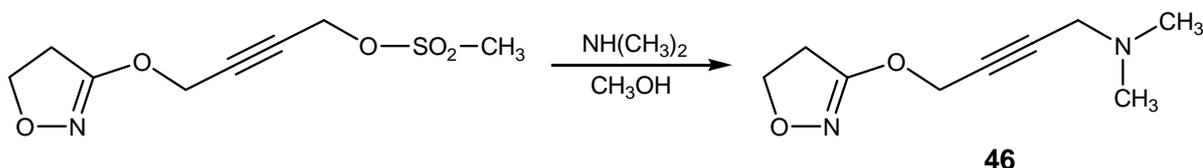


Abb. 51. Syntheseweg zur Herstellung von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol

* Die Edukte zur Synthese der Oxotremorin-Analoga wurden freundlicherweise von Prof. Marco De Amici und seiner Mitarbeiterin Teresa Disingrini zur Verfügung gestellt.

[#] Zur DC-Kontrolle der Synthese der Verbindungen **45-49** wurden die Kieselgelplatten zur Detektion mit einer basischen KMnO_4 -Lösung besprüht und kurz erhitzt, da die Substanzen keine Fluoreszenzlöschung unter UV-Licht bei 254 nm aufweisen.

3-(4-Hydroxy-2-butynyl)oxy-4,5-dihydro-isoxazolmesylat wurde in Methanol gelöst und mit einem Überschuss Dimethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur dicht verschlossen gerührt. Nachdem die Reaktion laut Dünnschichtchromatographie (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1, R_f 0.50) beendet war, wurde das Lösungsmittel entfernt. Der ölige Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, mit Salzsäure angesäuert und mit Diethylether extrahiert. Anschließend wurde mit K_2CO_3 alkalisiert und mehrmals mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde nach der Trocknung entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt. 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol **46** fiel als gelbes Öl in einer Ausbeute von 65% an.

2.2.1.3 Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxyisoxazol

Hydroxylaminhydrochlorid wurde in Ethanol gelöst und mit wässriger NaOH versetzt. Unter Rühren wurde eine Lösung von Methylpropiolat in Ethanol zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde über Nacht gerührt. Das Ethanol wurde abdestilliert und die verbleibende wässrige Lösung mit Salzsäure auf pH 2 eingestellt. Die wässrige Phase wurde aufgrund der schlechten Löslichkeit von 3-Hydroxyisoxazol **47** 15 Stunden an einer Soxhlet-Apparatur mit Diethylether kontinuierlich extrahiert. Nach der Trocknung und der Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 1:1, R_f 0.53), so dass Verbindung **47** als weißer Feststoff in einer Ausbeute von 41% anfiel.

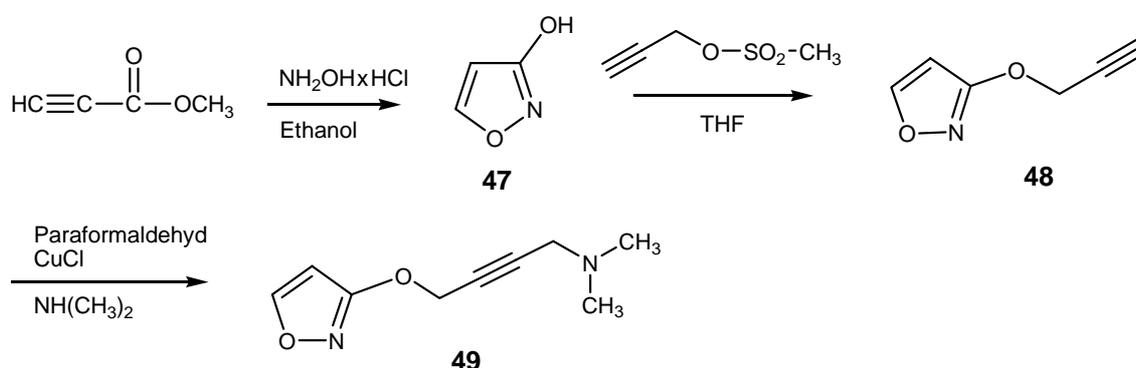


Abb. 52. Syntheseweg zur Herstellung von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxyisoxazol **49**

Im zweiten Schritt wurde entsprechend einer Vorschrift von Nilsson⁹⁷ zunächst eine Mischung aus 1.3 Äquivalenten KOH und 0.2 Äquivalenten Tetrabutylammoniumiodid für

30 Minuten in absolutem THF gerührt. Dann wurde bei 0°C eine Mischung aus 1.1 Äquivalenten Propargylmesylat und 1 Äquivalent 3-Hydroxyisoxazol in THF zugetropft. Falls sich der Reaktionsansatz verfestigte, wurden nochmals 10 ml THF zugegeben. Es wurde sechs Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich der Reaktionsansatz orange verfärbte. Als keine weitere Umsetzung mehr zu beobachten war (DC-Kontrolle, Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 7:3, R_f 0.65) wurde der Feststoff abfiltriert und mehrmals zur Extraktion des Zwischenprodukts **48** mit Diethylether gewaschen. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt. Verbindung **48** wurde als gelbes Öl in einer geringen Ausbeute von 25% (Literatur 93%) erhalten.

Schließlich wurde Verbindung **49** durch eine Aminomethylierung (Mannich-Reaktion) aufgebaut.⁹⁷ 1.5 Äquivalente Paraformaldehyd, 0.6 Äquivalente Eisessig und eine katalytische Menge CuCl wurden in Dioxan gelöst bzw. suspendiert. Zu dieser Mischung wurden Verbindung **48** sowie ein Überschuss Dimethylamin gegeben. Der Reaktionsansatz wurde drei Tage dicht verschlossen auf 50°C erhitzt. Während der Reaktion verändert sich die Farbe des Ansatzes von blau nach grün. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Kieselgel, CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1, R_f 0.45). Nachdem die Reaktion beendet war wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Erst wurde die angesäuerte Lösung mit Diethylether und dann die mit festem K₂CO₃ alkalisierte Lösung mit Dichlormethan extrahiert. Nach der Trocknung und der Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie gereinigt. 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxyisoxazol **49** wurde als gelb-braunes Öl erhalten. Die Ausbeute des letzten Reaktionsschritts betrug lediglich 23% (Literatur 96%).

2.2.2 Synthese der Hybridmoleküle

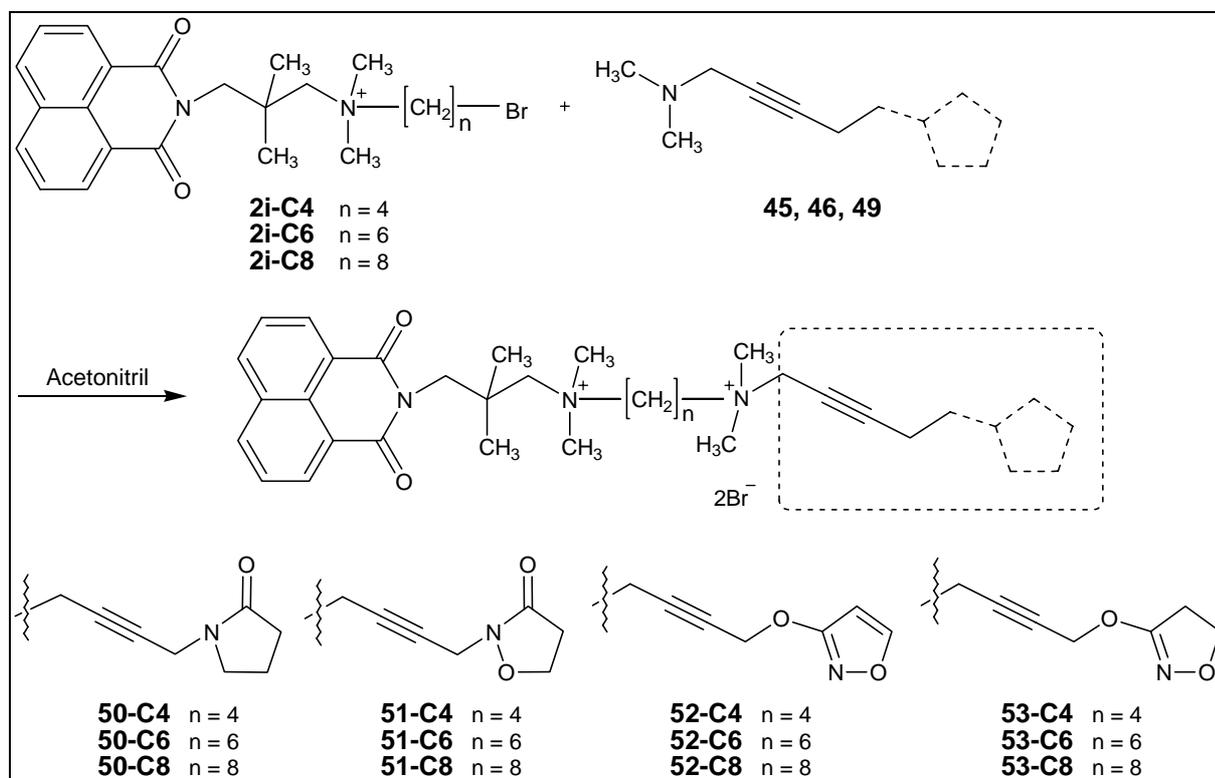


Abb. 53. allgemeiner Syntheseweg zur Herstellung der Hybridmoleküle und Strukturformeln der eingesetzten Oxotremorinanaloge

Äquimolare Mengen der Verbindungen **2i-C6**, **2i-C4** bzw. **2i-C8** und des entsprechenden Oxotremorin-Analogons wurden in Acetonitril gelöst. Unter Zusatz einer Spatelspitze einer Mischung aus KI/K₂CO₃ 1:1 wurde der Reaktionsansatz zwei bis drei Tage zum Sieden erhitzt. Die Reaktionskontrolle erfolgte dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2). Der R_F-Wert der Verbindungen lag bei 0.4 - 0.5. Problematisch war in vielen Fällen die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte, die nach verschiedenen Methoden erfolgte. In den meisten Fällen war noch nicht umgesetztes Edukt im Dünnschichtchromatogramm erkennbar, was aber auch bei längeren Reaktionszeiten nicht reagierte. Die Trennung der einfach und zweifach positiv geladenen Verbindungen war nur durch Umkristallisation möglich, wobei die Verbindungen **50** und **51** zunächst ölig anfielen. Es wurden zahlreiche Versuche zur Auffindung eines geeigneten Lösungsmittels unternommen. So wurden u.a. verschiedene Mischungen aus Acetonitril, Diethylether, Dichlormethan, Ethanol, Ethylacetat und Isopropanol getestet. In den meisten Lösungsmitteln gingen die Produkte jedoch bereits in der Kälte in Lösung oder waren im Fall von Ethylacetat völlig unlöslich. Als am besten geeignet erwies sich Isopropanol. Es bildete sich bei 4°C ein

Niederschlag von halbfester Konsistenz. In DC-Versuchen war erkennbar, dass sich die Edukte in der überstehenden Lösung angereichert hatten. Der Überstand wurde abpipettiert und falls noch immer Eduktspuren im Niederschlag vorhanden waren, wurde die Umkristallisation wiederholt. Leider war es auf diesem Weg nicht möglich, die Verbindungen **50** und **51** zu kristallisieren. Auch die Zugabe apolarer Lösungsmittel wie Diethylether führte stets zur Abscheidung einer zähen Masse. Deshalb wurden die Substanzen als sauberes Öl in Dichlormethan gelöst. Das Lösungsmittel wurde dann im Vakuum entfernt und die Substanzen im Feinvakuum getrocknet, so dass sie als schaumartige, sehr hygroskopische Feststoffe anfielen.

Da die Reaktionslösungen und die erhaltenen öligen Rohprodukte der Verbindungen **50-C4** und **51-C8** sich sehr dunkel verfärbt hatten, wurden diese zusätzlich mit Aktivkohle entfärbt. Die Lösung wurde anschließend über Cellite filtriert und erneut aus Isopropanol umkristallisiert. Die Gewinnung der Substanzen als leicht gelbe Feststoffe erfolgte dann auf die oben beschriebene Weise.

Verbindung **53-C8** war extrem hygroskopisch und verflüssigte sich sofort beim Kontakt mit Luft und konnte deshalb nicht weiter aufgearbeitet werden. Zur Aufarbeitung der Verbindungen **53** und **54** wurde die Reaktionslösung auf die Hälfte eingeeengt. Es bildete sich über Nacht bei 4°C ein Niederschlag, der abfiltriert und nochmals aus Acetonitril umkristallisiert wurde. Die erhaltenen hellbraunen Feststoffe wurden mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

2.2.2.1 Diskussion des ¹H-NMR-Spektrums der Verbindung **52-C6**

An dieser Stelle soll stellvertretend für alle hergestellten Hybridmoleküle das ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung **52-C6** besprochen werden. Die Protonen des Naphthalimidringes sind als Multiplett bzw. Triplet bei $\delta = 7.90$ ppm/8.50 ppm erkennbar. Ebenso erfahren die beiden Dubletts (J 1.9) der Protonen des Isoxazolringes eine starke Tieffeldverschiebung bis $\delta = 8.75$ ppm bzw. 6.44 ppm. Die Zuordnung dieser beiden Signale erfolgte durch Vergleiche mit in früheren Arbeiten des AK De Amici hergestellten Oxotremorin-Analoga,⁹⁴ die ebenfalls einen Isoxazolring tragen. Die Signale von H_a, H_b, H_g und H_h erscheinen als scharfe Singulets, wobei die chemischen Verschiebungen von H_a und H_b exakt den Werten der unsymmetrischen W84-Derivate **3** entsprechen und in allen Hybridmolekülen konstant sind. Die Signale der Protonen H_g und H_h konnten durch Vergleiche der ¹H-NMR-Spektren verschiedener synthetisierter Hybridmoleküle zugeordnet werden. Die chemische

Verschiebung des Signals der dem positiv geladenen Stickstoffatom benachbarten Methylengruppe H_g ist in allen hergestellten Hybridmolekülen konstant ($\delta = 4.54$ ppm). In den Fällen, in denen der Heterozyklus über eine Etherbrücke mit der Methylengruppe H_h verbunden ist (**52** und **53**), ändert sich deren Verschiebung. In diesem Fall beträgt sie $\delta = 5.10$ ppm. Eine fast identische chemische Verschiebung von etwa 3.4 ppm besitzen die dem Stickstoffatom benachbarten Protonen H_c und H_f . Sie werden teilweise durch das Wassersignal überlagert. Die Signale der Methylengruppen $H_d/H_{d'}$ und $H_e/H_{e'}$ fallen trotz des unsymmetrischen Molekülaufbaus zusammen und sind nicht unterscheidbar. Im Fall von $H_d/H_{d'}$ erscheinen sie stark verbreitert. Der Einfluss der unterschiedlichen lateralen Reste scheint somit für eine Differenzierung der Signale nicht mehr ausreichend zu sein. Der entschirmende Effekt der positiv geladenen Stickstoffatome bewirkt eine Tieffeldverschiebung der Signale der Hexamethylenkette, die mit zunehmender Distanz zum Stickstoff kleiner wird. Die exakten NMR-Daten aller synthetisierten Hybridmoleküle sind in den Tabellen 53-56 (Kap. 8.2.25, Experimenteller Teil) aufgeführt.

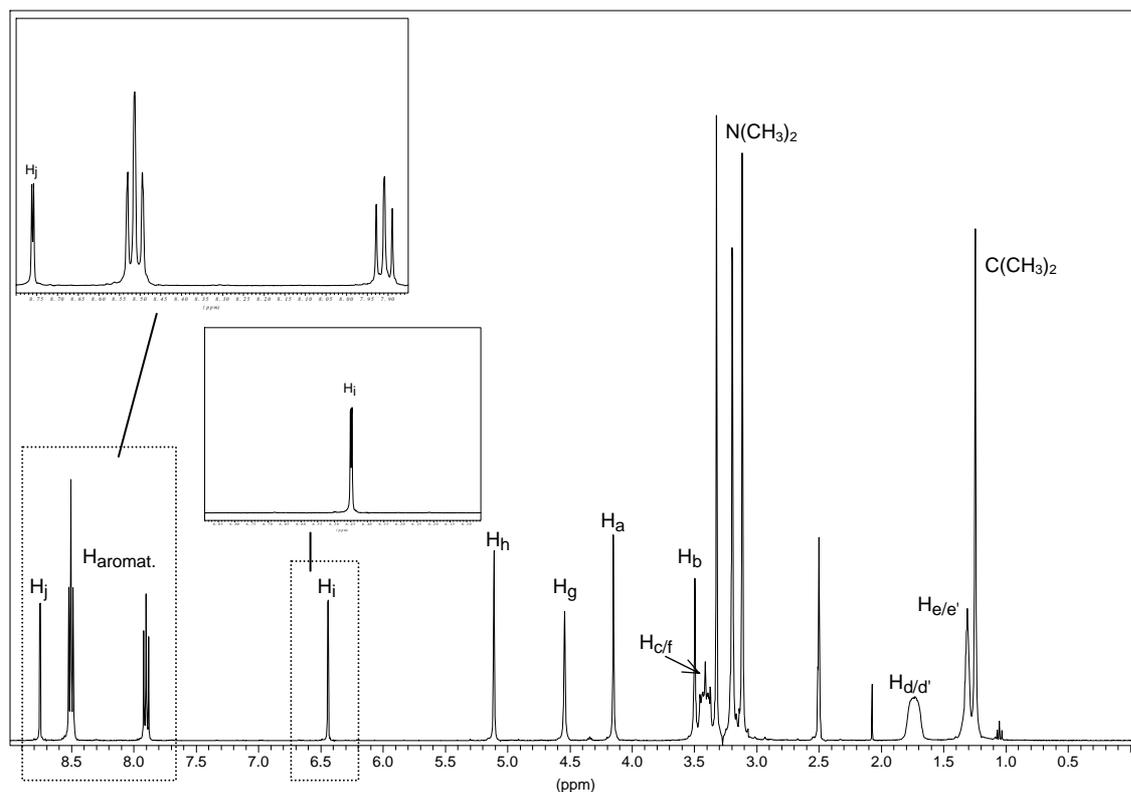
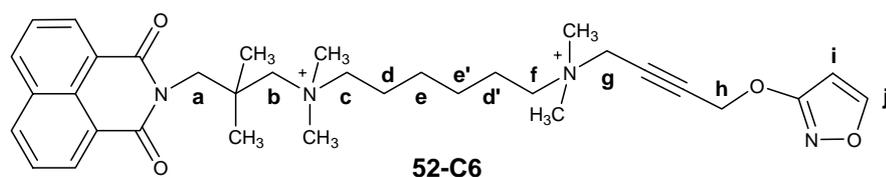


Abb. 54. 1H -NMR Spektrum des Hybridmoleküls **52-C6**

2.2.2.2 Synthese des monoquartären Hybridmoleküls **54**

Verbindung **54** verfügt über keinen aliphatischen Spacer zwischen den beiden Molekülteilen, sondern wurde durch Umsetzung von N-[3-(N',N'-Dimethylamino)propyl]-1,8-naphthalimid **1i** mit 3-[4-Chlorbut-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol erhalten. Da beide Edukte in Ethylacetat löslich sind, konnte das Produkt einfach durch Rühren in Ethylacetat gereinigt werden. Der hellbraune Feststoff wurde dann abfiltriert und getrocknet.

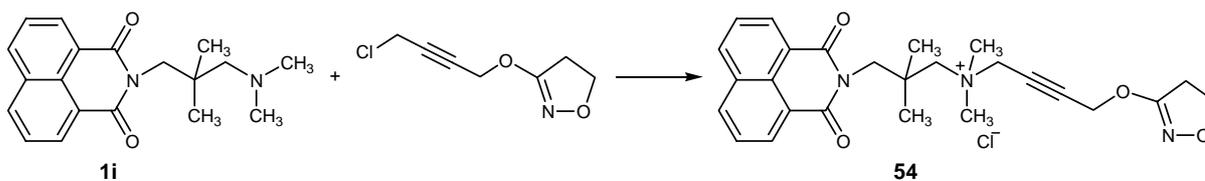


Abb. 55. Syntheseweg zur Herstellung des Hybridmoleküls **54**

3 Physikochemische Eigenschaften

3.1 Stabilitätsmessungen mittels UV-Spektroskopie

Stabilitätsuntersuchungen der Leitstruktur W84 und anderer N-substituierter Phthalimide zeigten, dass der Phthalimidring in gepuffertem Medium in unterschiedlichem Ausmaß einer Hydrolyse zum Phthalsäureamid und weiter zur Phthalsäure unterliegt.⁸⁹⁻⁹¹ Die in Abbildung 56 dargestellte Hydrolysereaktion verläuft über mehrere Stufen. Da die Reaktion zusätzlich auf beiden Seiten des Moleküls abläuft, entsteht während der Hydrolyse ein komplexes Produktgemisch.

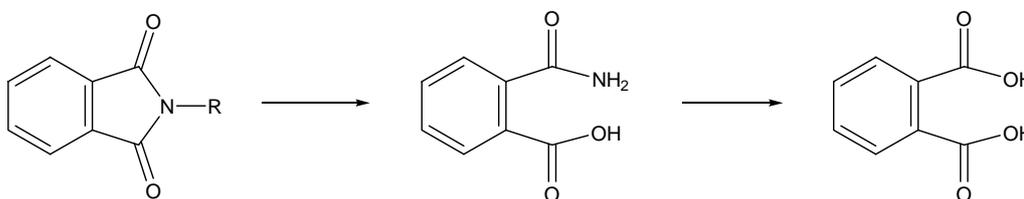


Abb. 56. Hydrolyse eines N-substituierten Phthalimids zur Phthalsäure

Aufgrund der Tatsache, dass die pharmakologische Testung der synthetisierten Verbindungen in Magnesium/Tris-Puffer (pH 7.3) erfolgt, ist es von großem Interesse, ob die Substanzen unter den Testbedingungen eine hinreichende Stabilität besitzen. Da die Hydrolyse des Phthalimidringes mit einer Abnahme der Absorption bei einer Wellenlänge von 300 nm einhergeht,^{90,91} sollte die Stabilität der Substanzen über einen definierten Zeitraum mit Hilfe der UV-Spektroskopie untersucht werden. Aufgrund des relativ kleinen Absorptionskoeffizienten bei der genannten Wellenlänge wurden die Messungen jedoch im jeweiligen Maximum durchgeführt. In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die über die Messungen im Maximum bestimmten Halbwertszeiten in der gleichen Größenordnung liegen, so dass diese Vorgehensweise gerechtfertigt scheint.⁸²

Es wurden Lösungen der Substanzen in Magnesium/Tris-Puffer in einer Konzentration von 20 µg/ml hergestellt und UV-spektroskopisch vermessen, so dass zunächst die jeweiligen Absorptionsmaxima ermittelt werden konnten. Daraufhin wurde über einen Zeitraum von 24 Stunden jeweils nach 60 Minuten der Absorptionswert im Maximum aufgenommen. Einige Substanzen zeigten eine exponentielle Abnahme der Absorption, was auf eine Zersetzung der Verbindungen hindeutet. Nach endlicher Zeit nahm die Absorption in diesen Fällen einen konstanten Wert an, so dass sich die jeweilige Halbwertszeit $t_{1/2}$ berechnen ließ. Aufgrund der oben beschriebenen Komplexität der Hydrolysereaktion stellen die ermittelten

Halbwertszeiten jedoch nur grobe Näherungen für die Hydrolyseempfindlichkeit der Verbindungen dar. Die Absorptionsmaxima der Substanzen und die Halbwertszeiten sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Verb.	Maxima [nm]	Messwellenlänge [nm]	Halbwertszeit $t_{1/2}$
3a	220, 235, 345	220	6 h
3b	225, 345	225	stabil
3f	220, 235, 345	220	stabil
3g	230, 345	230	stabil
3h	235, 345	235	stabil
3j	245, 275, 348, 422	275	7 h
3k	245, 275, 445	275	7 h
3l	220, 275, 335	220	10.5 h
3m	220, 275, 355	220	10 h
4c	215, 240, 295	215	3 h
4d	220, 300	220	11 h
4i	235, 345	235	stabil
4n	220, 300	220	9.5 h
4o	220, 300	220	10.5 h
4p	220, 300	220	10.5 h
5c	220, 240, 300	220	5 h
5d	220, 300	220	12 h
5e	225, 300	225	11 h
6	225, 345	225	stabil
7	225, 305	225	stabil
8	235, 345	235	stabil
9	235, 345	235	stabil

Tabelle 3. UV-spektroskopische Daten zur Messung der Hydrolyseempfindlichkeit der synthetisierten W84-Derivate

Es ist zu beobachten, dass besonders die Dimethylierung der lateralen Propylketten eine wichtige Rolle in Bezug auf die Hydrolysestabilität der Substanzen spielt. So sind die Verbindungen **3f**, **3g**, **4i** und **7**, bei denen die Propylketten beidseitig durch Dimethylgruppen substituiert sind, über den gesamten Messzeitraum von 24 Stunden stabil. Die Methylgruppen erschweren wohl durch ihren elektronenliefernden Effekt sowie durch die sterische Hinderung einen nucleophilen Angriff an der Carbonylgruppe durch Wassermoleküle oder die Aminkomponente des Puffermediums. Erwartungsgemäß wird durch eine einfache Alkylierung der Propylseitenkette (**4d**, **4n**, **4o**, **4p**, **5d**, **5e**) der nucleophile Angriff an der

Carbonylgruppe wesentlich weniger erschwert als durch die zweifache Alkylierung, so dass die Halbwertszeiten dieser Verbindungen im Bereich von neun bis zwölf Stunden liegen.

Deutlich erhöht wird die Stabilität der Verbindungen durch den +I-Effekt der Methylgruppe am Phthalimidrest, was besonders am Paar **3a/3b** sowie an Verbindung **6** erkennbar wird. Außerdem ist zu beobachten, dass die Verbindungen **3b**, **3h**, **6** und **9**, die eine Naphthalimidstruktur ohne gleichzeitige beidseitige Dimethylierung der Propylkette besitzen, sich im Vergleich zu den phthalimidsubstituierten Substanzen ebenfalls durch eine sehr hohe Hydrolysestabilität auszeichnen. Die Substitution am Naphthalimidring durch eine Nitro- (**3l**, **3m**) bzw. eine Aminogruppe (**3j**, **3k**) hat im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **3a** dagegen keinen entscheidenden Einfluss auf die Stabilität der Substanzen, da die Hydrolyse vermutlich hauptsächlich auf der Seite des Phthalimides stattfindet.

Die beiden instabilsten Substanzen der Testreihe sind die trifluormethylsubstituierten Verbindungen **4c** und **5c**. Durch den starken -I-Effekt der Trifluormethylgruppe wird die Hydrolyse stark beschleunigt, was besonders ausgeprägt bei der symmetrischen Verbindung **4c** erkennbar ist. Die Halbwertszeiten der Substanzen **4c** und **5c** betragen drei bzw. fünf Stunden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass strukturelle Unterschiede im aromatischen Bereich sowie die Alkylierung in den lateralen Propylketten entscheidenden Einfluss auf die Hydrolysestabilität der untersuchten Verbindungen besitzen. Es ist festzustellen, dass exakt diejenigen Strukturmerkmale, die für eine hohe allosterische Potenz (1,8-Naphthalimidrest) bzw. für die Erzielung positiver Kooperativität (Dimethylierung der Propylkette) verantwortlich sind, auf die Hydrolysestabilität ebenfalls einen positiven Einfluss haben. Es besteht jedoch keine Korrelation zwischen der Halbwertszeit der Hydrolyse und der biologischen Aktivität. Mit anderen Worten, ein kausaler Zusammenhang konnte für diese Beobachtung nicht gefunden werden. Die Hydrolyse wird bei den Substanzen **3b**, **3f-3h**, **4i** und **6-9** sogar nahezu völlig unterbunden. Alle Substanzen weisen eine für die Durchführung der Radioligandbindungsstudien ausreichende Stabilität auf.

3.2 Lipophiliebestimmung

3.2.1 Lipophilie von Arzneistoffen

Biologische Systeme bestehen aus wässrigen Phasen, die durch Lipidmembranen voneinander getrennt sind. Somit ist leicht nachvollziehbar, dass die Resorption, die Verteilung, der Transport und damit auch die biologische Wirkung von Arzneistoffen in hohem Maße durch deren Lipophilie beeinflusst wird. Zu polare Substanzen sind nicht in der Lage, die Lipidbarrieren zu überwinden, während zu lipophile Substanzen in den wässrigen Phasen schlecht löslich sind und somit bevorzugt in den Membranen verbleiben. So ist es nur Arzneistoffen mittlerer Lipophilie möglich, sowohl wässrige Systeme als auch Lipidphasen zu durchwandern und in ausreichender Konzentration an den Wirkort zu gelangen.⁹⁸

Eine Möglichkeit zur Bestimmung der Lipophilie von organischen Verbindungen ist die Ermittlung der Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten. Octanol simuliert in diesem Fall die Lipidphase, ein wässriges Puffersystem die biologische wässrige Phase. Durch UV-spektroskopische Messungen kann nach mehrstündigem Schütteln im beschriebenen Zweiphasensystem der Übergang der Verbindungen von der wässrigen in die organische Phase und somit deren Verteilungskoeffizient beschrieben werden. Der Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ist der $\log P$ -Wert einer Substanz, der zur Charakterisierung der Lipophilie von Arzneistoffen verwendet wird. Substanzen, die an membrangebundenen Proteinen angreifen oder zentral-nervös wirksam sind, sollten eine Lipophilie von $\log P = 1.5 - 2.5$ aufweisen, um die Blut-Hirn-Schranke überwinden zu können.⁹⁹

3.2.2 Bestimmung der $\log P$ -Werte

Das Verfahren zur Ermittlung von $\log P$ -Werten über die Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ist jedoch sehr zeitaufwändig und wird zudem durch die Hydrolyseanfälligkeit vieler Verbindungen limitiert. Deswegen sollte im Rahmen dieser Arbeit zur Simulation von Verteilungsvorgängen und zur indirekten Bestimmung von $\log P$ -Werten die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) angewendet werden. Es konnte in zahlreichen Untersuchungen gezeigt werden, dass zwischen dem Kapazitätsfaktor k' bzw. $\log k'$, der mittels HPLC auf RP18-Phasen ermittelt wurde, und dem $\log P$ -Wert gute Korrelationen bestehen.¹⁰⁰⁻¹⁰²

Zur Bestimmung der k' -Werte der synthetisierten Verbindungen wurden die Substanzen in einer Konzentration von 40 $\mu\text{g/ml}$ in Methanol gelöst. Zur HPLC-Messung wurde eine RP18-Säule als stationäre Phase und eine Mischung aus Methanol/Phosphatpuffer (pH 7.4/DAB 9, Verhältnis 70:30) als mobile Phase verwendet. Zur mobilen Phase wurden 0.02% N,N-Dimethylhexylamin zugesetzt, um ein zu starkes Tailing der Substanzen zu vermeiden. Die Standardsubstanzen und die Testverbindungen wurden jeweils zwei Mal vermessen. Die Abweichung der Retentionszeiten beider Läufe betrug jeweils weniger als 1%. Der Kapazitätsfaktor k' errechnet sich nach folgender Gleichung:

$$k' = (T_r - T_0) / T_0$$

T_r = Retentionszeit der Substanz

T_0 = Totzeit

Zusätzlich zu den Kapazitätsfaktoren der Testsubstanzen wurden die k' -Werte einer Serie einfach gebauter Standardverbindungen ermittelt. Mit Hilfe ihrer aus der Literatur entnommenen $\log P$ -Werte⁷¹ wurde durch lineare Regression eine Kalibriergerade erstellt, die die Korrelation zwischen den gemessenen $\log k'$ -Werten und den bekannten $\log P$ -Werten darstellt (sh. Kap. 8.4, Experimenteller Teil). Über die zugehörige Geradengleichung konnten dann für die Testverbindungen ausgehend von den jeweiligen Retentionszeiten die $\log P$ -Werte berechnet werden. Als Standardsubstanzen wurden 2-Phenylethanol, 2-Phenylethylamin, Benzol, N,N-Dimethylanilin, Chlorbenzol, Toluol, Ethylbenzol, Cumol, Biphenyl und Anthracen eingesetzt. In dieser Reihe steigt die Lipophilie der Substanzen und es wird ein relativ großer Lipophiliebereich von $\log P = 1.36 - 4.45$ abgedeckt. Die ermittelten k' -, $\log k'$ - und $\log P$ -Werte der Testsubstanzen sind in Tabelle 4 dargestellt.

Die ermittelten $\log P$ -Werte der Testreihe liegen alle innerhalb des Kalibrierbereichs und zeigen deutlich den Einfluss verschiedener Strukturmerkmale und Substituenten auf die Lipophilie der Verbindungen. Erwartungsgemäß geht die Erweiterung des aromatischen Ringsystems von der Phthalimid- zur Naphthalimidstruktur mit einer Erhöhung der Lipophilie einher. So weisen bis auf das „halbe“ W84-Derivat **8** alle Verbindungen, die einen Naphthalimidrest tragen (**3a**, **3b**, **3f-3h**, **3j**, **3l**, **3m**, **4i**, **6**) einen $\log P$ -Wert von zum Teil deutlich über 2.0 auf. Über die höchste Lipophilie aller getesteten Substanzen verfügt Verbindung **4i** ($\log P = 3.16$), die beidseitig Naphthalimidreste trägt und zusätzlich in beiden lateralen Propylketten jeweils zweifach methyliert ist. Das 4-aminosubstituierte Naphthylderivat **3j** besitzt eine geringere Lipophilie als die entsprechende Nitroverbindung **3l**. Auch die Substitution des Phthalimidringsystems spielt eine entscheidende Rolle. So erhöht

die Methylgruppe in Position 5 des Phthalimidrestes die Lipophilie der Verbindung **3b** deutlich im Vergleich zu Verbindung **3a**. Ein ähnlicher Effekt lässt sich für das Paar **3f/3g** beobachten. Wie erwartet führt auch die Einführung des Trifluormethylsubstituenten in Position 5 (**4c, 5c**) zu einer weiteren Steigerung der Lipophilie, die im Fall der symmetrischen Verbindung **4c** sogar einige Naphthalimide übertrifft.

Verb.	k'	log k'	logP
3a	1.87	0.27	2.26
3b	2.92	0.47	2.70
3f	2.47	0.39	2.54
3g	3.44	0.54	2.86
3h	3.69	0.57	2.93
3j	1.73	0.24	2.06
3l	2.60	0.42	2.49
3m	2.88	0.46	2.59
4c	2.83	0.45	2.67
4d	0.82	-0.08	1.46
4i	4.68	0.67	3.16
4n	1.44	0.16	2.01
4o	2.93	0.47	2.61
4p	4.56	0.66	3.07
5c	1.55	0.19	2.08
5d	0.96	-0.02	1.61
5e	1.14	0.06	1.78
6	1.82	0.26	2.24
7	1.89	0.28	2.28
8	0.98	-0.01	1.46

Tabelle 4. Experimentell bestimmte k' - und $\log k'$ -Werte und daraus berechnete $\log P$ -Werte der Testverbindungen

Nicht zu vernachlässigen ist auch der Einfluss der Substitution der Propylketten und damit die Abschirmung der positiven Ladung am Stickstoffatom auf die Lipophilie der Testsubstanzen. Eine doppelte Methylierung der Propylkette erhöht beispielsweise den $\log P$ -Wert von **3f** im Vergleich zu **3a** um eine halbe Einheit. Während die einfach methylierten Verbindungen **4d**, **5d** und **5e** $\log P$ -Werte von unter 2.0 aufweisen, bewirkt eine doppelte Methylierung (**7**) eine Erhöhung des $\log P$ -Werts auf 2.28. Die symmetrische Verbindung **4d** und die unsymmetrische Verbindung **5d** weisen überraschenderweise eine vergleichbare Lipophilie auf ($\log P = 1.46$ bzw. 1.61). Gut nachvollziehbar ist die Erhöhung der Lipophilie mit zunehmender Größe des Alkylsubstituenten. So steigt die Lipophilie in der Reihe **4n** (Ethyl-),

4o (Propyl-), **4p** (*iso*-Butylsubstitution) von einem $\log P$ -Wert von 2.01 auf einen Wert von 3.07 an. Dies ist auf die zunehmende Abschirmung der positiven Ladung am Stickstoffatom durch die sterisch anspruchsvollen Alkylgruppen zurückzuführen. Der $\log P$ -Wert der tertiären Verbindung **9** war nicht bestimmbar, da die Substanz unter den gewählten HPLC-Bedingungen nicht eluiert werden konnte.

Die Fähigkeit der Verbindungen zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke stellt bei der Entwicklung zentral wirksamer allosterer Modulatoren ein wichtiges Ziel dar. Deshalb besitzt die Lipophilie der Testsubstanzen in Bezug auf ihr potentiell therapeutisches Potential einen hohen Stellenwert. Alle getesteten Verbindungen zeichnen sich durch eine relativ hohe Lipophilie mit $\log P$ -Werten von 1.46 bis 3.16 aus. Dies überrascht zunächst, da alle Substanzen (mit Ausnahme der einfach geladenen Verbindung **8**) permanent zweifach positiv geladen vorliegen. Jedoch wird die positive Ladung bei vielen Verbindungen durch die benachbarten Alkylsubstituenten sehr effektiv abgeschirmt. Außerdem scheinen die Moleküle in der Lage zu sein, eine räumliche Konformation einzunehmen, bei der die hydrophoben aromatischen Reste ebenfalls in der Lage sind, die Ladung nach außen abzuschirmen. Somit resultiert für die Verbindungen eine relativ hohe Lipophilie.

Wie bereits erwähnt, liegt der optimale $\log P$ -Wert zum Durchtritt durch die Blut-Hirn-Schranke im Bereich von 1.5-2.5. Ein großer Teil der Verbindungen liegt innerhalb dieses Bereichs, so dass für die getesteten allosteren Modulatoren die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke nicht ausgeschlossen scheint. Ein Hindernis könnten dennoch die permanenten positiven Ladungen der Verbindungen darstellen.

3.3 Fluoreszenzmessungen

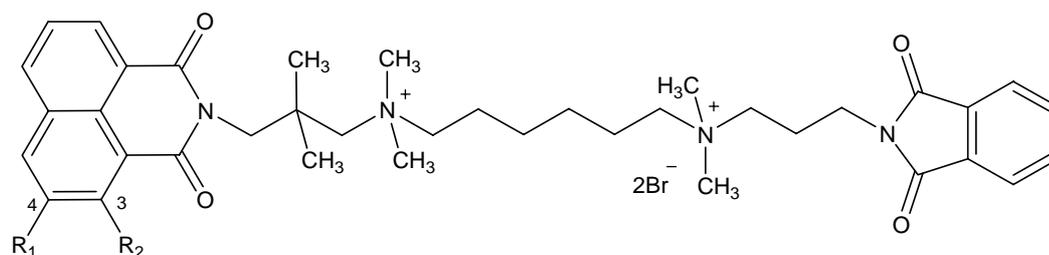
Allostere Effekte sind im Allgemeinen nur indirekt über Dissoziationsexperimente mit Radioliganden messbar. Im Fall der W84-Derivate wird die allosterische Potenz der Verbindungen durch die Messung der Dissoziationshemmung des radioaktiv markierten Antagonisten [^3H]NMS bestimmt (siehe Kapitel 4, Pharmakologische Testung). Eine direkte Messung allosterischer Wechselwirkungen von W84-Derivaten ist momentan nur durch den Einsatz des tritium-markierten allosteren Modulators DMW84 möglich.

Einen interessanten neuen Ansatz zur direkten Messung allosterischer Interaktionen stellt die Entwicklung stark fluoreszierender allosterischer Modulatoren dar, da sich fluoreszenzspektroskopische Analysenverfahren durch hohe Empfindlichkeit und Selektivität auszeichnen. Fluoreszierende Verbindungen könnten in Bindungsexperimenten und zur Verfolgung des „Rezeptortraffickings“ mittels Fluoreszenz-Korrelationsspektroskopie eingesetzt werden.

Es ist bekannt, dass N-substituierte Naphthalimide stark fluoreszierende Eigenschaften besitzen. Middleton et al.⁷⁷ konnten zeigen, dass eine unterschiedliche Alkylsubstitution am Imid-Stickstoff kaum Einfluss auf das Fluoreszenzspektrum der Substanzen besitzt. Dagegen kann die Fluoreszenzintensität der Verbindungen durch geeignete Substitution der Naphthalimide mit elektronenliefernden Gruppen (Amine, Sulfide) stark erhöht werden, während elektronenziehende Substituenten die Intensität der Fluoreszenz deutlich herabsetzen.

Aus diesem Grund sollte am W84-Derivat *Naphmethonium* (**3a**), welches die höchste allosterische Potenz der pharmakologisch getesteten Verbindungen aufweist, der Naphthalimidring in Position 3 bzw. Position 4 mit primären Aminogruppen substituiert werden (**3k** und **3j**). Die Synthese dieser Verbindung, ausgehend von den 3-Nitro- bzw. 4-Nitroderivaten **3m** und **3l**, wurde in Kapitel 2.1.6.2 beschrieben.

Von den Verbindungen **3a** und **3j-3m** wurden jeweils in Magnesium/Tris-Puffer pH 7.3, dem Puffermedium der pharmakologischen Testung, und in Methanol Anregungs- und Emissionsspektren aufgenommen.



Verb.	R ₁	R ₂	Methanol		Mg/Tris-Puffer, pH 7.3	
			Anregung [nm]	Emission [nm]	Anregung [nm]	Emission [nm]
3a	H	H	274	387, 546	345	397, 689
3j	NH ₂	H	345	557, 684	345	398, 756
3k	H	NH ₂	440	535	440	551
3l	NO ₂	H	275	312, 548	275	343, 547
3m	H	NO ₂	275	316, 549	275	548

Tabelle 5. Substitutionsmuster sowie Anregungs- und Emissionswellenlängen der Verbindungen **3a** und **3j-3m**

Alle fünf getesteten Verbindungen weisen fluoreszierende Eigenschaften auf. Exemplarisch für die anderen Verbindungen sind an dieser Stelle die Anregungs- und Emissionsspektren der Verbindungen **3a** und **3j**, gemessen in Methanol, abgebildet. Die übrigen Fluoreszenzspektren sind in Kapitel 8.5 (Experimenteller Teil) abgebildet.

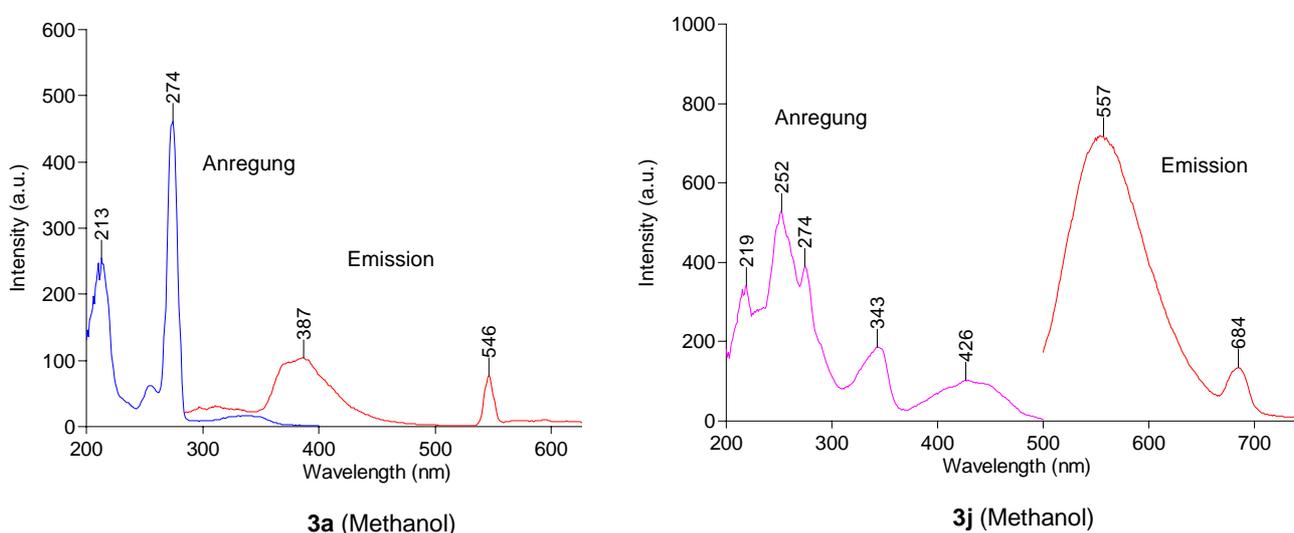


Abb. 57. Anregungs- und Emissionsspektren der Verbindungen **3a** und **3j**, gemessen in Methanol

Es ist deutlich erkennbar, dass durch die Einführung der Aminogruppe in Position 4 des Naphthalimidringes (**3j**) die Emissionsmaxima eine Verschiebung zu höheren Wellenlängen erfahren sowie die Intensität der Fluoreszenz der Verbindung im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **3a** gesteigert wird. **3j** weist Emissionsbanden bei 557 und 684 nm (gemessen in Methanol) auf und besitzt von allen fluoreszenzspektroskopisch

vermessenen Verbindungen die höchste Fluoreszenzintensität. Allgemein lagen bei allen getesteten Verbindungen die Emissionsbanden bei der Messung in Methanol bei etwas höheren Wellenlängen als bei der Messung in Mg/Tris-Puffer. Überraschenderweise scheint die Aminogruppe in Position 3 des Naphthalimidringes (**3k**) nicht in der Lage zu sein, einen positiven Einfluss auf die Fluoreszenz der Verbindung auszuüben. Zwar ist das Maximum des Anregungsspektrums von **3k** in Methanol mit 441 nm im Vergleich zur 4-Nitroverbindung **3m** (276 nm) weit bathochrom verschoben, die Maxima der Emissionsspektren liegen bei beiden Verbindungen jedoch bei vergleichbaren Wellenlängen (535 bzw. 549 nm). Nicht bestätigt werden konnte die Beobachtung von Middleton, dass mit Nitrogruppen substituierte Naphthalimide praktisch über keine fluoreszierenden Eigenschaften verfügen. Die Nitronaphthyl-Verbindungen **3l** und **3m** weisen in beiden Lösungsmitteln intensive Banden im Emissionsspektrum bei 545-550 nm auf.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass durch die Substitution der lateralen aromatischen Reste von W84-Derivaten durch 1,8-Naphthalimide stark fluoreszierende Verbindungen entstehen. Die Fluoreszenz dieser Verbindungen wird durch eine Substitution des Naphthalimidringes durch Nitrogruppen nicht beeinflusst, während sie durch die Einführung einer Aminogruppe in Position 4 noch deutlich intensiviert werden kann. Da in der pharmakologischen Testung der Verbindungen festgestellt wurde, dass das 4-Aminonaphthylderivat **3j** zusätzlich auch über eine hohe allosterische Potenz im niedrigen nanomolaren Bereich verfügt ($pEC_{50,diss} = 7.93$), bietet sich der Einsatz fluoreszierender W84-Derivate zur Charakterisierung allosterischer Interaktionen in Bindungsstudien oder zur Verfolgung des „Rezeptortraffickings“ von Muscarinrezeptoren an. Entsprechende Untersuchungen werden zurzeit im Institut für Physiologische Chemie an der Universität Bonn durchgeführt.

4 Pharmakologische Testung

Wie bereits ausführlich erläutert wurde, binden allosterische Modulatoren an denselben Rezeptor an einer topographisch anderen Stelle als die klassischen orthosteren Liganden. Dadurch kommt es zu einer kooperativen, gegenseitigen Beeinflussung des Bindungsverhaltens beider Liganden. Allosterische Interaktionen können demnach durch zwei Kenngrößen - die Affinität des allosterischen Modulators zur Bindungsstelle am orthoster-besetzten Rezeptor ($EC_{50,diss}$ -Wert) sowie dessen Einfluss auf die Gleichgewichtsbindung (Kooperativitätsfaktor α) - beschrieben werden. Die pharmakologische Testung der synthetisierten Verbindungen über Dissoziations- und Gleichgewichtsbindungsexperimente erfolgte in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Klaus Mohr, Universität Bonn.

4.1 Dissoziationsexperimente

Der allosterische Effekt der synthetisierten Verbindungen ist nicht direkt messbar. Daher erfolgt die indirekte Bestimmung der Affinität der Testsubstanzen über deren Fähigkeit, die Dissoziation des radioaktiv markierten muscarinischen Antagonisten [3H]N-Methylscopolamin ([3H]NMS) vom Rezeptor zu verzögern. Allosterische Modulatoren von M_2 -Rezeptoren bewirken typischerweise sowohl eine Assoziationshemmung als auch eine Dissoziationshemmung des orthosteren Liganden. Während die Assoziation auch durch kompetitive Antagonisten beeinflusst werden kann, stellt eine Verzögerung der Dissoziation eine für allosterische Modulatoren spezifische Veränderung des Bindungsverhaltens dar. Somit ist gewährleistet, dass die in Dissoziationsexperimenten gemessenen Effekte ausschließlich über die Besetzung der allosterischen Bindungsstelle vermittelt werden.

Die Kinetik der Dissoziation von [3H]NMS vom Rezeptor wurde in Membransuspensionen aus Herzventrikeln des Hausschweins verfolgt. Dazu wird das Membranhomogenat bei 37°C für 30 Minuten in Magnesium/Tris-Puffer (pH 7.3) mit [3H]NMS inkubiert. Nach der Einstellung des Bindungsgleichgewichts wird dann entweder Atropin alleine oder gemeinsam mit verschiedenen Konzentrationen des allosterischen Modulators zugegeben. Aufgrund der höheren Affinität des im Überschuss eingesetzten Antagonisten Atropin zur orthosteren Bindungsstelle wird die Dissoziation von [3H]NMS ausgelöst. Die nach bestimmten Abständen über einen Zeitraum von 120 Minuten entnommenen Proben werden filtriert und es wird die membrangebundene Radioaktivität des Radioligand-Rezeptor-Komplexes mit einem Flüssigkeits-Szintillations-Messgerät bestimmt. Auf diese Weise kann für die

Dissoziation des Radioliganden, die einer Reaktionskinetik 1. Ordnung folgt, eine Halbwertszeit $t_{1/2}$ ermittelt werden. Diese gibt an, wann die Hälfte des Radioliganden vom Rezeptor verdrängt wurde. Für jede eingesetzte Konzentration des allosteren Modulators werden so die [^3H]NMS-Dissoziationshalbwertszeit und die Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{-1} berechnet. Wird die Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{-1} in Prozent des Kontrollwertes (erhalten durch die alleinige Zugabe von Atropin) gegen den Logarithmus der Konzentration des allosteren Modulators aufgetragen, erhält man eine sigmoide Konzentrations-Wirkungskurve, die die Dissoziationsverzögerung von [^3H]NMS durch den allosteren Modulator darstellt.

Diejenige Konzentration, bei der die Dissoziation des Radioliganden um die Hälfte reduziert wird, ist als der $EC_{50,\text{diss}}$ -Wert definiert. Der $EC_{50,\text{diss}}$ -Wert, der durch den Wendepunkt der Kurve beschrieben wird, stellt ein Maß für die Affinität des allosteren Modulators zum NMS-besetzten Rezeptor dar.

4.2 Gleichgewichtsbindungsexperimente

Über Gleichgewichtsbindungsexperimente können Informationen über die Affinität des allosteren Modulators zum freien Rezeptor sowie über die Kooperativität zwischen dem allosteren und dem orthosteren Liganden gewonnen werden. Dazu wird eine konstante Konzentration des radioaktiv markierten orthosteren Liganden [^3H]NMS mit steigenden Konzentrationen des allosteren Modulators inkubiert. Wie in den Dissoziationsexperimenten wurden die Untersuchungen in Magnesium/Tris-Puffer bei 37°C durchgeführt.

Die getesteten Verbindungen bewirken alle sowohl eine Hemmung der Assoziation als auch eine Verzögerung der Dissoziation von [^3H]NMS. Der Einfluss des allosteren Modulators auf die Gleichgewichtsbindung wird somit durch die Summe beider Effekte bestimmt. Ist die Dissoziationshemmung größer als die Hemmung der Assoziation spricht man von positiver Kooperativität ($\alpha < 1$, $p\alpha > 0$) und es resultiert eine Erhöhung der NMS-Gleichgewichtsbindung. Bei negativer Kooperativität ($\alpha > 1$, $p\alpha < 0$) überwiegt die Assoziationshemmung, bei neutraler Kooperativität ($\alpha = 1$, $p\alpha = 0$) erfolgt in der Summe der Effekte keine Beeinflussung der Gleichgewichtsbindung.

4.3 Ergebnisse

Bis auf die Verbindungen **3k** und **4e** wurden alle Substanzen unter den beschriebenen Versuchsbedingungen pharmakologisch getestet. Die Ergebnisse sind zusammen mit den Vergleichswerten der in früheren Arbeiten synthetisierten Verbindungen **W84**, **DMW84**, **WB64**,⁸² **OS28** und **OS30**¹⁰³ in den Tabellen 6 und 7 aufgeführt. Alle Messungen erfolgten in Magnesium/Tris-Puffer (pH7.3) bei 37°C. Der pK_A -Wert beschreibt die Affinität zum freien Rezeptor, der $pEC_{50,diss}$ -Wert ist ein Maß für die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor. Der $p\alpha$ -Wert ist der negative dekadische Logarithmus des Kooperativitätsfaktors α .

Abbildung 58 zeigt den Effekt der Verbindungen **4d**, **4o** und **7** auf die NMS-Gleichgewichtsbindung, während die in Abbildung 59 gezeigten Kurven der Verbindungen **W84**, **3a**, **4i** und **6** exemplarisch für alle anderen Verbindungen den Kurvenverlauf für die durchgeführten Dissoziationsexperimente darstellen. Die erhaltenen Kurven aus den Dissoziationsexperimenten der Testreihe besitzen für alle getesteten Verbindungen dieselbe Steilheit, was auf einen einheitlichen Bindungsmodus für alle Substanzen schließen lässt. Aus diesem Grund wurde auf die graphische Darstellung der Testergebnisse der übrigen Verbindungen verzichtet.

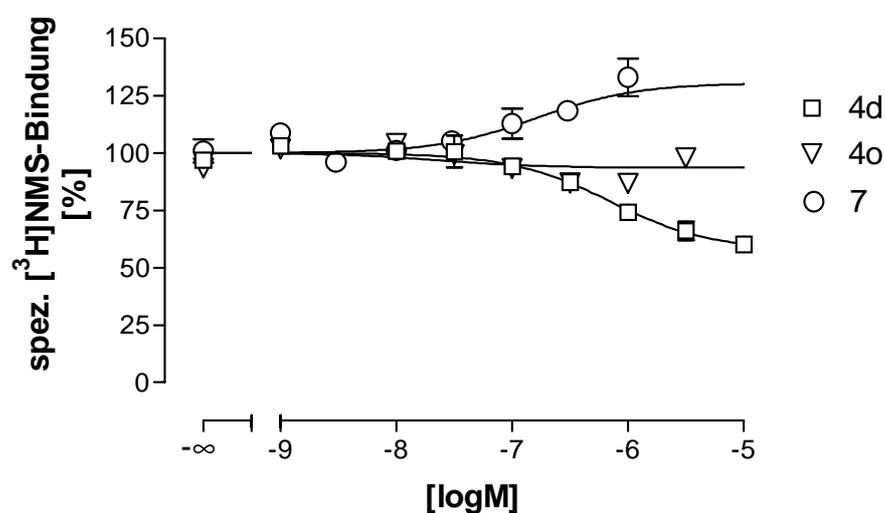


Abb. 58. Einfluss der allosteren Modulatoren **4d** (neg. kooperativ), **4o** (neutral kooperativ) und **7** (pos. kooperativ) auf die NMS-Gleichgewichtsbindung am M_2 -Rezeptor. Ordinate: spezifische Bindung von [³H]NMS in Prozent des Kontrollwertes. Abszisse: Logarithmus der Konzentration der jeweiligen Testverbindung

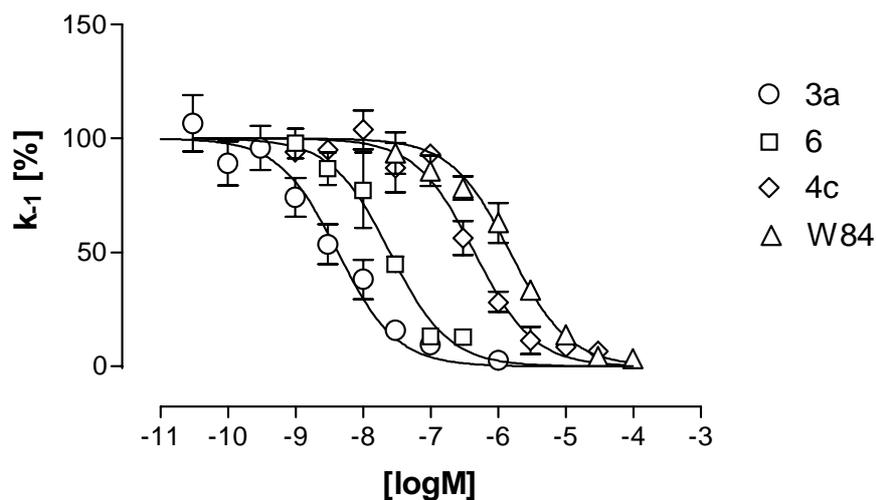


Abb. 59. Verzögerung der NMS-Dissoziation vom M_2 -Rezeptor in Anwesenheit der allosteren Modulatoren **W84**, **4c**, **6** und **3a**. Ordinate: Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{-1} in Prozent des Kontrollwertes. Abszisse: Logarithmus der Konzentration der jeweiligen Testverbindung

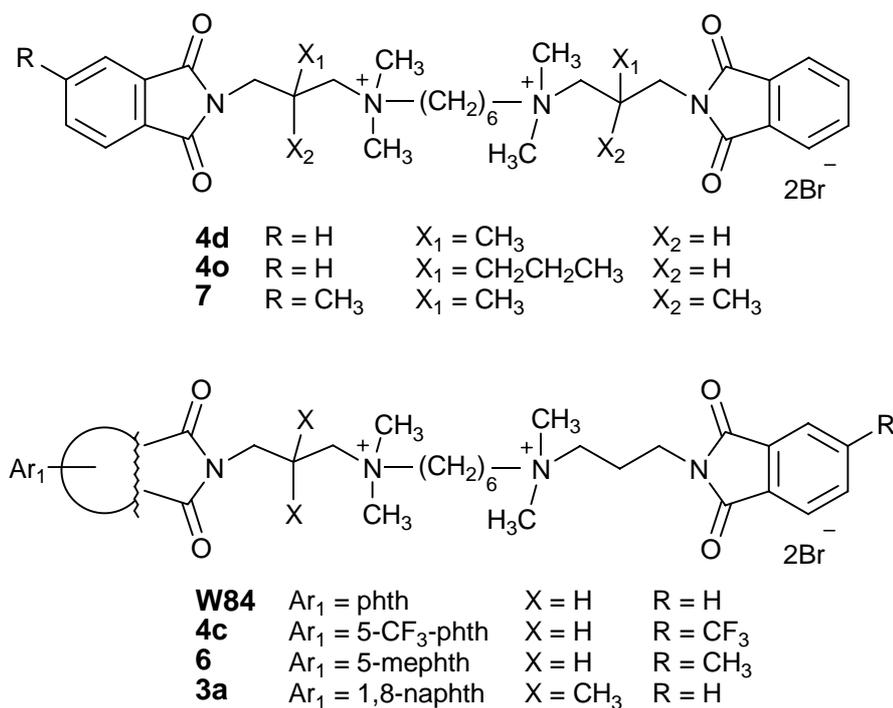
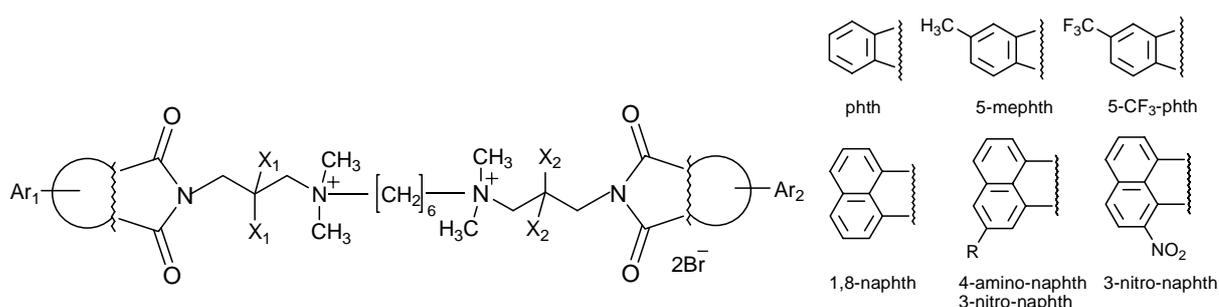


Abb. 59a. Substitutionsmuster der in den Abbildungen 58 und 59 dargestellten Verbindungen; die Strukturen der aromatischen Imide sind in Tabelle 6 auf der folgenden Seite dargestellt



Verb.	Ar ¹	X ¹	X ²	Ar ²	pK _A	pα	pEC _{50,diss}
W84	phth	H	H	phth	6.19	-0.47	5.87
DMW84	5-mepthth	H	H	5-mepthth	7.08	-0.33	6.77
WB64	1,8-naphth	H	H	1,8-naphth	8.11	-0.28	7.86
5c	5-CF ₃ -phth	H	H	phth	6.32	-0.21	6.30
4c	5-CF ₃ -phth	H	H	5-CF ₃ -phth	6.37	-0.22	6.35
3a	1,8-naphth	CH ₃	H	phth	8.29	0.37	8.36
3f	1,8-naphth	CH ₃	CH ₃	phth	7.41	0.56	7.73
6	1,8-naphth	H	H	5-mepthth	8.01	-0.22	7.60
3b	1,8-naphth	CH ₃	H	5-mepthth	7.90	0.32	8.12
3g	1,8-naphth	CH ₃	CH ₃	5-mepthth	7.90	0.29	7.85
3h	1,8-naphth	CH ₃	H	1,8-naphth	8.07	0.17	8.11
4i	1,8-naphth	CH ₃	CH ₃	1,8-naphth	7.51	0.53	8.07
3j	3-amino-naphth	CH ₃	H	phth	8.03	0.12	7.93
3l	3-nitro-naphth	CH ₃	H	phth	7.69	-0.01	7.68
3m	4-nitro-naphth	CH ₃	H	phth	7.82	0.14	7.77
8	1,8-naphth	CH ₃	-	-	5.50	-0.02	5.45
9*	1,8-naphth	H	H	1,8-naphth	7.87	-0.26	7.56

Tabelle 6. Ergebnisse der pharmakologischen Testung der Substanzen **3a**, **3b**, **3f-3h**, **3j**, **4c**, **4i**, **5c**, **6**, **8** und **9**, * die tertiäre Verbindung **9** ist das Dichlorid der analogen quartären Verbindung **WB64**

Zunächst sollen die in Tabelle 6 dargestellten pharmakologischen Ergebnisse diskutiert werden.

Wie erwartet besitzen die trifluormethylsubstituierten Verbindungen **4c** und **5c** eine höhere allosterische Potenz als die Leitstruktur **W84**. Dies ist auf die lipophilen Eigenschaften des Substituenten und die damit verbundene Vergrößerung der lipophilen Kontaktfläche zum Rezeptor zurückzuführen. Überraschend ist jedoch, dass die Affinitätswerte der methylierten Verbindung **DMW84** von **4c** und **5c** nicht erreicht werden. Somit führte der isostere

Austausch der Methylgruppen durch Trifluormethylgruppen bei gleich bleibender Größe des Substituenten trotz der erhöhten Lipophilie des Moleküls nicht zu einer Steigerung der Wirksamkeit. Von Bender wurde bereits in einer früheren Arbeit des Arbeitskreises durch die Einführung von Alkyl- und Halogensubstituenten und die Vergrößerung des aromatischen Systems gezielt die Lipophilie einer Serie von W84-Derivaten erhöht. Dies führte zu einem deutlichen Anstieg der allosteren Wirksamkeit.⁶⁶

Durch die Analyse quantitativer Struktur-Wirkungsbeziehungen (QSARs) konnte von Bender eine parabolische Korrelation zwischen dem Volumen der lateralen aromatischen Reste und der Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor gefunden werden. Jedoch ging mit einer Vergrößerung des Volumens auch immer eine Erhöhung der Lipophilie einher. Durch die unerwartet schwache allosterische Potenz der lipophilen trifluormethylierten Verbindungen, die in ihrem Volumen nahezu den methylierten Derivaten entsprechen, wird die beschriebene Korrelation durchbrochen und kann nicht mehr aufrecht erhalten werden. In Kapitel 5 soll noch ausführlich auf QSARs von W84-Derivaten mit unterschiedlichen lateralen aromatischen Substituenten eingegangen werden.

Es ist auch bemerkenswert, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den Affinitätswerten der symmetrischen Verbindung **4c** und der unsymmetrischen Verbindung **5c** besteht. Diese Beobachtung konnte ebenfalls bereits für eine Reihe symmetrischer und unsymmetrischer W84-Derivate mit unterschiedlicher aromatischer Substitution gemacht werden.⁶⁶

Es ist bekannt, dass die Affinität von W84-Derivaten zum M₂-Rezeptor von der Art des Aromaten abhängt und in der Reihenfolge Phthalimid < 5-Methylphthalimid < Naphthalimid zunimmt.⁶⁶ Außerdem konnte durch eine zweifache Methylierung der Propylkette erstmals positive Kooperativität erzielt werden.⁶³ Mit dem Ziel, hochaffine und positiv kooperative Substanzen herzustellen, wurden diese strukturellen Variationen in den Verbindungen **3a**, **3b**, **3f-3h**, **4i** und **6** vereint. So konnte durch die Kombination der Naphthalimidstruktur mit einer benachbarten zweifachen Methylierung der Propylkette (**3a**) ein pEC₅₀-Wert von 8.36 erzielt werden. Dieser Wert im einstelligen nanomolaren Bereich übertrifft den Affinitätswert der bisher wirksamsten Verbindung **WB64** (pEC₅₀ = 7.86) um den Faktor 3 und den Affinitätswert des allosteren Modulators Alcuronium um den Faktor 14. Somit stellt die unsymmetrische Verbindung **3a** (*Naphmethonium*) den potentesten bekannten allosteren Modulator für den NMS-besetzten M₂-Rezeptor dar. Zusätzlich weist **3a** positive Kooperativität auf (pα = 0.37), d.h. die NMS-Gleichgewichtsbindung wird durch den allosteren Modulator deutlich erhöht.

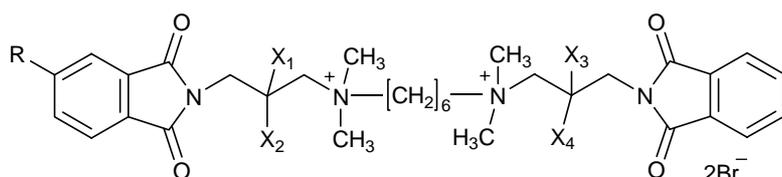
Es ist erkennbar, dass durch die Einführung von Methylgruppen in die lateralen Propylketten der getesteten Verbindungen positive Kooperativität erzielt werden kann. Außerdem wird durch die Methylierung auch die Affinität der Substanzen erhöht. Das Ausmaß dieses Effektes ist jedoch vom Ort und dem Grad der Methylierung abhängig. So bewirkt eine beidseitige Dimethylierung zwar bei den Verbindungen **3f** und **4i** nochmals einen Anstieg der Kooperativität ($p\alpha = 0.56$ bzw. 0.53), die allosterische Potenz nimmt im Vergleich zu den einseitig dimethylierten Verbindungen **3a** und **3h** dagegen ab. Die höchsten Affinitätswerte in Kombination mit positiver Kooperativität werden somit von W84-Derivaten erzielt, die mindestens einen Naphthalimidrest tragen, der mit einer 2,2-Dimethylpropylkette verknüpft ist. Diese Beobachtungen konnten auch mathematisch durch QSARs bestätigt werden,¹⁰⁴ worauf in Kapitel 5 ausführlich eingegangen werden wird.

Das am Naphthalimidring in Position 4 aminosubstituierte Naphmethoniumderivat **3j** weist im Vergleich zu **3a** eine etwas geringere allosterische Potenz auf, die mit $pEC_{50} = 7.93$ aber dennoch im unteren nanomolaren Bereich liegt. Die Affinitätswerte der 4- bzw. 3-nitrosubstituierten Verbindungen **3l** und **3m** liegen in einer vergleichbaren Größenordnung.

Verbindung **9** ist das Dichlorid eines tertiären W84-Derivates und liegt mit seiner allosterischen Wirksamkeit ($pEC_{50} = 7.56$) im Bereich der analogen bisquartären Verbindung **WB64** ($pEC_{50} = 7.86$). Es war zu erwarten, dass **WB64** und Verbindung **9** eine vergleichbare allosterische Potenz besitzen, weil unter den Bedingungen der pharmakologischen Testung bei pH 7.3 auch das bistertiäre Amin **9** zu einem großen Teil doppelt protoniert vorliegt.

Interessanterweise besitzt das „halbe“ Naphmethonium **8** eine gegenüber W84 nur um den Faktor 2.6 verringerte allosterische Potenz ($pEC_{50} = 5.45$) und weist zusätzlich neutrale Kooperativität auf ($p\alpha = -0.02$). Bei hochaffinen allosterischen Modulatoren vom W84-Typ scheint ein einseitiger Abbau der Struktur somit einen deutlich geringeren Verlust an allosterischer Wirksamkeit hervorzurufen als dies bei nicht-methylierten Phthalimidderivaten der Fall ist.⁵⁷

Durch die Variation der lateralen aromatischen Reste von W84-Derivaten ist es möglich, die Affinität zum freien und zum NMS-besetzten Rezeptor zu erhöhen. Eine Erhöhung der Gleichgewichtsbindung von NMS wurde jedoch erstmals durch die Einführung von Dimethylgruppen in die lateralen Propylketten erzielt. Deshalb sollte mit der in Tabelle 7 dargestellten Serie von Substanzen der Einfluss verschiedener Alkylsubstituenten auf die Gleichgewichtsbindung beleuchtet werden



	R	X ¹	X ²	X ³	X ⁴	pK _A	pα	pEC _{50, diss}
W84	H	H	H	H	H	6.19	-0.47	5.87
5d	H	CH ₃	H	H	H	5.87	-0.33	6.05
OS30	H	CH ₃	CH ₃	H	H	6.90	-0.04	6.87
5e	CH ₃	CH ₃	H	H	H	n.a.	-0.06	6.55
4d	H	CH ₃	H	CH ₃	H	6.23	-0.34	6.08
OS28	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	7.08	-0.21	6.75
7	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	6.73	0.17	6.92
4n	H	CH ₂ CH ₃	H	CH ₂ CH ₃	H	6.43	-0.35	6.14
4o	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	7.63	-0.04	6.89
4p	H	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	7.05	-0.28	6.81

Tabelle 7. Ergebnisse der pharmakologischen Testung der Substanzen **4d**, **4n-4p**, **5d**, **5e** und **7**, n.a.= noch keine Daten verfügbar

Die Testverbindungen unterscheiden sich vor allem durch unterschiedliche Alkylsubstituenten an Position 2 der Propylkette. Eine entweder einseitige oder beidseitige Monomethylierung (**5d** bzw. **4d**) bewirkt im Vergleich zu **W84** nur einen vernachlässigbar geringen Anstieg der allosteren Potenz und der Kooperativität, während eine einseitige Dimethylierung (**OS 30**) bereits zu neutraler Kooperativität führt. Dagegen wird bei Verbindung **5e**, die am aromatischen Ring zusätzlich eine Methylgruppe trägt, durch dieselbe strukturelle Modifikation eine deutliche Erhöhung der Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor erreicht (neutrale Kooperativität, $\alpha = -0.06$). In diesem Fall hat also die Kombination 5-Methylphthalimid/Monomethylierung den gleichen fördernden Effekt auf die

Gleichgewichtsbindung wie die Kombination Phthalimid/Dimethylierung (**OS30**). Dies bedeutet, dass die Beeinflussung der Gleichgewichtsbindung nicht nur von der Substitution an Position 2 der Propylkette abhängt, sondern immer in Zusammenhang mit dem aromatischen Substituenten in direkter Nachbarschaft zur alkylierten Propylkette zu betrachten ist.

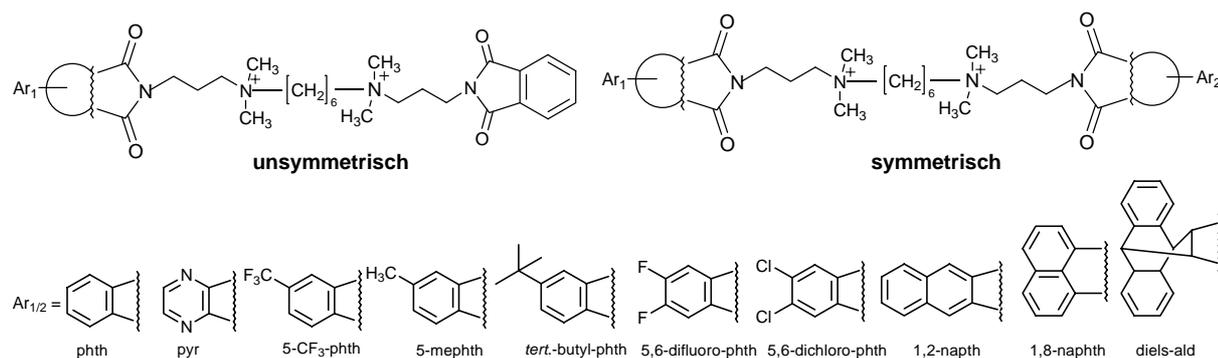
Die Verbindungen **4n-4p** tragen auf beiden Seiten des Moleküls Phthalimidreste. Die beidseitige Einführung von Ethylgruppen (**4n**) bewirkt im Vergleich zur Monomethylierung (**4d**) keine Zunahme der allosteren Potenz. Dagegen bewirkt eine Propylsubstitution (**4o**) sowohl eine deutliche Erhöhung des pEC_{50} -Wertes auf 6.89 als auch einen Anstieg der Kooperativität ($p\alpha = -0.04$), so dass die Gleichgewichtsbindung praktisch nicht mehr beeinflusst wird. Derselbe Einfluss auf die Gleichgewichtsbindung, der hier zu neutraler Kooperativität führt, kann also sowohl durch eine einseitige Dimethylierung (**OS30**) als auch durch eine beidseitige einfache Propylsubstitution (**4o**) erreicht werden. Werden Substituenten mit noch größerem Raumbedarf, wie *iso*-Butylreste in das Molekül eingeführt (**4p**), bleibt die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor nahezu gleich. Dagegen nimmt die Affinität zum freien Rezeptor jedoch deutlich ab und es resultiert wieder negative Kooperativität ($\alpha = -0.28$). Die an Position 5 des Phthalimides und beidseitig an den Propylketten dimethylierte Verbindung **7** ist die einzige Substanz dieser Serie, die positive Kooperativität mit NMS aufweist ($p\alpha = 0.17$). Gleichzeitig stellt sie die Verbindung mit der höchsten Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor dar ($pEC_{50} = 6.92$).

Aus den geschilderten Ergebnissen kann man schließen, dass die Position 2 der lateralen Propylkette die kritische Stelle in Bezug auf das Kooperativitätsverhalten der Verbindungen darstellt. Durch geeignete Substitution mit verschiedenen Alkylresten lässt sich in Kombination mit verschiedenen aromatischen Resten negative, neutrale oder positive Kooperativität mit NMS erzeugen.

5 Quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen

Durch quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen (QSARs) werden Zusammenhänge zwischen chemischen Strukturmerkmalen bzw. physikalischen Eigenschaften und der biologischen Wirkung von Substanzen mit Hilfe mathematischer Modelle beschrieben. Um QSARs für eine bestimmte Reihe von Substanzen beschreiben zu können, sollten alle Verbindungen aus einer chemisch einheitlichen Serie stammen. Außerdem müssen sie am Wirkort einen identischen Bindungs- und Wirkmechanismus aufweisen.¹⁰⁵ Alle diese Voraussetzungen sind für die im Folgenden beschriebenen beiden Serien von W84-Derivaten erfüllt. Durch eine QSAR-Analyse sollte für zwei verschiedene Serien von W84-Derivaten geprüft werden, ob die in den pharmakologischen Testungen ermittelten Affinitäten zum freien und zum NMS-besetzten Rezeptor sowie die Kooperativitätswerte mit verschiedenen physikochemischen Eigenschaften der Verbindungen erklärt werden können.

Serie 1 besteht aus 19 Verbindungen, an denen die lateralen aromatischen Reste und die Substituenten an diesen Resten systematisch verändert wurden. Diese Substanzen wurden bis auf die beiden trifluormethylierten Verbindungen alle von Bender in einer früheren Arbeit des Arbeitskreises Holzgrabe hergestellt.⁸² Die strukturellen Modifikationen wurden sowohl an symmetrischen als auch an unsymmetrischen W84-Derivaten, die auf einer Seite des Moleküls immer einen Phthalimidrest tragen, durchgeführt. Die Affinität der Substanzen zum NMS-besetzten Rezeptor, die durch den $pEC_{50,diss}$ -Wert beschrieben wird, liegt im Bereich von $pEC_{50,diss} = 5.2$ bis 7.9 . Somit kann die allosterische Potenz der Verbindungen über einen Bereich von fast drei Zehnerpotenzen durch die Art der lateralen Aromaten beeinflusst werden. Mit Ausnahme der beidseitig mit 1,8-Naphthalimidresten substituierten Verbindung sind in der Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor keine erkennbaren Unterschiede zwischen symmetrischen und unsymmetrischen Verbindungen feststellbar. Alle Verbindungen reduzieren in unterschiedlichem Ausmaß die Gleichgewichtsbindung von NMS, d.h. sie sind negativ kooperativ.



Ar	unsymmetrisch				symmetrisch			
	pK _A	pα	pEC ₅₀	p(αK _A)	pK _A	pα	pEC ₅₀	p(αK _A)
phth (W84)	-	-	-	-	6.19	-0.47	5.87	5.73
pyr	6.25	-0.59	5.79	5.66	5.44	-0.44	5.20	5.00
5-CF₃-phth (5c/4c)	6.32	-0.21	6.30	6.12	6.37	-0.22	6.35	6.15
5-mephth	6.73	-0.31	6.49	6.42	7.08	-0.33	6.77	6.75
tert.-butyl-phth	7.25	-0.81	6.51	6.43	7.38	-0.89	6.52	6.49
5,6-difluoro-phth	6.68	-0.37	6.34	6.31	6.47	-0.39	6.13	6.08
5,6-dichloro-phth	7.08	-0.17	6.94	6.90	6.83	-0.29	6.64	6.57
Diels-ald	7.78	-1.21	6.69	6.56	8.12	-1.38	6.40	6.74
1,2-naphth	7.27	-0.47	6.84	6.80	7.62	-0.85	6.69	6.77
1,8-naphth	7.24	-0.20	6.94	7.04	8.11	-0.28	7.86	7.83

Tabelle 8. Pharmakologische Daten und Substitutionsmuster der Verbindungen der Serie 1

Für die Berechnung der physikochemischen Eigenschaften der Verbindungen der Serie 1 wurden lediglich die variablen lateralen N-Methylimide der jeweiligen Substanzen in Betracht gezogen (Abb. 60), da sich der aliphatische Bereich der Moleküle nicht voneinander unterscheidet und damit keinen direkten Einfluss auf das Ergebnis der QSAR-Analyse hat.

Die N-Methylimide wurden mit dem Programm HyperChem™ 5.1 (Hypercube Inc. Waterloo, Ont. Canada 1997) aufgebaut. Die Geometrieoptimierung wurde mit dem in Hyperchem implementierten MM+ Programm durchgeführt. Mit Hilfe von ChemPlus™ wurden dann jeweils getrennt für beide Seiten des Moleküls folgende physikochemischen Eigenschaften berechnet: die Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ($\log P_1$, $\log P_2$) als Maß für die Lipophilie der Verbindungen, die sterischen Parameter Volumen (Vol_1 , Vol_2) und Oberfläche (Sur) sowie die Polarisierbarkeit (Pol) und die Refraktivität (Ref). Die Polarisierbarkeit bezeichnet die Tendenz eines Moleküls, Ladung innerhalb seiner Elektronenhülle umzuverteilen. Die Refraktivität ist ein Mischparameter, der sowohl sterische als auch elektronische Eigenschaften (Polarisierbarkeit) eines Moleküls beinhaltet.¹⁰⁶ Die QSAR-Analyse für alle Kombinationen der beschriebenen Parameter erfolgte für Serie 1 und 2

mittels einer Kombination aus Variablenselektion und multipler linearer Regression mit Hilfe des Programms BILIN.¹⁰⁷

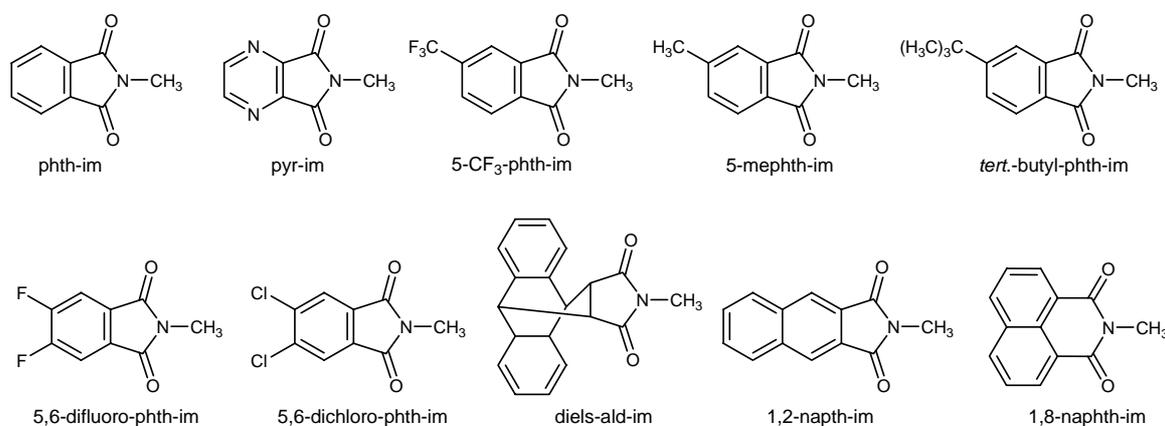


Abb. 60. Strukturen der zur Berechnung der physikochemischen Parameter eingesetzten *N*-Methylimide

N-Methylimid	logP	Volumen [Å³]	Oberfläche [Å²]	Polarisier- barkeit [Å³]	Refraktivität [Å³]
phth-im (W84)	1.46	496.87	326.86	16.69	43.51
pyr-im	-0.36	468.20	314.38	15.27	38.45
5-CF₃-phth-im	2.35	579.54	374.63	18.25	49.49
5-mephth-im	1.93	549.14	355.44	18.52	48.55
tert.-butyl-phth-im	3.09	681.02	421.81	24.03	62.18
5,6-difluoro-phth-im	1.74	515.32	338.43	16.52	43.94
5,6-dichloro-phth-im	2.50	578.06	368.74	20.54	53.12
Diels-ald-im	2.84	747.84	451.46	29.24	75.89
1,2-naphth-im	2.47	624.05	387.88	23.96	59.96
1,8-naphth-im	2.47	604.22	372.55	23.96	59.96

Tabelle 9. Berechnete physikochemische Parameter der lateralen *N*-Methylimide

Die besten Korrelationen zwischen den physikochemischen Parametern und den Affinitäten zum freien (pK_A) und zum NMS-besetzten Rezeptor (p(αK_A)) sind in Tabelle 10 dargestellt. Dabei wurde folgende allgemeine Gleichung verwendet:

$$pBE = \beta_0 + \beta_{Vol1} \cdot X_{Vol1} + \beta_{Vol2} \cdot X_{Vol2} + \beta_{logP1} \cdot X_{logP1} + \beta_{Pol} \cdot X_{Pol} + \beta_{Ref} \cdot X_{Ref}$$

Für die Regressionsanalyse wurden nicht für alle Gleichungen alle aufgeführten physikochemischen Eigenschaften berücksichtigt, so dass die entsprechenden Korrelationskoeffizienten β in diesem Fall den Wert null annehmen. pBE stellt den vorhergesagten Wert des negativen dekadischen Logarithmus des entsprechenden biologischen Effektes dar.

$$y = p(\alpha K_A)$$

Vol ₁	Vol ₂	logP ₁	Pol	β_{Vol1}	β_{Vol2}	β_{logP1}	β_{Pol}	β_0	R ²	s	F	Q ²	s _{SPRESS}
-	-	+	-	-	-	0.443 ± 0.22	-	5.519 ± 0.51	0.510	0.432	17.696	0.378	0.487
-	-	+	+	-	-	0.327 ± 0.33	0.0349 ± 0.073	5.029 ± 1.15	0.540	0.432	9.372	0.335	0.519
+	-	+	-	0.000742 ± 0.0046	-	0.494 ± 0.39	-	5.850 ± 2.10	0.514	0.444	8.449	0.345	0.515
+	-	+	+	-0.0145 ± 0.0072	-	0.611 ± 0.27	0.251 ± 0.12	8.469 ± 1.89	0.792	0.299	19.131	0.621	0.405
+	+	+	+	-0.0150 ± 0.0074	0.00102 ± 0.0024	0.611 ± 0.27	0.251 ± 0.12	8.250 ± 2.01	0.805	0.301	14.375	0.631	0.414

$$y = pK_A$$

Vol ₁	logP ₁	Pol	Ref	β_{Vol1}	β_{Vol2}	β_{logP1}	β_{Pol}	β_0	R ²	s	F	Q ²	s _{SPRESS}
+	-	-	-	0.00693 ± 0.0025	-	-	-	2.875 ± 1.48	0.669	0.414	34.381	0.600	0.455
-	-	+	-	-	-	0.143 ± 0.037	-	3.970 ± 0.80	0.792	0.327	65.013	0.734	0.371
-	+	-	-	-	0.535 ± 0.25	-	-	5.846 ± 0.57	0.548	0.483	20.634	0.404	0.555
-	+	+	-	-	0.135 ± 0.25	0.121 ± 0.055	-	4.150 ± 0.86	0.808	0.324	33.808	0.678	0.421
+	-	+	-	-0.00313 ± 0.0067	-	0.200 ± 0.13	-	4.630 ± 1.62	0.804	0.328	32.962	0.712	0.398
+	+	-	-	0.00536 ± 0.0043	0.166 ± 0.36	-	-	3.456 ± 1.96	0.687	0.414	17.594	0.541	0.502
+	+	+	-	-0.00693 ± 0.0071	0.270 ± 0.27	0.224 ± 0.12	-	5.792 ± 1.86	0.852	0.295	28.594	0.696	0.422
+	+	+	+	-0.00964 ± 0.0070	0.250 ± 0.24	0.240 ± 0.11	0.0208 ± 0.021	5.970 ± 1.70	0.887	0.267	27.409	0.761	0.388

Tabelle 10. Ergebnisse der Regressionsanalyse, Darstellung der besten Korrelationen zwischen den physikochemischen Parametern und der Affinität zum freien ($y = pK_A$) und zum NMS-besetzten Rezeptor ($y = p(\alpha K_A)$) der Verbindungen der Serie 1

R² ist der quadrierte multiple Korrelationskoeffizient, s ist die Standardabweichung, F stellt das Verhältnis von erklärter zu nicht-erklärter Varianz dar. Q² ist der nach dem „leave-one-out“-Verfahren kreuzvalidierte quadrierte multiple Korrelationskoeffizient und s_{SPRESS} ist die Standardabweichung des Vorhersagefehlers der Summe der quadrierten Abweichungen. Im Idealfall sollte Q² den Wert 1 und s_{SPRESS} den Wert 0 annehmen. In der folgenden Diskussion werden nur Gleichungen mit signifikanten Korrelationskoeffizienten (β) berücksichtigt. Bei nicht-signifikanten Korrelationskoeffizienten nimmt die Standardabweichung einen größeren Wert an als der Korrelationskoeffizient selbst.

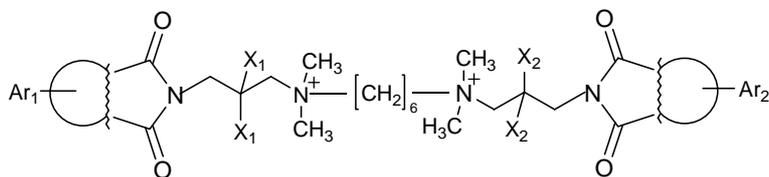
Interessanterweise bestehen für die Affinität zum freien und zum NMS-besetzten Rezeptor unterschiedliche Korrelationen mit den berechneten physikochemischen Parametern. So kann die Affinität zum freien Rezeptor (pK_A) alleine durch die Polarisierbarkeit beschrieben werden (R² = 0.79, Q² = 0.73). Die Einbeziehung der Lipophilie oder des Volumens eines lateralen aromatischen Restes führt zwar zu etwas besseren Modellen, jedoch wurden diese aufgrund des Auftretens nicht-signifikanter Korrelationskoeffizienten nicht berücksichtigt.

Dagegen sind die mit der Affinität zum besetzten Rezeptor ($p(\alpha K_A)$) gefundenen Korrelationen deutlich schwächer. Das beste Modell ($R^2 = 0.79$, $Q^2 = 0.62$) konnte bei der Verwendung des Volumens eines lateralen N-Methylimids, der Lipophilie und der Polarisierbarkeit erzielt werden. Die Regressionsanalyse wurde auch mit einem parabolischen Regressionsmodell durchgeführt,¹⁰⁸ was aber ebenfalls nicht zu besseren Resultaten führte. Dennoch geben die in dieser QSAR-Studie aufgefundenen unterschiedlichen Korrelationen einen Hinweis darauf, dass sich die allosteren Bindungsstellen des freien und des orthoster-besetzten Rezeptor strukturell voneinander unterscheiden und die Substitution mit verschiedenen aromatischen Resten die Bindung der W84-Derivate am freien und am besetzten Rezeptor in unterschiedlichem Ausmaß beeinflusst.

In Serie 2 (Tabelle 11) bestanden die lateralen Aromaten der 21 Substanzen entweder aus einem Phthalimid-, einem 5-Methylphthalimid oder einem 1,8-Naphthalimidrest, wobei durch den 1,8-Naphthalimidrest die höchste allosterische Potenz erzielt wird. Zusätzlich wurden in die lateralen Propylketten einseitig oder beidseitig Dimethylgruppen eingeführt, so dass ebenfalls symmetrische und unsymmetrische Verbindungen resultierten. Ein Teil dieser Verbindungen wurde in früheren Arbeiten von Scharfenstein und Bender synthetisiert.^{82,103}

Es ist erkennbar, dass durch eine zweifache Methylierung an Position 2 der Propylkette die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor im Vergleich zu den nicht-methylierten Verbindungen erhöht wird. Doch wie bereits in Kapitel 4.3 (Pharmakologische Testung) erwähnt wurde, ist das Ausmaß dieser Affinitätserhöhung stark davon abhängig, welcher aromatische Rest der dimethylierten Propylkette benachbart ist. In Serie 1 konnte bereits festgestellt werden, dass die Affinität der Verbindungen in Abhängigkeit von der Art der lateralen Aromaten in der Reihenfolge Phthalimid < 5-Methylphthalimid < 1,8-Naphthalimid steigt. Erfolgt die Einführung der Dimethylgruppen auf der Seite des Aromaten, der die höhere Affinität erzeugt, wird positive Kooperativität erzielt. Falls die 2,2-Dimethylpropyl-Kette dem aromatischen Imid benachbart ist, das die geringere Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor bewirkt, bleibt die Kooperativität im negativen Bereich oder wird höchstens neutral. Diese Beobachtungen lassen sich beispielsweise an den Verbindungen **WB4i**, **3a** und **OS33** verdeutlichen. **WB4i** weist negative Kooperativität auf ($p\alpha = -0.20$). Durch die Dimethylierung der dem 1,8-Naphthalimid benachbarten Propylkette (**3a**) wird positive Kooperativität erzielt ($p\alpha = 0.37$), während die Einführung der Dimethylgruppe auf der Seite des Phthalimids (**OS33**) lediglich zu neutraler Kooperativität führt ($p\alpha = -0.005$). Die Betrachtung der Substanzreihen **WB4c**, **OS32** und **OS27** sowie von **6**, **3b** und **OS35** führt

zum selben Ergebnis. Die höchste allosterische Potenz in Verbindung mit positiver Kooperativität wird somit bei Verbindungen erzielt, die mindestens einen mit einer 2,2-Dimethylpropylkette verbundenen 1,8-Naphthalimidrest tragen.



	Ar ¹	X ¹	X ²	Ar ²	pK _A	pα	pEC _{50,diss}	p(αK _A)
W84	phth	H	H	phth	6.19	-0.47	5.87	5.73
OS30	phth	CH ₃	H	phth	6.90	-0.04	6.87	6.86
OS28	phth	CH ₃	CH ₃	phth	7.08	-0.21	6.75	6.87
WB4c	5-mephth	H	H	phth	6.73	-0.31	6.49	6.42
OS32	5-mephth	CH ₃	H	phth	7.26	0.19	7.26	7.45
OS27	5-mephth	H	CH ₃	phth	7.20	-0.13	7.15	7.07
7	5-mephth	CH ₃	CH ₃	phth	6.73	0.17	6.92	6.90
WB4i	1,8-naphth	H	H	phth	7.24	-0.20	6.94	7.04
3a	1,8-naphth	CH ₃	H	phth	8.29	0.37	8.36	8.66
OS33	1,8-naphth	H	CH ₃	phth	7.28	-0.005	7.28	7.28
3f	1,8-naphth	CH ₃	CH ₃	phth	7.41	0.56	7.73	7.97
DMW84	5-mephth	H	H	5-mephth	7.08	-0.33	6.77	6.75
OS34	5-mephth	CH ₃	H	5-mephth	7.41	0.03	7.44	7.44
OS31	5-mephth	CH ₃	CH ₃	5-mephth	7.21	0.17	7.33	7.38
6	1,8-naphth	H	H	5-mephth	8.01	-0.22	7.60	7.79
3b	1,8-naphth	CH ₃	H	5-mephth	7.90	0.32	8.12	8.23
OS35	1,8-naphth	H	CH ₃	5-mephth	7.48	-0.04	7.44	7.44
3g	1,8-naphth	CH ₃	CH ₃	5-mephth	7.90	0.29	7.85	8.19
WB3i	1,8-naphth	H	H	1,8-naphth	8.11	-0.28	7.86	7.83
3h	1,8-naphth	CH ₃	H	1,8-naphth	8.07	0.17	8.11	8.24
4i	1,8-naphth	CH ₃	CH ₃	1,8-naphth	7.51	0.53	8.07	8.04

Tabelle 11. Pharmakologische Daten und Substitutionsmuster der Verbindungen der Serie 2

Zur Quantifizierung dieser beobachteten Struktur-Wirkungsbeziehungen wurden analog zu Serie 1 für alle 21 Substanzen der Serie 2 auch wieder einzeln für beide Molekülhälften die oben beschriebenen physikochemischen Eigenschaften der lateralen N-Methylimide berechnet. Um die zusätzliche eventuelle Dimethylierung der Propylketten der Verbindungen zu berücksichtigen, wurde in diesem Fall zusätzlich zwei Indikatorvariablen (Met₁, Met₂) eingeführt, die für die nicht-methylierten Strukturen den Wert 0 und für die dimethylierten Strukturen den Wert 1 annehmen.

Die besten Korrelationen sind in Tabelle 12 aufgeführt. Es wurde folgende allgemeine Gleichung verwendet:

$$pBE = \beta_0 + \beta_{Vol1} \cdot X_{Vol1} + \beta_{Vol2} \cdot X_{Vol2} + \beta_{Met1} \cdot X_{Met1} + \beta_{Met2} \cdot X_{Met2}$$

$y = p\alpha$

Vol ₁	Vol ₂	Met ₁	Met ₂	β_{Vol1}	β_{Vol2}	β_{Met1}	β_{Met2}	β_0	R ²	s	F	Q ²	SPRESS
-	-	+	-	-	-	0.432 ± 0.180	-	-0.220 ± 0.14	0.573	0.194	25.574	0.485	0.213
-	-	+	+	-	-	0.408 ± 0.170	0.143 ± 0.170	-0.268 ± 0.14	0.635	0.184	15.645	0.511	0.213
+	-	+	-	0.00380 ± 0.0014	-	0.455 ± 0.110	-	-2.402 ± 0.81	0.848	0.119	50.213	0.793	0.139
+	+	+	-	0.00440 ± 0.0015	-0.00130 ± 0.0015	0.466 ± 0.110	-	-2.063 ± 0.86	0.889	0.112	38.765	0.789	0.144
+	-	+	+	0.00367 ± 0.0012	-	0.435 ± 0.099	0.117 ± 0.099	-2.365 ± 0.72	0.889	0.105	45.101	0.815	0.135
+	+	+	+	0.00418 ± 0.0014	-0.00107 ± 0.0014	0.446 ± 0.096	0.105 ± 0.096	-2.089 ± 0.77	0.904	0.100	37.940	0.815	0.139

$y = p(\alpha K_A)$

Vol ₁	Vol ₂	Met ₁	Met ₂	β_{Vol1}	β_{Vol2}	β_{Met1}	β_{Met2}	β_0	R ²	s	F	Q ²	SPRESS
+	-	-	-	0.0135 ± 0.0054	-	-	-	-0.294 ± 3.10	0.588	0.463	27.130	0.476	0.523
+	+	-	-	0.0121 ± 0.0061	0.00315 ± 0.0062	-	-	-1.145 ± 3.52	0.613	0.462	14.240	0.449	0.551
+	-	+	-	0.0142 ± 0.0032	-	0.731 ± 0.25	-	-1.111 ± 1.86	0.863	0.274	57.102	0.816	0.319
+	-	+	+	0.0143 ± 0.0033	-	0.753 ± 0.26	-0.120 ± 0.26	-1.149 ± 1.87	0.870	0.274	38.277	0.800	0.341
+	+	+	-	0.0133 ± 0.0037	0.00185 ± 0.0037	0.715 ± 0.26	-	-1.593 ± 2.10	0.872	0.273	38.680	0.798	0.343
+	+	+	+	0.0136 ± 0.0038	0.00162 ± 0.0038	0.734 ± 0.27	-0.103 ± 0.27	-1.568 ± 2.13	0.878	0.276	28.621	0.775	0.374

$y = pK_A$

Vol ₁	Vol ₂	Met ₁	Met ₂	β_{Vol1}	β_{Vol2}	β_{Met1}	β_{Met2}	β_0	R ²	s	F	Q ²	SPRESS
+	-	-	-	0.01010 ± 0.0041	-	-	-	1.594 ± 2.33	0.590	0.347	27.247	0.479	0.391
+	+	-	-	0.00851 ± 0.0044	0.00359 ± 0.0044	-	-	0.625 ± 2.53	0.646	0.331	16.411	0.483	0.400
+	-	+	-	0.01040 ± 0.0038	-	0.277 ± 0.30	-	1.285 ± 2.21	0.659	0.325	17.421	0.533	0.380
+	-	+	+	0.01070 ± 0.0037	-	0.318 ± 0.29	-0.238 ± 0.29	1.210 ± 2.11	0.709	0.309	13.856	0.537	0.390
+	+	+	-	0.00895 ± 0.0042	0.00314 ± 0.0042	0.249 ± 0.29	-	0.469 ± 2.41	0.702	0.313	13.344	0.510	0.401
+	+	+	+	0.00940 ± 0.0041	0.00268 ± 0.0042	0.290 ± 0.29	-0.210 ± 0.29	0.521 ± 2.33	0.740	0.301	11.393	0.508	0.414

Tabelle 12. Ergebnisse der Regressionsanalyse, Darstellung der besten Korrelationen zwischen den physikochemischen Parametern und der Kooperativität ($p\alpha$), der Affinität zum freien ($y = pK_A$) und zum NMS-besetzten Rezeptor ($y = p(\alpha K_A)$) der Verbindungen der Serie 1

Wiederum wurden für die Affinität zum freien und zum NMS-besetzten Rezeptor unterschiedliche Korrelationen gefunden. Die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor ($p(\alpha K_A)$) und der Einfluss auf die Kooperativität ($p\alpha$) lassen sich mit hoher Güte durch das Volumen des lateralen N-Methylimides in Kombination mit der benachbarten Dimethylierung der Propylkette beschreiben ($R^2 = 0.86$, $Q^2 = 0.82$ bzw. $R^2 = 0.85$, $Q^2 = 0.79$). Dieses Ergebnis bestätigt die oben beschriebenen Beobachtungen. Somit besitzen die Verbindungen eine „dominante Seite“, durch die eine hohe Affinität zum besetzten Rezeptor sowie positive Kooperativität erzeugt wird. Die Verwendung weiterer Parameter, wie z.B. des Volumens oder der Methylierung auf der nicht-dominanten Seite des Moleküls, führt zu keiner besseren Korrelation in Bezug auf die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Serie 1 wurden für die Affinität zum freien Rezeptor (pK_A) deutlich schlechtere Korrelationen festgestellt. Es treten keine offensichtlichen Unterschiede bei der Verwendung beider Volumina, des Volumens und der dazu benachbarten Methylierung oder bei Kombinationen aus drei oder vier Parametern auf. Somit lässt sich die Affinität zum freien Rezeptor in Serie 2 nicht durch die Kombination verschiedener berechneter physikochemischer Parameter modellieren.

Durch die erhaltenen Ergebnisse konnten die Struktur-Wirkungsbeziehungen in Bezug auf die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor bestätigt werden. Es wurde deutlich, dass zur Erzielung von positiver Kooperativität die Kombination aus einem hochaffinen aromatischen Imid in direkter Nachbarschaft zu einer 2,2-Dimethylpropylkette essentiell ist.¹⁰⁴ Durch eine Dimethylierung auf der gegenüberliegenden Seite des Moleküls kann höchstens neutrale Kooperativität erzielt werden.

Wie in Kapitel 4 erläutert wurde, kann durch die Einführung von Alkylsubstituenten verschiedener Länge in Position 2 der lateralen Propylketten von W84-Derivaten (Methyl-, Ethyl-, Propyl-, *iso*-Butylgruppen) das Kooperativitätsverhalten der Verbindungen beeinflusst werden ($p\alpha = -0.47 - 0.17$). Daher sollte überprüft werden, ob die in den pharmakologischen Testungen ermittelten Kooperativitätswerte der in Tabelle 7 (Seite 82) dargestellten Verbindungen mit dem Volumen der substituierten Propylketten der Substanzen erklärt werden können. Zur Erweiterung des Datensatzes auf 13 Verbindungen wurde die Serie noch um drei in früheren Arbeiten^{82,103} hergestellte W84-Derivate ergänzt, die in Position 5 des Phthalimidringes durch eine Methylgruppe substituiert sind und in den Propylketten entweder keine oder eine zweifache Methylierung aufweisen. Es wurden für die Testverbindungen getrennt für beide Seiten des Moleküls nach der oben beschriebenen Vorgehensweise die

Volumina der lateralen Propylketten berechnet. Die Methylierung des Phthalimidringes wurde durch die Einführung einer Indikatorvariablen, die den Wert 0 oder 1 annehmen kann, berücksichtigt. Der Einfluss der Alkylsubstitution der Propylketten auf die Gleichgewichtsbindung konnte weder durch ein lineares noch durch parabolische oder bilineare Modelle erklärt werden. Der kreuzvalidierte multiple Korrelationskoeffizient Q^2 nahm für die verschiedenen Kombinationen der beschriebenen Parameter Werte von maximal 0.3 an. Um das Kooperativitätsverhalten der Verbindungen mit einem aussagekräftigen Modell beschreiben zu können, ist es sinnvoll, weitere in Position 2 der Propylkette substituierte Verbindungen zu synthetisieren und somit den Datensatz noch zu vergrößern. Vor allem die Einführung räumlich anspruchsvoller Substituenten könnte Aufschluss darüber geben, ob das Volumen der Alkylketten zur Erzielung von positiver Kooperativität einen bestimmten Wert nicht überschreiten sollte und einem „cut-off“-Phänomen unterliegt.

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Synthese und Charakterisierung allosterer Modulatoren muscarinischer Rezeptoren. Allosterer Modulatoren binden an einer topographisch anderen Stelle am Rezeptor als klassische orthostere Liganden (Agonisten, Antagonisten) und sind so in der Lage, die Dissoziation und die Assoziation orthosterer Agonisten und Antagonisten zu beeinflussen. Die Beeinflussung des Bindungsverhaltens ist vom allosteren Modulator selbst, vom betrachteten orthosteren Liganden und vom Rezeptorsubtyp abhängig. Durch allosterer Modulatoren kann die Gleichgewichtsbindung des Orthosters erhöht (= positive Kooperativität) oder erniedrigt werden (= negative Kooperativität).

Die fünf bekannten Subtypen des Muscarinrezeptors M_1 - M_5 unterscheiden sich vor allem in der Aminosäuresequenz der in den äußeren Bereichen des Rezeptorproteins vorhandenen Loops, während sie im Bereich des Rezeptorkanals, wo die orthostere Bindungsstelle lokalisiert ist, eine sehr hohe Sequenzhomologie aufweisen. Die gemeinsame Bindungsstelle allosterer Modulatoren des M_2 -Rezeptors befindet sich im weniger konservierten extrazellulären Bereich des Rezeptors. Somit sind allosterer Modulatoren im Gegensatz zu muscarinischen Agonisten oder Antagonisten, die bisher lediglich Subtypprävalenz aufweisen, in der Lage, spezifisch an einen der Rezeptorsubtypen zu binden. Dies eröffnet zahlreiche Möglichkeiten für den potentiellen therapeutischen Einsatz allosterer Modulatoren von Muscarinrezeptoren. Beispielsweise kann gezielt die Dissoziation eines subtypprävalenten orthosteren Agonisten oder Antagonisten von einem bestimmten Rezeptorsubtyp gehemmt werden, so dass für diesen orthosteren Liganden indirekt Subtypselektivität erzielt wird. Ein allosterer Modulator kann außerdem in der Lage sein, die Gleichgewichtsbindung des Orthosters nur an einem Subtyp zu erhöhen, während er sie an den anderen Subtypen erniedrigt. Durch den beschriebenen Wirkmechanismus und aufgrund der hohen Therapiesicherheit allosterer Modulatoren eröffnen sie neue Möglichkeiten in der Behandlung von Morbus Alzheimer, Schmerzen oder Organophosphatvergiftungen.

Als Leitstruktur zum Entwurf der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen diente die Bis(ammonium)alkanverbindung W84. Das Ziel der Arbeit bestand zunächst darin, diejenigen Strukturmerkmale, die auf die allosterer Potenz und die Gleichgewichtsbindung positiven Einfluss haben, in neuen symmetrischen und unsymmetrischen Hexamethonio-Derivaten zu vereinen. Die höchste allosterer Potenz konnte bisher durch die beidseitige Einführung eines 1,8-Naphthalimidrestes erzielt werden. Die doppelte Methylierung der

Propylkette in Kombination mit der Einführung einer Methylgruppe in den Phthalimidring führte erstmals zu positiver Kooperativität bei einem Hexamethonio-Derivat. Zur Synthese der Zielverbindungen wurden aus Gründen der präparativen Zugänglichkeit zwei verschiedene Wege gewählt.

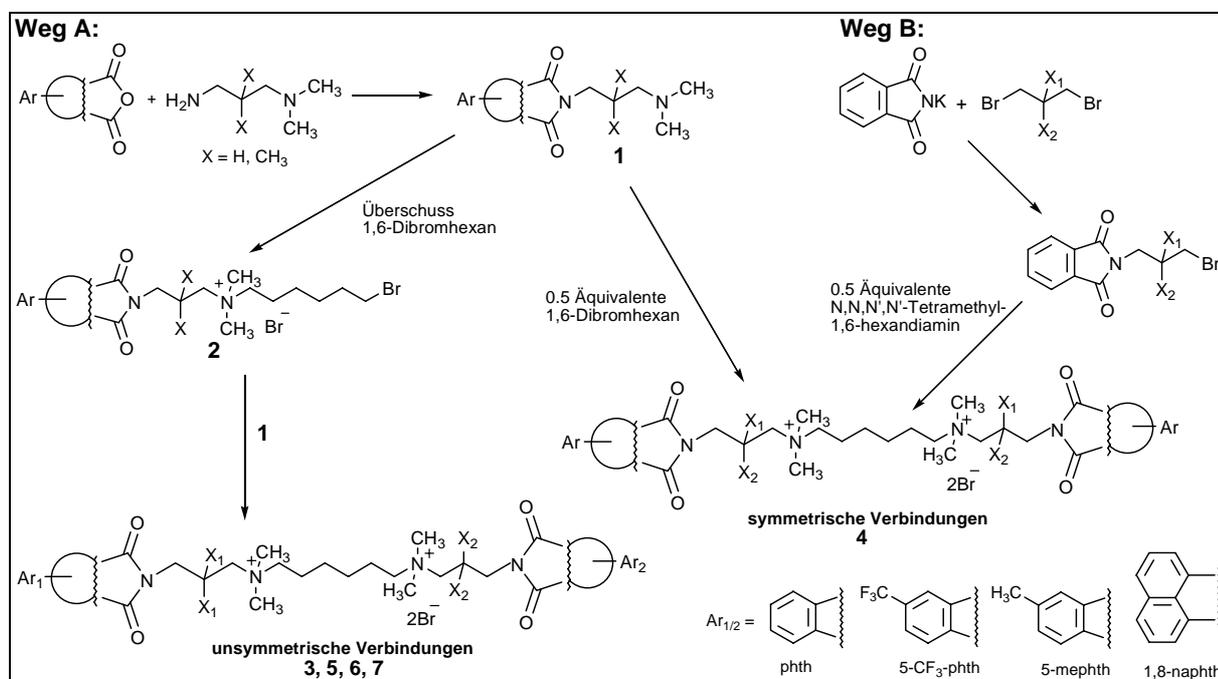


Abb. 61. Darstellung der zur Synthese der Zielverbindungen gewählten Reaktionswege A und B

Über Weg A wurden Phthalsäure- bzw. Naphthalsäureanhydridderivate in einer Kondensationsreaktion mit dem entsprechenden N,N-Dimethylpropan-1,3-diaminderivat, das in Position 2 eine bzw. zwei Methylgruppen tragen kann, zum jeweiligen Phthalimidopropylaminderivat **1** umgesetzt. Durch die Reaktion von zwei Äquivalenten des Amins mit einem Äquivalent 1,6-Dibromhexan wurden dann die symmetrischen W84-Derivate **4** erhalten. Um die unsymmetrischen W84-Derivate **3, 5, 6** und **7** zu erhalten, musste zunächst das jeweilige Phthalimidopropylamin einseitig durch 1,6-Dibromhexan ohne weiteres Lösungsmittel alkyliert werden. Im letzten Schritt wurden äquimolare Mengen der alkylierten Verbindung **2** und eines Phthalimidopropylamins **1** umgesetzt. Über Weg A war es möglich, verschiedene laterale aromatische Reste, wie Phthalimide, 5-Methylphthalimide und 1,8-Naphthalimide in die Moleküle einzuführen. Außerdem konnte die Position 2 der lateralen Propylketten mit einer Methyl- bzw. Dimethylgruppe substituiert werden. Mit der Absicht, die Lipophilie der Verbindungen bei gleich bleibendem Volumen zu erhöhen, erfolgte die Herstellung der zwei 5-Trifluormethylphthalimiderivate **4c** und **5c**, in denen die aromatische Methylgruppe isoster durch eine Trifluormethylgruppe ersetzt wurde.

Da sich im Laufe der Arbeit die Methylierung an Position 2 der Propylketten als kritische Position zur Beeinflussung der Gleichgewichtsbindung herausstellte, wurden Verbindungen hergestellt, die an den Propylketten sowohl unverzweigte als auch verzweigte Alkylgruppen verschiedener Länge tragen. Aus diesem Grund wurde Syntheseweg B entwickelt. Zunächst wurden in mehreren Stufen, ausgehend von Malonsäurediethylester, einfach und zweifach mit Ethyl-, Propyl- und *iso*-Butylgruppen substituierte 1,3-Dibrompropanderivate hergestellt. Diese wurden dann mit Kaliumphthalimid zu den jeweiligen 3-Brompropylphthalimiddervaten umgesetzt. Zwei Äquivalente dieser 3-Brompropylphthalimide reagierten mit einem Äquivalent N,N,N',N'-Tetramethyl-1,6-hexandiamin zu den entsprechenden symmetrischen W84-Derivaten. Es gelang jedoch auf diesem Weg nur die Synthese an der Propylkette einfach alkylierter Verbindungen, da bereits im Fall einer zweifachen Ethylierung aufgrund des Raumbedarfs der Alkylgruppen die Reaktion zu den Endstufen verhindert wurde.

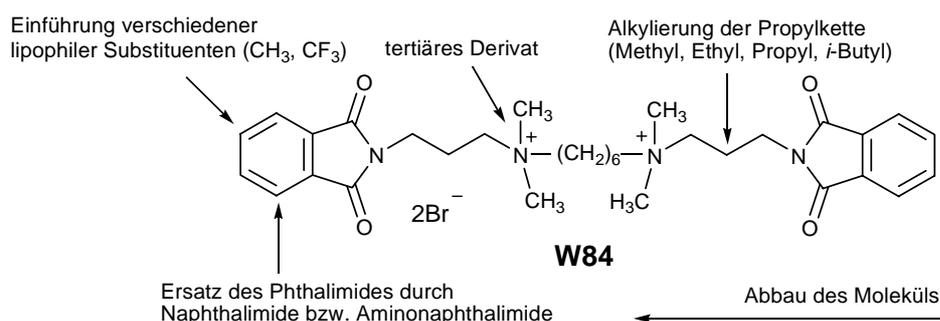


Abb. 62. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich durchgeführte strukturelle Variationen an der Leitstruktur W84

Von einer bisquartären Hexamethonio-Verbindung, die auf beiden Seiten des Moleküls 1,8-Naphthalimide trägt und vor Beginn dieser Arbeit das potenteste W84-Derivat darstellte, wurde das analoge tertiäre Derivat **9** hergestellt, für das eine höhere Wahrscheinlichkeit besteht, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden.

Da der einseitige Abbau von Hexamethonio-Derivaten, der in früheren Arbeiten durchgeführt wurde, zu einem starken Wirkungsverlust führte, wurde ein „halbes“ dimethyliertes Naphthalimiddervat **8** hergestellt. Dadurch sollte überprüft werden, ob derselbe Effekt auch bei Verbindungen mit hoher allosterer Potenz zu beobachten ist.

Ein weiteres Ziel der Arbeit bestand darin, stark fluoreszierende W84-Derivate herzustellen. Die fluoreszierenden Eigenschaften N-substituierter Naphthalimide könnten zur direkten Charakterisierung allosterer Interaktionen oder zur Verfolgung des „Rezeptor-Traffickings“ mittels Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie genutzt werden. Deshalb wurden in Position 3

und 4 des Naphthalimidringes des potentesten allosteren Modulators **3a** zur Verstärkung der Fluoreszenz Aminogruppen eingeführt (**3j**, **3k**). Die Synthese erfolgte durch Reduktion der entsprechenden Nitro-Derivate. In fluoreszenzspektroskopischen Messungen konnte gezeigt werden, dass die Fluoreszenz der Verbindungen durch die Einführung einer Aminogruppe in Position 4 des Naphthalimidringesystems deutlich verstärkt werden kann.

Hexamethonio-Derivate beeinflussen in nennenswertem Maße bisher nur die Bindung von Antagonisten am M₂-Rezeptor. Da die allosterische und die orthostere Bindungsstelle räumlich nahe zusammenliegen, wurde der Versuch unternommen, einen orthosteren Agonisten und einen allosteren Modulator in einem Molekül miteinander zu verknüpfen. Es wurden zwölf Hybridmoleküle aus einem Teil des hochaffinen allosteren Modulators **3a** und Derivaten des Muscarinagonisten Oxotremorin-M, verbunden durch aliphatische Spacer verschiedener Länge, hergestellt. Dazu wurden die synthetisierten agonistisch wirksamen Oxotremorin-M-Analoga in Acetonitril mit den Verbindungen **2i-C4**, **2i-C6** und **2i-C8** umgesetzt. In pharmakologischen Testungen soll aufgeklärt werden, ob es möglich ist, mit einem Agonist/Alloster-Hybridmolekül gleichzeitig die orthostere und die allosterische Bindungsstelle zu besetzen.

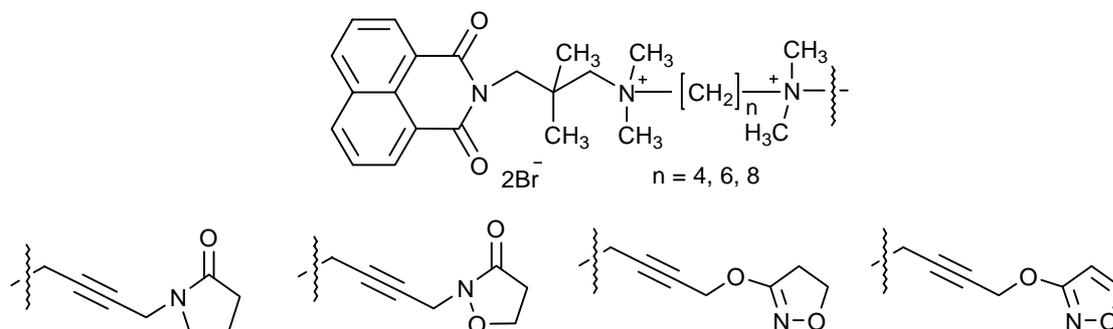


Abb. 63. Strukturen der hergestellten Agonist/Alloster-Hybridmoleküle

Es ist von großem Interesse zu wissen, ob die synthetisierten Phthalimidderivate unter den Bedingungen der pharmakologischen Testung, die in einem wässrigen Puffermedium durchgeführt wird, eine hinreichende Stabilität besitzen. Die Stabilitätsuntersuchung der Verbindungen erfolgte UV-spektroskopisch in Magnesium-Tris-Puffer (pH 7.3) über einen Zeitraum von 24 Stunden. Die Substanzen **3b**, **3f-3h**, **4i** und **6-9** waren über den gesamten Messzeitraum stabil, während bei allen übrigen Verbindungen eine Hydrolyse der Phthalimidstruktur und somit eine exponentielle Abnahme der Absorption zu beobachten war. Die Halbwertszeiten der Zersetzung lagen zwischen drei und zwölf Stunden. Somit wiesen

alle Verbindungen eine für die Durchführung der Radioligandbindungsstudien ausreichende Stabilität auf.

Da die Lipophilie von Arzneistoffen ein entscheidender Parameter für die Verfügbarkeit am Wirkort ist, wurden zusätzlich Lipophiliebestimmungen mittels Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie durchgeführt. Mit Hilfe von Korrelationen literaturbekannter $\log P$ -Werte einer Reihe einfach gebauter Standardsubstanzen mit deren $\log k'$ -Werten konnten über eine Kalibriergerade die $\log P$ -Werte der neu synthetisierten Verbindungen bestimmt werden. Alle getesteten Verbindungen weisen trotz der permanenten zweifach positiven Ladung eine überraschend hohe Lipophilie mit $\log P$ -Werten von 1.46 bis 3.16 auf. Offensichtlich wird die positive Ladung der Verbindungen durch die benachbarten Alkylsubstituenten sehr effektiv abgeschirmt. Ebenso trägt die Vergrößerung des aromatischen Ringsystems erwartungsgemäß zur Erhöhung der Lipophilie bei. Die $\log P$ -Werte der Verbindungen **3a**, **3f**, **3j**, **3l**, **4n**, **5c-5e**, **6** und **7** liegen innerhalb des zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke optimalen Bereichs von 1.5 - 2.5.

Die pharmakologische Testung der synthetisierten Verbindungen erfolgte durch Radioligandbindungsstudien an Membransuspensionen der Herzventrikel des Hausschweins. Der allosterische Effekt der Testsubstanzen wurde indirekt über die Verzögerung der Dissoziation des radioaktiv markierten orthosteren Antagonisten [^3H]N-Methylscopolamin ([^3H]NMS) bestimmt. Diejenige Konzentration, bei der die Dissoziation des Radioliganden um die Hälfte reduziert wird, ist als $\text{EC}_{50,\text{diss}}$ -Wert definiert, der ein Maß für die Affinität des allosteren Modulators zum NMS-besetzten Rezeptor darstellt. Über Gleichgewichtsbindungsexperimente wurden Informationen über die Affinität der allosteren Modulatoren zum freien Rezeptor sowie über die Kooperativität zwischen dem allosteren und dem orthosteren Liganden gewonnen.

Alle bisquartären Testverbindungen weisen deutlich höhere Affinitätswerte als die Leitstruktur W84 auf. Die Trifluormethyl-derivate **4c** und **5c** verfügen überraschenderweise über eine geringere allosterische Potenz als die entsprechenden methylsubstituierten Verbindungen. Somit konnte die Vermutung, dass eine Erhöhung der Lipophilie mit einer Steigerung der allosterischen Potenz einhergeht, nicht bestätigt werden. Die 1,8-Naphthalimid-substituierten Verbindungen mit gleichzeitiger zweifacher Methylierung (Verbindungen **3** und **4i**) erwiesen sich als hochaffine und zugleich positiv kooperativ. Die wirksamste Verbindung dieser Serie ist Verbindung **3a** (*Naphmethonium*), deren Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor im einstelligen nanomolaren Bereich liegt ($\text{pEC}_{50} = 8.36$). Somit stellt *Naphmethonium* den potentesten in der Literatur bekannten allosteren Modulator des

M₂-Rezeptors dar. Gleichzeitig erhöht *Naphmethonium* die Gleichgewichtsbindung von NMS, d.h. es resultiert positive Kooperativität ($p\alpha = 0.37$).

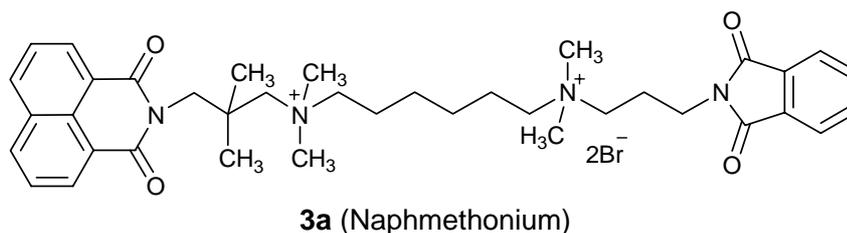


Abb. 64. Strukturformel des potentesten synthetisierten allosteren Modulators **3a**

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass zur Erhöhung der Gleichgewichtsbindung und für eine große Affinität die Kombination aus dem hochaffinen 1,8-Naphthalimidrest mit einer 2,2-Dimethylpropylkette auf der gleichen Molekülseite notwendig ist. Die tertiäre Verbindung **9** sowie Verbindung **8**, die aus einem unilateralen Abbau der Struktur von *Naphmethonium* hervorgeht, weisen ebenfalls eine hohe allosterische Potenz auf.

Durch die Einführung verschiedener Alkylgruppen in die Propylkette konnte im Zusammenhang mit der aromatischen Substitution die kritische Stelle im Molekül zur Beeinflussung des Kooperativitätsverhaltens von W84-Derivaten bestätigt werden. So kann neutrale Kooperativität für beidseitig mit Phthalimidresten substituierte W84-Derivate sowohl durch eine einseitige Dimethylierung als auch durch eine Einführung von Propylresten (**4o**) auf beiden Seiten des Moleküls erzielt werden. Der Einsatz von Alkylgruppen mit höherem Raumbedarf (*iso*-Butylgruppen, **4p**) führt zu einer Verminderung der Gleichgewichtsbindung von NMS.

Mittels QSAR-Analysen wurden die in den pharmakologischen Testungen ermittelten Affinitäten zum freien und zum NMS-besetzten Rezeptor sowie die Kooperativitätswerte in Zusammenhang mit verschiedenen physikochemischen Parametern gebracht. Für die Affinität zum freien und zum NMS-besetzten Rezeptor wurden unterschiedliche Korrelationen mit den physikochemischen Eigenschaften gefunden. Dies deutet darauf hin, dass sich die Bindungsstellen des freien und des besetzten Rezeptors strukturell voneinander unterscheiden. Die Affinität zum NMS-besetzten Rezeptor der Verbindungen der Serie 2 lässt sich durch das Volumen eines lateralen N-Methylimids in Kombination mit der benachbarten Dimethylierung der Propylkette mit folgender Gleichung beschreiben:

$$p(\alpha K_A) = 0.0142 (\pm 0.0032) \text{Vol}_1 + 0.731 (\pm 0.25) \text{Met}_1 - 1.111 \pm 1.86$$

Somit wird deutlich, dass die Verbindungen eine in Bezug auf die allosterische Potenz dominante Seite besitzen und dass zur Erzielung von positiver Kooperativität die Kombination aus einem hochaffinen aromatischen Imid in direkter Nachbarschaft zu einer 2,2-Alkylpropylkette essentiell ist.

7 Summary

The present work deals with the synthesis and characterization of allosteric modulators of muscarinic receptors. Allosteric modulators bind to a topographically different site than classical orthosteric ligands and, thus, are capable of influencing both the dissociation and the association of orthosteric agonists and antagonists. The effect on ligand binding depends on the type of allosteric modulator, the type of orthosteric ligand and the receptor subtype. Equilibrium binding of orthosteric ligands can either be increased (= positive cooperativity) or decreased (= negative cooperativity) by allosteric modulators.

The five known subtypes of muscarinic receptors M_1 - M_5 can be discriminated by the amino acid sequence of the external loops of the receptor protein. The orthosteric binding pocket is located deeper in the receptor channel and exhibits a highly conserved structure whereas the common allosteric site is located in less conserved, extracellular regions. In contrast to muscarinic agonists or antagonists exhibiting subtype prevalence only, allosteric modulators are capable of binding selectively to specific subtypes opening numerous possibilities for the therapeutic use of allosteric modulators of muscarinic receptors. For instance, the dissociation of a subtype prevalent orthosteric agonist or antagonist from a given receptor subtype can be inhibited resulting in indirect subtype-selectivity for that orthosteric ligand. An allosteric modulator can also have the ability to increase equilibrium binding at one subtype only whereas equilibrium binding at other subtypes is decreased. As a result of the described mode of action and because of their therapeutic safety, allosteric modulators open new perspectives for the treatment of Alzheimer's disease, pain or organophosphate poisoning.

The bis(ammonio)alkane-type compound W84 served as a lead for the compounds synthesized in this work. The goal of this work was to combine the structural features that influence allosteric potency and equilibrium binding in new symmetrical and non-symmetrical hexamethonio-derivatives. The highest allosteric potency was achieved so far by the introduction of 1,8-naphthalimide moieties on both sides. Double methylation of the propyl chain in combination with the introduction of a methyl group into the phthalimide ring system led to positive cooperativity for a hexamethonio-derivative for the first time. Because of the synthetical accessibility two different pathways for the synthesis of the target compounds were developed.

Via pathway A, phthalic- and naphthalic anhydride derivatives were converted in a condensation reaction with the corresponding *N,N*-dimethylpropane-1,3-diamines to the phthalimidopropylamine derivatives **1**. Some *N,N*-dimethylpropane-1,3-diamines were

substituted by one or two methyl groups, respectively. The symmetrical W84-derivatives **4** were obtained by the conversion of two equivalents of the amine with one equivalent 1,6-dibromohexane. To obtain the non-symmetrical W84-derivatives **3**, **5**, **6** and **7** the corresponding phthalimidopropylamines were unilaterally alkylated by 1,6-dibromohexane. In the last step equimolar amounts of the monoalkylated compound **2** and a phthalimidopropylamine **1** were connected. Using this pathway it was possible to introduce different aromatic moieties into the molecules, for example phthalimides, 5-methylphthalimides and 1,8-naphthalimides. Moreover, position 2 of the lateral propylene chains could be substituted with methyl and dimethyl groups. To elevate the lipophilicity without an increase in the volume compounds **4c** and **5c** were synthesized. The methyl group was replaced isosterically with a trifluoromethyl group.

During our studies the methylation of position 2 of the propylene chains was identified as critical position for the influence on equilibrium binding. Therefore, compounds with varying alkyl substituents of different length in the propylene chains were synthesized. For that reason reaction pathway B was developed. First, starting from malonic diethyl ester, 1,3-dibromopropane derivatives carrying one or two ethyl-, propyl- or *iso*-butyl groups, respectively, were synthesized first. The latter were converted to the corresponding 3-bromopropylphthalimid derivatives with potassium phthalimide. In the last step two equivalents of the bromopropylphthalimides reacted with one equivalent N,N,N',N'-tetramethyl-1,6-hexane-diamine to the symmetrical hexamethonio-derivatives. However, on this pathway only the synthesis of double alkylated compounds was successful. Due to the sterical requirements of alkyl groups larger than the diethyl moiety the reaction to the target compounds did not occur.

Prior to this work, a hexamethonio-derivative carrying the 1,8-naphthalimide moiety on both sides of the molecule was the most potent allosteric modulator. Hence, the analogous tertiary W84-derivative **9** for which the probability to pass the blood-brain-barrier is higher was synthesized.

In earlier studies the unilateral shortening of W84-derivatives resulted in a strong decrease in allosteric potency. Thus, a „half“ dimethylated naphthalimide derivative **8** was synthesized to verify if the same is true for compounds with high allosteric potency.

A further aim of the work was to synthesize highly fluorescent W84-derivatives. The fluorescent properties of N-substituted naphthalimides could be utilized for the direct characterization of allosteric interactions or for the tracing of receptor trafficking by means of fluorescence correlation spectroscopy. Therefore, to intensify the fluorescence, amino groups were introduced in positions 3 and 4 of the naphthalimide moiety of the most potent allosteric

modulator **3a**, resulting in compounds **3j** and **3k**. The synthesis was carried out by reduction of the corresponding nitro derivatives. In fluorescence measurements it was demonstrated that the intensity of the fluorescence is increased by the introduction of an amino group in position 4 of the naphthal imide ring system.

Until now, only the binding of antagonists of the M₂ receptor was influenced by hexamethonio-derivatives in a noteworthy dimension. Because of the spatial proximity of the orthosteric to the allosteric binding site it was tried to combine an agonist and an allosteric modulator in one molecule. Twelve hybride molecules consisting of a part of the highly affin allosteric modulator **3a** and of derivatives of the muscarinic agonist oxotremorine-M, connected by aliphatic spacers of different chain lengths, were synthesized. For this purpose, the synthesized oxotremorine-M analogues were converted with compounds **2i-C4**, **2i-C6** und **2i-C8**. In the subsequent pharmacological evaluation it will be elucidated if it is possible for an agonist/alloster-hybride molecule to bind simultaneously to the orthosteric and the allosteric site.

As the pharmacological testing of the target compounds is effected in an aqueous buffer medium it is of high interest whether the compounds are stable under the course of the testing. The analysis of the stability of the compounds was carried out by means of UV-spectroscopy in magnesium/Tris-buffer (pH 7.3) over a period of 24 hours. Compounds **3b**, **3f-3h**, **4i** and **6-9** were stable over the whole period whereas all other compounds exhibited the hydrolysis of the phthalimide structure. The half times of the hydrolysis were between three and twelve hours, indicating sufficient stability for the binding studies.

As the lipophilicity of drugs is an important parameter for their availability at the site of action the lipophilicity of the compounds was determined by high performance liquid chromatography. Using the correlation of the log*P*-values of a series of simple standard substances with their log*k'*-values, the log*P*-values of the synthesized compounds were determined by regression analysis. Despite their twofold permanent positive charge all tested compounds exhibit a surprisingly high lipophilicity, resulting in log*P*-values in the range from 1.46 to 3.16. It seems that if the neighbored alkyl groups are able to shield the charge effectively. As expected, the enlargement of the aromatic moieties contributes to the increase in lipophilicity as well. The log*P*-values of the compounds are found within the log*P*-range of 1.5 to 2.5 that is required for the passage of the blood-brain barrier.

The pharmacological testing of the compounds was accomplished by radioligand binding studies in homogenates of porcine heart ventricles. The allosteric effect of the compounds was determined by measurement of the inhibition of the dissociation of the radioactive marked

orthosteric antagonist [³H]N-methylscopolamine ([³H]NMS). The concentration at which the dissociation of the radioligand is half-maximally reduced is defined as the EC_{50,diss}-value that serves as a measure for the affinity of the allosteric modulator to the NMS-liganded receptor. In equilibrium binding studies information about the affinity of the allosteric modulators to the free receptor and about the cooperativity between the allosteric and the orthosteric ligand were obtained.

All bisquaternary compounds revealed higher affinity values than the lead structure W84. Surprisingly, the trifluoromethyl-derivatives **4c** and **5c** exhibit a smaller allosteric potency than the corresponding methylsubstituted compounds. Accordingly, the presumption that an increase in lipophilicity is associated with an increase in allosteric potency could not be confirmed. By the simultaneous introduction of an 1,8-naphthalimide moiety and a double methylation at position 2 of the neighbored propylene chain (compounds **3** and **4i**) highly affinity and at the same time positively cooperative compounds could be synthesized. The most potent compound of that series is compound **3a** (*naphmethonium*) that reveals an affinity to the NMS-occupied receptor in the low nanomolar range (pEC₅₀ = 8.36). Thus, *naphmethonium* represents the most potent allosteric modulator of the M₂ receptor known in the literature. At the same time equilibrium binding of NMS is elevated, resulting in positive cooperativity (pα = 0.37). Taking all results together, the highest affinity values in combination with positive cooperativity were obtained for W84-derivatives carrying at least one naphthalimide moiety directly connected to a 2,2-dimethylpropyl chain. The synthesized tertiary compound **9** and compound **8**, resulting from an unilateral shortening of *naphmethonium*, also showed high allosteric potency.

By the introduction of different alkyl groups in the propylene chains it was possible to verify the critical position with respect to the cooperative behaviour of W84-derivatives. For compounds carrying phthalimide moieties on both sides neutral cooperativity can be achieved by unilateral introduction of a dimethyl group as well as by introduction of a propyl group on both sides of the molecule (**4o**). The use of alkyl groups with higher spatial requirements (*iso*-butyl groups, **4p**) resulted in reduced NMS equilibrium binding.

QSAR-studies were performed in order to check whether the pharmacologically determined affinities to the free and to the NMS-occupied receptor and for the cooperativity values, respectively, can be explained by physicochemical properties of the compounds. Different correlations were found for the affinity to the free and to the NMS-liganded receptor, indicating that the binding sites of the free and of the occupied receptor are structurally different. The affinity to the NMS-occupied receptor of the compounds of series 2 can be

described using the volume of one lateral N-methylimide in combination with the dimethylation of the neighbored propylene chain by the following equation:

$$p(\alpha K_A) = 0.0142 (\pm 0.0032) \text{Vol}_1 + 0.731 (\pm 0.25) \text{Met}_1 - 1.111 \pm 1.86$$

Summarizing these results it can be concluded that the compounds feature a dominant side with regard to allosteric potency. To achieve positive cooperativity the combination of an affinity generating lateral aromatic imide moiety connected to a 2,2-alkylated propylene chain is essential.

8 Experimenteller Teil

8.1 Allgemeine Angaben

8.1.1 Geräte

¹H-NMR-Spektren: Bruker Kernresonanzspektrometer AV 400 (400.132 MHz)
Bruker Kernresonanzspektrometer AC 250 (250.132 MHz)
Fa. Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, D
Varian Mercury VxWorks Kernresonanzspektrometer (300.062 MHz)
Fa. Varian Inc., Palo Alto, CA, USA

Als interner Standard wurden die Mittelpunkte der Signale der deuterierten Lösungsmittel DMSO-d₆ (2.50 ppm), CDCl₃ (7.27 ppm), D₂O (4.79 ppm) und CH₃OH-d₄ (3.31 ppm) verwendet.

¹³C-NMR-Spektren: Bruker Kernresonanzspektrometer AV 400 (100.613 MHz)
Bruker Kernresonanzspektrometer AC 250 (62.9 MHz)

Als interner Standard wurden die Mittelpunkte der Signale der deuterierten Lösungsmittel DMSO-d₆ (39.7 ppm), CDCl₃ (77.0 ppm) und CH₃OH-d₄ (49.8) ppm verwendet.

Bei der Beschreibung der ¹H-NMR-Spektren werden folgende Abkürzungen verwendet:
s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, t = Triplett, q = Quartett, qu = Quintett, sext = sextett, sept = septett, m = Multipllett, br = verbreitertes Signal. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm, die Kopplungskonstanten *J* in Hz angegeben.

IR-Spektren: Biorad PharmalyzIR FT-IR Spektrometer,
Fa. Biorad, Cambridge, MA, USA

Flüssigkeiten wurden als Film zwischen NaCl-Platten, Feststoffe mit einer Diamant-ATR-Einheit aufgenommen.

UV-Spektren: Varian Cary 50 Bio UV-VIS Spectrophotometer
Fa. Varian GmbH, Darmstadt, D

Fluoreszenzspektren: Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrometer
Fa. Varian GmbH, Darmstadt, D

Schmelzpunkte: Sanyo Gallenkamp Schmelzpunktbestimmungsapparatur
Fa. Sanyo Gallenkamp, Loughborough, UK
alle Werte sind unkorrigiert

8.1.2 Chromatographie und Lösungsmittel

Dünnschichtchromatographie: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Fa. Merck (Darmstadt, D)

Säulenchromatographie: Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm (70-230 mesh), Fa. Merck

HPLC: Die HPLC-Messungen wurden an einem Agilent System 1100 LC (Fa. Agilent, Böblingen, D), bestehend aus einem Vakuumentgaser, einem binären Pumpensystem, einem Autosampler, einem Säulenofen, einem UV/VIS-Diodenarraydetektor und einer LC 3D ChemStation, ausgestattet mit 3DSoftware (Version 8.04), durchgeführt.

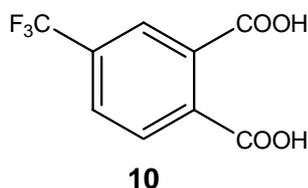
Säule: LiChroCART[®] 125-4 HPLC Cartridge, LiChrospher[®] 100, RP18e (5µm) (Fa. Merck)

Chemikalien und Lösungsmittel:

Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen VWR International (Darmstadt, D), Acros Organics (Geel, Belgien), Sigma-Aldrich (Deisenhofen, D) und Lancaster (Frankfurt a. M., D) bezogen. Falls erforderlich wurden Diethylether und THF durch Einpressen von Natrium-Draht, Methanol und Ethanol mit Magnesiumspänen und DMF über Calciumhydrid chemisch getrocknet. Für die HPLC-Messungen wurden Methanol LiChrosolv[®] (Fa. VWR International) und N,N-Dimethylhexylamin (Fa. Sigma-Aldrich) eingesetzt.

8.2 Synthesevorschriften und analytische Daten

8.2.1 Synthese von 4-Trifluormethylphthalsäure⁷²



5.55 g (0.027 mol) 4-Chlor-3-cyanobenzoltrifluorid und 1.32 g (0.027 mol) Natriumcyanid werden in 50 ml wasserfreiem DMF zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Der nach der Entfernung des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird 48 Stunden in einer Mischung aus 30 ml 40%iger Natronlauge und 15 ml Ethanol unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen schüttelt man die basische Lösung drei Mal mit 50 ml Diethylether aus. Danach wird die wässrige Phase mit Salzsäure angesäuert und ebenfalls drei Mal mit 50 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die organische Phase wird im Vakuum abdestilliert. Das braune Rohprodukt wird aus Benzol unter Zusatz weniger Tropfen Ethanol umkristallisiert. Den resultierenden hellbraunen Niederschlag filtriert man ab und trocknet ihn im Vakuum.

Molekulargewicht: 234.1 g/mol

Summenformel: C₉H₅F₃O₄

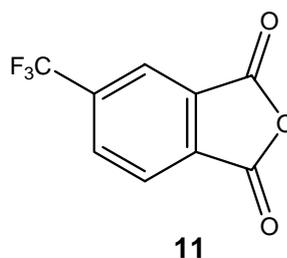
Schmelzpunkt: 168°C (Lit.: 171°C)

Ausbeute: 3.25 g (52%, Lit.: 58%)

IR [cm⁻¹]: 682, 850, 1091, 1128, 1261, 1330, 1698, 2891

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 7.87 (d, *J* 7.8, 1H), 7.98 (m, 2H)

8.2.2 Synthese von 5-Trifluormethylphthalsäureanhydrid⁷³



3.24 g (0.014 mol) 4-Trifluormethylphthalsäure **10** werden in 40 ml Acetanhydrid zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Der Überschuss Acetanhydrid wird durch Destillation

entfernt und der Rückstand wird im Vakuum bei 145°C / 15 mbar destilliert. Man wäscht das halbfeste Rohprodukt mit einer Mischung aus Diethylether und Petrolether (3:5) und trocknet die erhaltenen weißen Kristalle im Vakuum.

Molekulargewicht: 216.1 g/mol

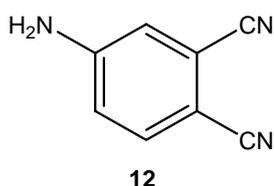
Summenformel: C₉H₃F₃O₃

Schmelzpunkt: 63°C (Lit.: 62°C)

Ausbeute: 1.22 g (41%, Lit.: 92%)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 8.19 (d, 2H, *J* 1.0), 8.30 (s, 1H)

8.2.3 Synthese von 4-Aminophthalsäuredinitril



5.19 g (0.03 mol) 4-Nitrophthalsäuredinitril werden in 150 ml Ethanol 96% gelöst. Der Reaktionsansatz wird unter Verwendung von Palladium/Kohle-Katalysator (10%) für 24 Stunden bei 3.5 atm an der Schüttelapparatur hydriert. Nach beendeter Reaktion filtert man den Katalysator ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das rot-braune Rohprodukt kann aus Methanol umkristallisiert werden, ist jedoch für die weitere Umsetzung sauber genug.

Molekulargewicht: 143.2 g/mol

Summenformel: C₈H₃N₃

Schmelzpunkt: 181°C

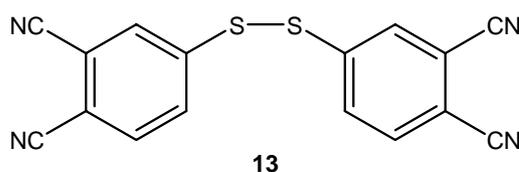
Ausbeute: 3.48 g (81%)

IR [cm⁻¹]: 828, 862, 1263, 1348, 1595, 1624, 2211, 3377, 3482

¹H-NMR (250 MHz, DMSO): 6.86 (dd, *J* 2.4, 8.6, 1H), 7.01 (d, *J* 2.4, 1H), 7.63 (d, *J* 8.6, 1H)

¹³C-NMR: 97.9, 115.7, 153.3 (alle C_{ar}), 117.1, 117.4, 135.1 (alle CH_{ar}), 116.6, 117.7 (beide CN)

8.2.4 Synthese von Bis(3,4-dicyanophenyl)disulfid⁷⁴



Es werden 1.43 g (10 mmol) 4-Aminophthalsäuredinitril **12** in 20 ml 20%iger Salzsäure unter leichtem Erwärmen gelöst. Die Mischung wird auf eine Temperatur von unter 5°C abgekühlt. Dann werden unter heftigem Rühren 10 ml einer 2.5 molaren Natriumnitritlösung in Wasser zugetropft, so dass die Temperatur 5°C nicht übersteigt. Das gebildete Diazoniumsalz wird direkt weiter umgesetzt. Zur Herstellung einer 5 mM Na₂S₂-Lösung werden 0.15 g (5 mmol) pulverisierter Schwefel zu einer Lösung von 1.2 g (5 mmol) Na₂S₂O₉·9H₂O in 50 ml Wasser gegeben. Man rührt die Mischung bei 80°C bis der Schwefel komplett gelöst ist und eine intensiv gelbe Lösung entsteht. Die erkaltete Na₂S₂-Lösung wird dann bei 0-5°C zur Lösung des Diazoniumsalzes zugetropft, wobei sich sofort ein voluminöser oranger Niederschlag bildet. Der Niederschlag wird abfiltriert und getrocknet. Anschließend wird das Rohprodukt mehrere Stunden bei Raumtemperatur in Aceton gerührt. Man filtriert den unlöslichen Rückstand ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum, so dass man einen gelben Feststoff erhält. Dieser wird mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, CH₂Cl₂/Aceton 15:1, R_f = 0.66) gereinigt.

Molekulargewicht: 318.4 g/mol

Summenformel: C₁₆H₆N₄S₂

Schmelzpunkt: 105°C (Lit.: 117-119°C)

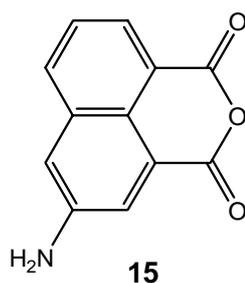
Ausbeute: 0.13 g (16%, Lit.: 52%)

IR [cm⁻¹]: 771, 834, 1484, 1582, 1600, 2232, 3080, 3300

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 8.05 (d, *J* 1.8), 8.10 (s), 8.34 (d, *J* 1.8)

¹³C-NMR: 113.3, 115.5, 115.9, 128.5, 131.2, 131.3, 134.7, 143.0

8.2.5 Synthese von 3-Amino-1,8-naphthalsäureanhydrid⁷⁷



4.86 g (20 mmol) 3-Nitro-1,8-naphthalsäureanhydrid und 0.7 g Palladium-Kohle-Katalysator (10%) werden in 150 ml DMF gegeben. Man hydriert den Reaktionsansatz über Nacht an der Schüttelapparatur bei 3 atm. Nach beendeter Reaktion wird der Katalysator abfiltriert. Die resultierende Lösung wird auf 400 ml Eiswasser gegossen. Der entstandene gelbe, voluminöse Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum über P_2O_5 getrocknet.

Molekulargewicht: 213.2 g/mol

Summenformel: $C_{12}H_7NO_3$

Schmelzpunkt: $>300^\circ C$ (Lit.: $>300^\circ C$)

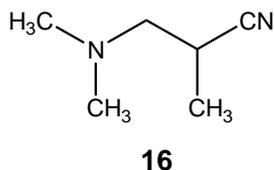
Ausbeute: 3.43 g (81%, Lit.: 91%)

IR [cm^{-1}]: 738, 775, 876, 1011, 1280, 1329, 1446, 1575, 1720, 1752, 3372, 3479

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7.35 (d, J 2.0, 1H), 7.64 (t, J 7.7, 1H), 7.95 (d, J 2.0, 1H), 8.06-8.11 (m, 2H)

^{13}C -NMR: 118.6, 119.4, 123.0, 133.8, 148.3 (alle C_{ar}), 112.8, 123.2, 127.3, 127.4, 132.7 (alle CH_{ar}), 161.0, 161.2 (C=O)

8.2.6 Synthese von 3-(N,N-Dimethylamino)-2-methylpropannitril⁷⁸



33.5 g (0.5 mol) Methacrylnitril werden in 100 ml wasserfreiem Methanol gelöst. Man leitet unter Eiskühlung und Rühren langsam 45 g (1 mol) gasförmiges Dimethylamin in die Lösung ein. Der Ansatz wird vier Tage bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel sowie nicht umgesetztes Dimethylamin werden im Vakuum abgezogen. Man destilliert den flüssigen

Rückstand fraktioniert im Vakuum (Edukt 30°C/30 mbar, Produkt 76°C/22 mbar), als Endprodukt erhält man eine farblose Flüssigkeit.

Molekulargewicht: 112.2 g/mol

Summenformel: C₆H₁₂N₂

Siedepunkt: 76°C / 22 mbar

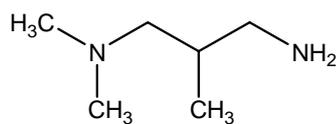
n_D^{20} : 1.4219 (Lit.: 1.4220)

Ausbeute: 47 g (84%, Lit.: 91%)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): 1.28 (d, *J* 7.0, -CH₃), 2.26 (s, N(CH₃)₂), 2.30 (dd, *J* 6.1, 12.2, -CH₂-), 2.56 (dd, *J* 8.5, 12.2, -CH₂-), 2.73 (m, -CH-)

¹³C-NMR: 15.8 (-CH₃), 24.6 (-CH-), 45.4 (N(CH₃)₂), 62.4 (-CH₂-), 122.4 (CN)

8.2.7 Synthese von N,N,2-Trimethylpropan-1,3-diamin



17

10 g (0.26 mol) Lithiumaluminiumhydrid werden in 300 ml wasserfreiem Diethylether suspendiert. Unter Eiskühlung werden 20.2 g (0.18 mol) der Verbindung **15**, gelöst in 25 ml wasserfreiem Diethylether, langsam zugetropft, so dass die Lösung schwach siedet. Der Reaktionsansatz wird vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt; dann hydrolysiert man vorsichtig mit Eiswasser unter Eiskühlung. Der Niederschlag wird abfiltriert und die Lösung über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der Rückstand im Vakuum fraktioniert destilliert.

Molekulargewicht: 116.2 g/mol

Summenformel: C₆H₁₆N₂

Siedepunkt: 58°C / 23 mbar

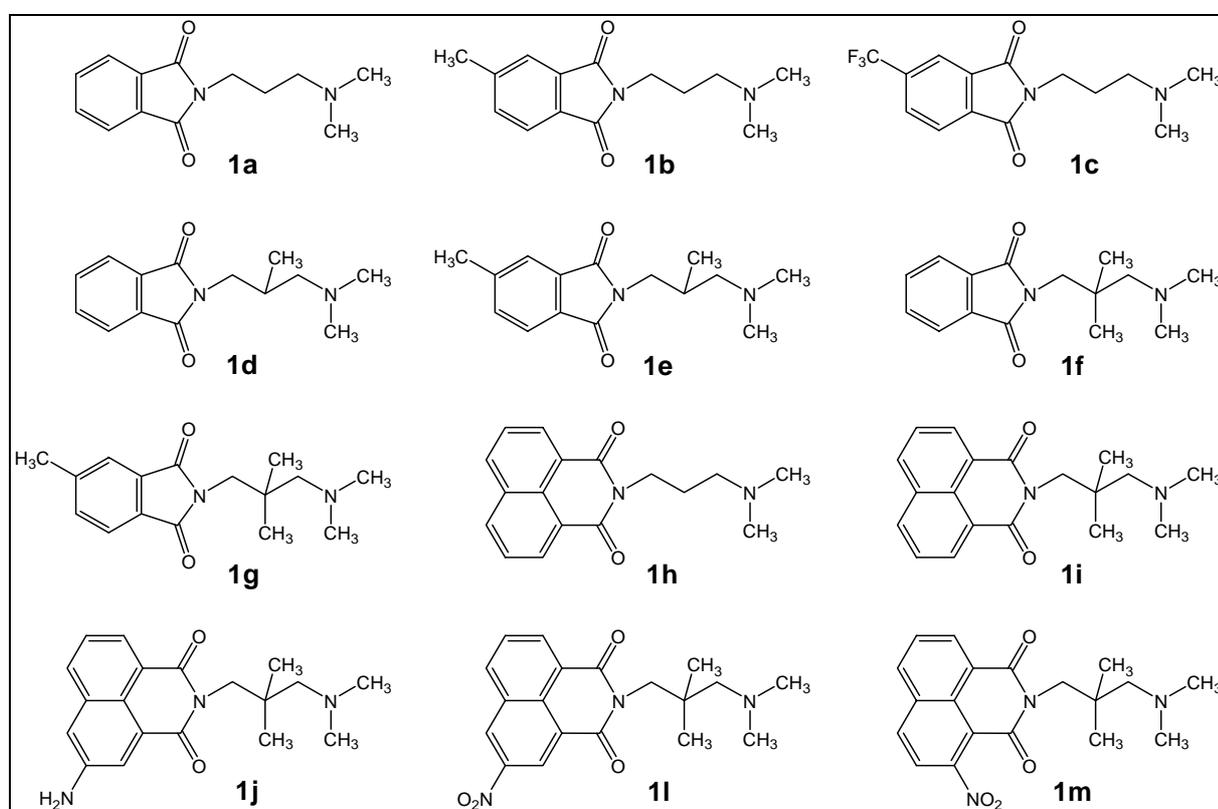
n_D^{20} : 1.4337

Ausbeute: 14.4 g (69%)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): 0.76 (d, J 7.0, $-\text{CH}_3$), 1.59 (m, $-\text{CH}-$), 1.93 (dd, J 6.6, 12.1, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$), 2.07 (s, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.08 (dd, verdeckt, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$), 2.46 (dd, J 6.1, 12.5, $\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$), 2.59 (dd, J 5.8, 12.5, $\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$)

$^{13}\text{C-NMR}$: 33.6 ($-\text{CH}-$), 47.1 ($-\text{CH}_2\text{NH}_2$), 65.1 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$), 45.7 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

8.2.8 Synthese der N-[3-(N',N'-Dimethylamino)propyl]-phthalimide bzw. -naphthalimide



Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Verbindungen 1a-1m:

0.02 mol der entsprechenden Phthalsäureanhydrid- bzw. Naphthalsäureanhydridderivate und 0.02 mol des jeweiligen N,N-Dimethylpropan-1,3-diaminderivates werden unter Zusatz einer katalytischen Menge p-Toluolsulfonsäure in 100 ml Toluol mehrere Stunden am Wasserabscheider unter Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsverlauf wird mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1). Nach dem Abkühlen der Reaktionslösung wird das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Die weitere Aufarbeitung erfolgt entweder nach Methode A oder Methode B.

A) Der ölige oder feste Rückstand wird in Dichlormethan gelöst und säulen-chromatographisch gereinigt (Kieselgel, CH₂Cl₂/CH₃OH 1:1, R_f = 0.4-0.6).

B) Der feste Rückstand wird aus Ethanol umkristallisiert. Bereits beim Abkühlen auf Raumtemperatur entsteht ein Niederschlag, zur Vervollständigung der Fällung wird auf 4°C abgekühlt. Man filtriert den Feststoff ab, wäscht mit kaltem Ethanol und trocknet im Vakuum über P₂O₅.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Reaktions- zeit [h]	Methode	Ausbeute	Mp [°C]	Beschreibung
1a	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂	232.3	2	A	85%	39	weißes Wachs
1b	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₂	246.3	3	A	82%	Öl	gelbes Öl
1c	C ₁₄ H ₁₅ F ₃ N ₂ O ₂	300.3	2	A	70%	54	weißes Pulver
1d	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₂	246.3	4	A	64%	62	weiße Kristalle
1e	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O ₂	260.3	3	A	75%	52	weißes Pulver
1f	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O ₂	260.3	7	B	63%	88	weiße Kristalle
1g	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂	274.4	7	B	43%	91	weiße Kristalle
1h	C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₂	282.3	3	A	88%	119	beiges Pulver
1i	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₂	310.4	10	B	60%	113	hellbraunes Pulver
1j	C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O ₂	325.4	5	B	88%	159	gelbes Pulver
1l	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O ₄	355.4	2	B	89%	126	braunes Pulver
1m	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O ₄	355.4	3	B	95%	141	beiges Pulver

Tabelle 13. Analytische Daten der Verbindungen **1a-1m**

Verb.	IR-Daten [cm ⁻¹]
1a	719, 889, 958, 1026, 1211, 1333, 1367, 1394, 1695, 1787, 2764, 2949
1b	739, 838, 1030, 1099, 1366, 1390, 1439, 1703, 1768, 2764, 2943
1c	694, 750, 864, 1027, 1100, 1126, 1165, 1320, 1699, 2361, 2766, 2943
1d	725, 794, 904, 1038, 1321, 1388, 1462, 1710, 1762, 2767, 2819
1e	742, 843, 1034, 1295, 1321, 1386, 1434, 1708, 1761, 2765, 2932
1f	709, 912, 1040, 1074, 1346, 1379, 1396, 1709, 1767, 2771, 2820, 2970
1g	742, 758, 1042, 1072, 1336, 1377, 1703, 1769, 2770, 2820, 2939
1h	775, 844, 1038, 1057, 1232, 1340, 1587, 1651, 1659, 2762, 2942
1i	780, 843, 923, 1039, 1236, 1330, 1363, 1588, 1662, 1699, 2763, 2960
1j	744, 779, 1035, 1306, 1336, 1445, 1620, 1650, 1697, 2776, 3238
1l	759, 794, 1043, 1095, 1255, 1324, 1345, 1665, 1709, 2770, 2943, 3047
1m	765, 787, 1039, 1094, 1224, 1254, 1327, 1529, 1659, 1703, 2773, 2967

Tabelle 14. IR-Daten der Verbindungen **1a-1m**

	1a	1b	1c*	1d	1e	1f
N_{Imid}-CH₂-	3.73 (t, <i>J</i> 7.2)	3.71 (t, <i>J</i> 7.2)	3.63 (t, <i>J</i> 7.2)	3.45-3.79 (m)	3.44-3.75 (m)	3.58 (s)
N_{Imid}-CH₂CH₂-	1.83 (quin, <i>J</i> 7.2)	1.90 (quin, <i>J</i> 7.2)	1.72 (quin, <i>J</i> 7.2)	-	-	-
-CH-CH₃	-	-	-	0.95 (d, <i>J</i> 6.3)	0.92 (d, <i>J</i> 6.3)	-
N_{Imid}-CH₂CH-	-	-	-	unter N(CH ₃) ₂	unter N(CH ₃) ₂	-
C(CH₃)₂	-	-	-	-	-	0.94 (s)
-CH₂-N(CH₃)₂	2.33 (t, <i>J</i> 7.6)	2.47 (t, <i>J</i> 7.6)	2.27 (t, <i>J</i> 7.0)	unter N(CH ₃) ₂	unter N(CH ₃) ₂	2.20 (s)
N(CH₃)₂	2.20 (s)	2.31 (s)	2.10 (s)	2.28 (s)	2.25 (s)	2.31 (s)
Ph-CH₃	-	2.48 (s)	-	-	2.48 (s)	-
CH_{aromat}	7.71 (m) 7.81 (m)	7.47 (d, <i>J</i> 7.6) 7.61 (s) 7.68 (d, <i>J</i> 7.6)	8.07 (d, <i>J</i> 7.6) 8.20 (m)	7.71 (m) 7.81 (m)	7.47 (d, <i>J</i> 7.6) 7.60 (s) 7.68 (d, <i>J</i> 7.6)	7.72 (m) 7.82 (m)

Tabelle 15. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen **1a-1f**, 250 MHz, CDCl₃, * DMSO

	1g	1h	1i	1j**	1l**	1m**
N_{Imid}-CH₂	3.55 (s)	4.22 (t, <i>J</i> 7.6)	4.20 (s)	4.20 (s)	4.26 (s)	4.23 (s)
N_{Imid}-CH₂CH₂-	-	1.91 (quin, <i>J</i> 7.6)	-	-	-	-
-CH-CH₃	-	-	-	-	-	-
N_{Imid}-CH₂CH-	-	-	-	-	-	-
C(CH₃)₂	0.93 (s)	-	0.98 (s)	1.01 (s)	1.01 (s)	0.99 (s)
-CH₂-N(CH₃)₂	2.20 (s)	2.43 (t, <i>J</i> 7.6)	2.29 (s)	2.36 (s)	2.35 (s)	2.32 (s)
N(CH₃)₂	2.32 (s)	2.25 (s)	2.34 (s)	2.40 (s)	2.39 (s)	2.36 (s)
Ph-CH₃	2.50 (s)	-	-	-	-	-
CH_{aromat}	7.47 (d, <i>J</i> 7.6) 7.63 (s) 7.69 (d, <i>J</i> 7.6)	7.73 (t, <i>J</i> 8.0) 8.18 (d, <i>J</i> 8.3) 8.57 (d, <i>J</i> 7.4)	7.74 (t, <i>J</i> 7.8) 8.17 (d, <i>J</i> 8.2) 8.56 (d, <i>J</i> 7.3)	7.30 (d, <i>J</i> 2.3) 7.60 (t, <i>J</i> 7.6) 7.92 (d, <i>J</i> 7.8) 8.01 (d, <i>J</i> 2.3) 8.29 (d, <i>J</i> 7.3)	7.95 (t, <i>J</i> 7.6) 8.43 (d, <i>J</i> 8.4) 8.77 (d, <i>J</i> 7.3) 9.13 (d, <i>J</i> 2.3) 9.30 (d, <i>J</i> 2.3)	7.98 (t, <i>J</i> 8.0) 8.40 (d, <i>J</i> 8.0) 8.70 (m) 8.83 (m)

Tabelle 16. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen **1g-1m**, 250 MHz, CDCl₃, ** 400 MHz

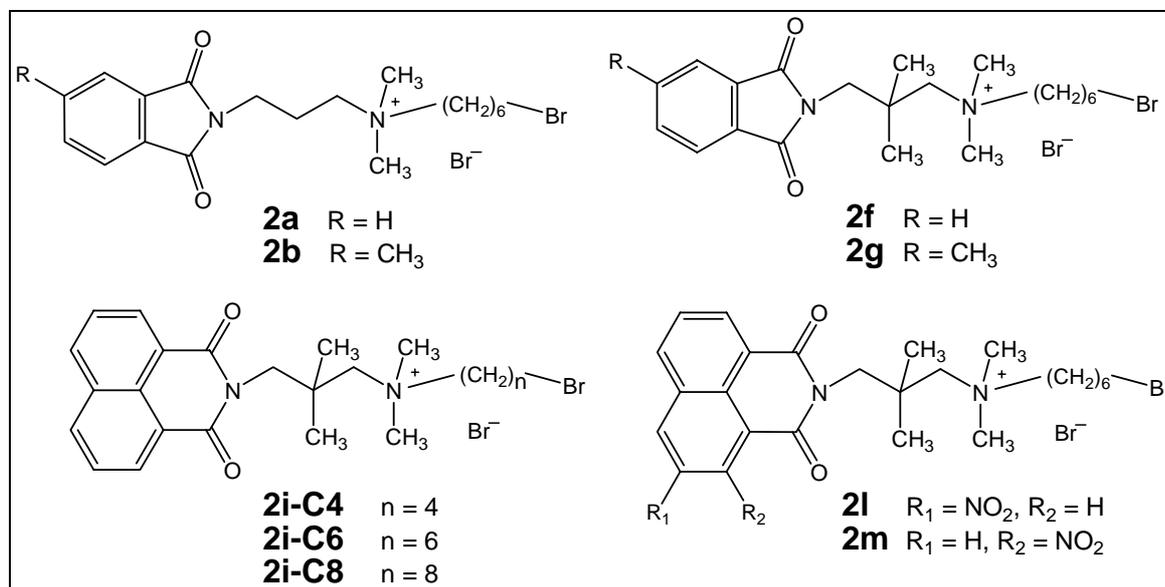
	1a	1b	1c*	1d	1e	1f
N_{Imid}-CH₂-	56.9	56.7	56.5	64.1	64.2	69.3
N_{Imid}-CH₂C-	26.6	26.1	25.7	30.3	30.3	38.9
-C-CH₃	-	-	-	16.6	16.5	24.4
-CH₂-N(CH₃)₂	36.2	35.9	36.4	42.4	42.4	47.0
N(CH₃)₂	45.3	44.8	45.1	45.2	45.3	48.8
Ph-CH₃	-	21.9	-	-	21.9	-
-CF₃	-	-	125.7 (qu, <i>J</i> 271)	-	-	-
CH_{aromat}	123.1 133.8	123.0 123.7 134.4	119.9 (d, <i>J</i> 3.6) 124.1 131.6 (d, <i>J</i> 3.6)	123.1 133.8	123.0 123.6 134.3	123.2 133.8
C_{aromat}	132.1	129.4 132.4 145.1	133.0 133.8 (qu, <i>J</i> 32) 135.4	132.0	129.4 132.4 145.0	132.1
C=O	168.4	168.4 168.5	166.8 167.0	168.6	168.7 168.8	169.0

Tabelle 17. ¹³C-NMR-Daten der Verbindungen **1a-1f**, 63 MHz, CDCl₃, * DMSO

	1g	1h	1i	1j**	1l**	1m**
N_{Imid}-CH₂-	69.3	57.3	70.0	70.0	70.0	70.0
N_{Imid}-CH₂C-	38.8	26.1	39.2	39.0	39.1	39.1
C-CH₃	24.4	-	24.9	24.9	39.1	39.1
-CH₂-N(CH₃)₂	46.9	38.8	47.6	47.6	48.1	48.1
N(CH₃)₂	48.8	45.4	48.9	48.8	48.8	48.8
Ph-CH₃	22.0	-	-	-	-	-
CH_{aromat}	123.1 123.7 134.3	126.9 131.1 133.8	126.9 131.2 133.6	113.8, 122.1, 127.2, 127.5, 131.5	124.3, 128.8, 129.1, 134.5, 135.4	123.9, 129.5, 129.9, 129.9, 132.5
C_{aromat}	129.4 132.4 145.1	122.7 128.1 131.5	122.8 128.0 131.4	122.4, 122.5, 123.6, 133.4, 145.3 (C _{ar} -NH ₂)	123.3, 124.8, 130.1, 130.9, 146.4 (C _{ar} -NO ₂)	123.1, 123.6, 127.1, 129.0 (C _{ar} -NO ₂)
C=O	169.1 169.2	164.1	164.8	164.9 165.2	163.2 163.8	163.20 164.00

Tabelle 18. ¹³C-NMR-Daten der Verbindungen **1g-1m**, 63 MHz, CDCl₃, ** 100 MHz

8.2.9 Synthese der Zwischenprodukte **2** zur Herstellung unsymmetrischer W84-Derivate⁶⁶



Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Verbindungen **2a-b**, **2f-g**, **2i**, **2l-m**, **2i-C4** und **2i-C8**:

0.01 mol der jeweiligen Dimethylaminopropylphthalimide bzw. -naphthalimide **1** werden in einem mindestens zehnfachen Überschuss 1,6-Dibromhexan (für **2i-C4** 1,4-Dibrombutan; für **2i-C8** 1,8-Dibromoctan) mehrere Tage bei Raumtemperatur (**2a** und **2b**) bzw. bei 50°C (alle übrigen Verbindungen **2**) gerührt. Die Reaktionskontrolle erfolgt dünnschichtchromatographisch (CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2, R_f 0.7-0.8). Der entstandene Niederschlag wird nach zwei bis elf Tagen abfiltriert, in 100 ml Diethylether aufgenommen und zur Entfernung der Dibromalkanreste einige Minuten zum Sieden erhitzt. Man filtriert erneut ab und trocknet den erhaltenen Feststoff im Vakuum.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Reaktionszeit [d]	Temp. [°C]	Ausbeute	Mp [°C]	Beschreibung
2a	C ₁₉ H ₂₈ Br ₂ N ₂ O ₂	476.3	2	rt	89%	219	weißes Pulver
2b	C ₂₀ H ₃₀ Br ₂ N ₂ O ₂	490.3	2	rt	84%	145	weißes Pulver
2f	C ₂₁ H ₃₂ Br ₂ N ₂ O ₂	504.3	11	50	54%	175	weißes Pulver
2g	C ₂₂ H ₃₄ Br ₂ N ₂ O ₂	518.3	11	50	52%	127	weißes Pulver
2i-C6	C ₂₅ H ₃₄ Br ₂ N ₂ O ₂	554.4	11	50	55%	178	weißes Pulver
2l	C ₂₅ H ₃₃ Br ₂ N ₃ O ₄	529.4	7	50	54%	165	rötliches Pulver
2m	C ₂₅ H ₃₃ Br ₂ N ₃ O ₄	529.4	6	50	59%	174	braun-gelbes Pulver
2i-C4	C ₂₃ H ₃₀ Br ₂ N ₂ O ₂	526.3	7	50	90%	173	weißes Pulver
2i-C8	C ₂₇ H ₃₈ Br ₂ N ₂ O ₂	582.4	7	50	34%	141	weißes Pulver

Tabelle 19. Analytische Daten der Verbindungen 2

Verb.	IR-Daten [cm ⁻¹]
2a	724, 891, 1027, 1359, 1394, 1701, 1765, 2927
2b	738, 952, 1029, 1391, 1444, 1698, 1762, 2941
2f	725, 915, 1082, 1362, 1384, 1716, 1775, 2946, 3464
2g	746, 935, 1352, 1380, 1709, 1768, 2941, 3439
2i-C6	781, 935, 1085, 1237, 1338, 1659, 1705, 3485
2l	789, 1091, 1244, 1324, 1339, 1665, 1706, 2361,
2m	791, 1233, 1340, 1531, 1660, 1708, 2361, 2939
2i-C4	784, 910, 1236, 1340, 1378, 1655, 1709, 3364, 3432
2i-C8	781, 914, 1238, 1088, 1340, 1587, 1656, 1701, 2925

Tabelle 19a. IR-Daten der Verbindungen 2

	2a	2b	2f	2g	2i-C6
N _{imid} -CH ₂ -	3.65 (t, J 6.1)	3.65 (t, J 6.1)	3.76 (s)	3.56 (s)	4.11 (s)
N _{imid} -CH ₂ CH ₂ -	2.03 (br)	2.03 (br)	-	-	-
C(CH ₃) ₂	-	-	1.22 (s)	1.22 (s)	1.24 (s)
-CH ₂ -N ⁺	3.34 (br)	3.34 (br)	3.47 (s)	3.39 (s)	3.46 (s)
N ⁺ (CH ₃) ₂	2.98 (s)	3.01 (s)	3.14 (s)	3.14 (s)	3.16 (s)
N ⁺ CH ₂ -	3.23 (br)	3.26 (br)	unter H ₂ O	3.19 (br)	3.37 (br)
N ⁺ CH ₂ -CH ₂ -	1.62 (br)	1.63 (br)	1.72 (br)	1.73 (br)	1.72 (br)
N ⁺ (CH ₂) ₂ -CH ₂ -	1.26 (br)	1.28 (br)	1.28 (br)	1.29 (br)	1.29 (br)
N ⁺ (CH ₂) ₃ -CH ₂ -	1.40 (br)	1.41 (br)	1.43 (br)	1.44 (br)	1.43 (br)
N ⁺ (CH ₂) ₄ -CH ₂ -	1.79 (quin, J 7.4)	1.81 (quin, J 7.4)	1.83 (quin, J 7.4)	1.84 (quin, J 7.4)	1.82 (quin, J 7.4)
N ⁺ (CH ₂) ₅ -CH ₂ -	3.52 (t, J 6.7)	3.54 (t, J 6.7)	3.55 (t, J 6.7)	3.47 (t, J 6.7)	3.54 (t, J 6.7)
Ph-CH ₃	-	2.52 (s)	-	unter DMSO	-
CH _{aromat}	7.86 (m)	7.66 (d, J 7.6) 7.73 (s) 7.78 (d, J 7.6)	7.87 (m)	7.66 (d, J 7.6) 7.73 (s) 7.78 (d, J 7.6)	7.88 (t, J 7.6) 8.47 (m)

Tabelle 20. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen 2a, 2b, 2f, 2g und 2-C6i, 250 MHz, DMSO

	2l	2m	2i-C4	2i-C8
$N_{\text{Imid}}-\underline{\text{CH}}_2-$	4.13 (s)	4.12 (s)	4.13 (s)	4.12 (s)
$\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$	1.26 (s)	1.27 (s)	1.25 (s)	1.24 (s)
$-\underline{\text{CH}}_2-\text{N}^+$	3.46 (s)	3.45 (s)	3.47 (br)	3.45 (s)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_3)_2$	3.16 (s)	3.16 (s)	3.17 (s)	3.16 (s)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}}_2-$	3.38 (br)	3.36 (br)	3.41 (br)	3.38 (br)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}}_2-\underline{\text{CH}}_2-$	1.73 (br)	1.72 (br)	1.84 (br)	1.71 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_2-\underline{\text{CH}}_2-$	1.30 (br)	1.29 (br)	1.84 (br)	1.29 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_3-\underline{\text{CH}}_2-$	1.44 (br)	1.44 (br)	3.57 (br)	1.29 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_4-\underline{\text{CH}}_2-$	1.83 (quin, <i>J</i> 7.4)	1.83 (quin, <i>J</i> 7.4)	-	1.29 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_5-\underline{\text{CH}}_2-$	3.54 (t, <i>J</i> 6.7)	3.55 (t, <i>J</i> 6.7)	-	1.29 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_6-\underline{\text{CH}}_2-$	-	-	-	1.79 (quin, <i>J</i> 7.2)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_7-\underline{\text{CH}}_2-$	-	-	-	3.53 (t, <i>J</i> 6.7)
$\text{CH}_{\text{aromat}}$	8.08 (t, <i>J</i> 7.6) 8.68 (d, <i>J</i> 7.2) 8.80 (d, <i>J</i> 7.8) 8.97 (d, <i>J</i> 2.0) 9.51 (d, <i>J</i> 2.3)	8.12 (t, <i>J</i> 8.2) 8.59-8.64 (m) 8.73 (d, <i>J</i> 8.8)	7.88 (t, <i>J</i> 7.7) 8.47 (m)	7.89 (t, <i>J</i> 7.7) 8.49 (m)

Tabelle 21. $^1\text{H-NMR}$ -Daten der Verbindungen **2l**, **2m**, **2i-C4** und **2i-C8**, 400 MHz, DMSO

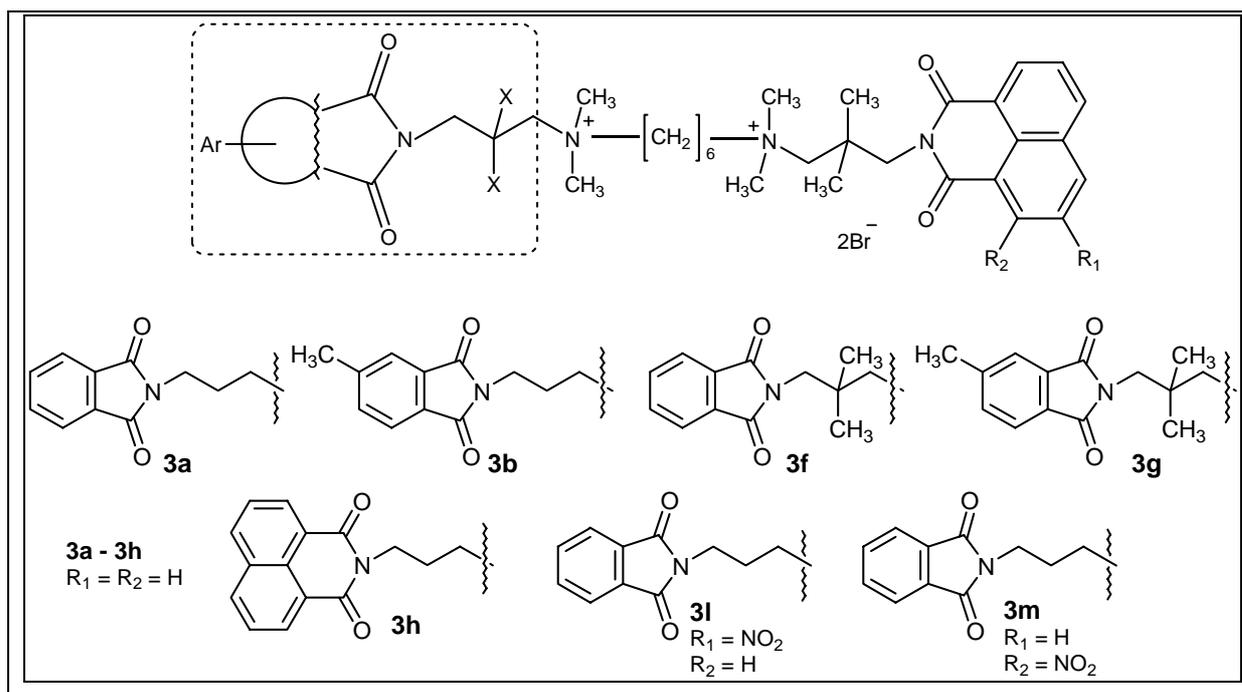
	2a	2b	2f	2g	2i-C6
$N_{\text{Imid}}-\underline{\text{CH}}_2-$	34.8	34.8	49.3	49.2	49.3
$N_{\text{Imid}}-\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CH}}_2-$	21.8	21.8	-	-	-
$\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$	-	-	25.0	25.0	25.7
$-\underline{\text{CH}}_2-\text{N}^+$	63.2	63.2	71.1	71.1	71.7
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_3)_2$	50.2	50.2	52.0	52.0	52.1
$\text{N}^+\underline{\text{CH}}_2-$	60.9	60.9	67.5	67.5	67.7
$\text{N}^+\underline{\text{CH}}_2-\underline{\text{CH}}_2-$	21.7	21.8	22.0	22.0	22.1
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_2-\underline{\text{CH}}_2-$	27.2	27.2	27.2	27.2	27.2
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_3-\underline{\text{CH}}_2-$	25.0	25.1	25.0	25.0	25.0
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_4-\underline{\text{CH}}_2-$	32.0	32.0	32.0	32.0	32.0
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}}_2)_5-\underline{\text{CH}}_2-$	35.2	35.2	35.2	35.2	35.2
$\text{Phth}-\underline{\text{CH}}_3$	-	21.6	-	21.5	-
C_{aromat}	131.9	129.3 132.3 145.6	131.9	129.3 132.3 145.6	122.4 127.6 131.4
$\text{CH}_{\text{aromat}}$	123.3 134.6	123.2 123.7 134.9	123.3 134.6	123.3 123.7 134.9	127.5 131.1 134.5
$\underline{\text{C}}=\text{O}$	168.2	168.2 168.3	168.9	168.9 169.0	164.8

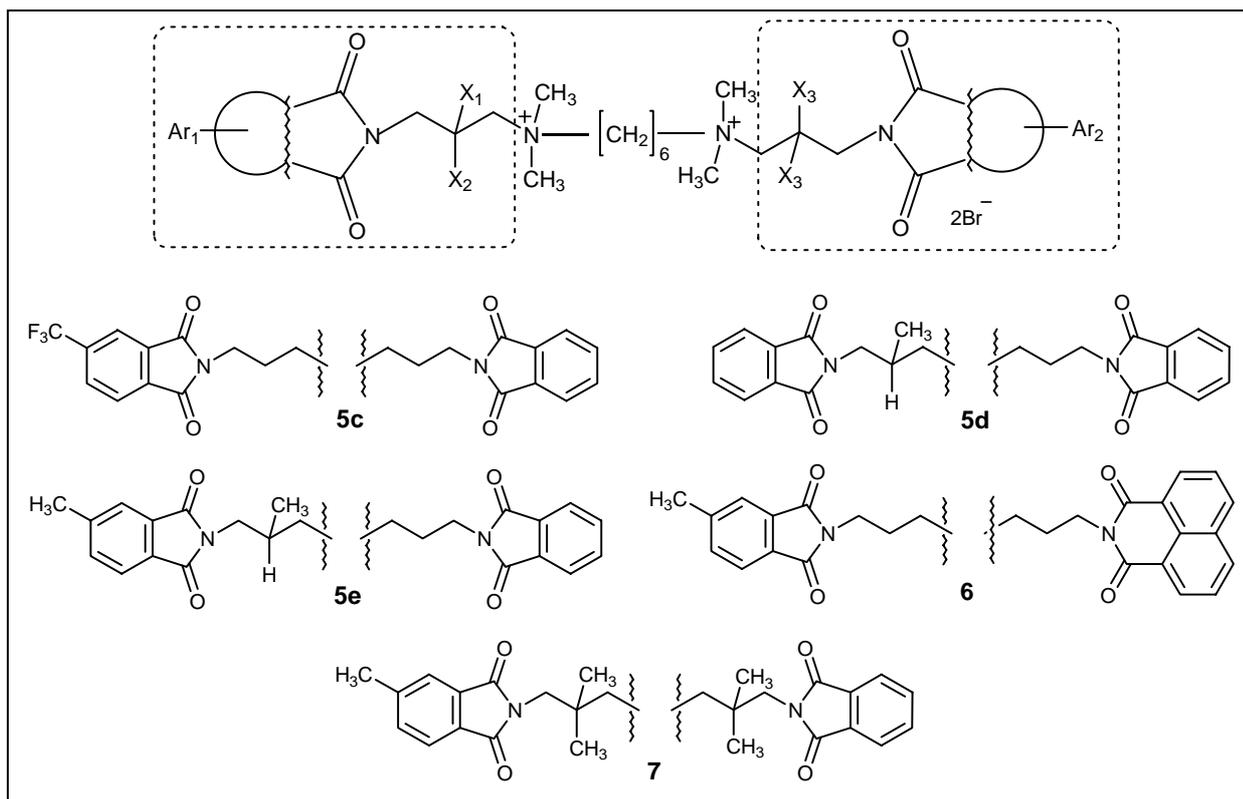
Tabelle 22. $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten der Verbindungen **2a**, **2b**, **2f**, **2g** und **2i-C6**, 63 MHz, DMSO

	2l	2m	2i-C4	2i-C8
$N_{\text{Imid}}-\underline{\text{CH}_2}-$	49.6	49.6	49.2	49.2
$\underline{\text{C}}(\underline{\text{CH}_3})_2$	25.5	25.5	25.6	25.6
$-\underline{\text{CH}_2}-N^+$	71.6	71.5	71.7	71.6
$N^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	52.1	52.1	52.2	52.1
$N^+\underline{\text{CH}_2}-$	67.7	67.7	66.6	67.7
$N^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	22.1	22.1	21.2	22.2
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_2-\underline{\text{CH}_2}-$	27.2	27.2	31.0	27.6*
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_3-\underline{\text{CH}_2}-$	25.0	25.0	34.2	25.8*
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_4-\underline{\text{CH}_2}-$	31.9	32.0	-	27.9*
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_5-\underline{\text{CH}_2}-$	35.2	35.2	-	28.4
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_6-\underline{\text{CH}_2}-$	-	-	-	32.3
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_7-\underline{\text{CH}_2}-$	-	-	-	35.4
C_{aromat}	123.1, 124.6, 129.8, 131.0, 146.0	122.9, 123.3, 127.2, 128.6, 149.3	122.4, 127.6, 131.4	122.5, 127.6, 131.5
$\text{CH}_{\text{aromat}}$	123.0, 129.5, 129.8, 134.2, 136.5	124.4, 128.9, 129.9, 130.4, 132.0	127.4, 131.1, 134.5	127.4, 131.0, 134.5
$\underline{\text{C}}=\underline{\text{O}}$	163.8, 164.2	163.6, 164.4	164.8	164.8

Tabelle 23. ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen **2l**, **2m**, **2i-C4** und **2i-C8**, 100 MHz, DMSO, *die Signale konnten nicht eindeutig zugeordnet werden

8.2.10 Synthese der unsymmetrischen W84-Derivate





8.2.10.1 Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Verbindungen **3a**, **3b**, **3f-3h**, **3l**, **5c-5e**, **6** und **7**

1 Äquivalent der Zwischenprodukte **2a**, **2b**, **2g** bzw. **2i-C6** und 1.05 Äquivalente der entsprechenden Verbindung **1** werden in 30 ml Acetonitril gelöst. Man gibt eine Spatelspitze einer Mischung aus KI/K₂CO₃ (1:1) zur Reaktionslösung und erhitzt ein bis zwölf Tage zum Sieden. Der Reaktionsverlauf wird mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt (CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2, R_f 0.3-0.5). Die weitere Aufarbeitung erfolgt nach folgenden Methoden:

A) Es bildet sich nach dem Abkühlen bei Raumtemperatur spontan ein voluminöser Niederschlag. Man filtriert den Niederschlag ab und wäscht mit Acetonitril und Pentan. Falls nötig, wird noch einmal aus Acetonitril umkristallisiert. Der erhaltene Feststoff wird im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

B) Die Lösung wird etwa auf die Hälfte eingengt. Es bildet sich nach einigen Stunden bis mehreren Tagen bei 4°C ein Niederschlag. Falls nötig, wird noch einmal aus Acetonitril umkristallisiert. Man filtriert ab und wäscht mit wenig Acetonitril und Pentan. Der erhaltene Feststoff wird im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Edukte	Reaktionszeit [d]	Methode	Ausbeute	Mp [°C]
3a	C ₃₈ H ₅₀ Br ₂ N ₄ O ₄	786.7	1a + 2i	2	A	67%	222
3b	C ₃₉ H ₅₂ Br ₂ N ₄ O ₄	800.7	1b + 2i	3	B	19%	203
3f	C ₄₀ H ₅₄ Br ₂ N ₄ O ₄	814.7	1f + 2i	12	B	14%	201
3g	C ₄₁ H ₅₆ Br ₂ N ₄ O ₄	828.7	1g + 2i	12	B	8%	198
3h	C ₄₂ H ₅₂ Br ₂ N ₄ O ₄	836.7	1h + 2i	2	A	73%	219
3l	C ₃₈ H ₄₉ Br ₂ N ₅ O ₆	831.6	1l + 2a	2	B	82%	178
3m	C ₃₈ H ₄₉ Br ₂ N ₅ O ₆	831.6	1m + 2a	2	B	65%	202
5c	C ₃₃ H ₄₃ F ₃ Br ₂ N ₄ O ₄	776.5	1c + 2a	2	B	35%	229
5d	C ₃₃ H ₄₆ Br ₂ N ₄ O ₄	722.6	1d + 2a	4	A	49%	242
5e	C ₃₄ H ₄₈ Br ₂ N ₄ O ₄	736.6	1e + 2a	4	A	44%	221
6	C ₃₇ H ₄₈ Br ₂ N ₄ O ₄	772.6	1h + 2b	1	A	78%	256
7	C ₃₇ H ₅₄ Br ₂ N ₄ O ₄	778.7	1f + 2g	12	B	7%	206

Tabelle 24. Analytische Daten der Verbindungen 3a, 3b, 3f-3h, 3l, 5c-5e, 6 und 7

Verb	Beschreibung	IR-Daten [cm ⁻¹]
3a	weißes Pulver	723, 780, 925, 1236, 1339, 1587, 1657, 1707, 2941
3b	hellgelbes Pulver	738, 781, 920, 1235, 1338, 1587, 1657, 1699, 2945
3f	weißes Pulver	729, 781, 908, 1237, 1341, 1589, 1658, 1712, 2362, 2935
3g	hellgelbes Pulver	750, 779, 917, 1236, 1338, 1587, 1655, 1705, 2937
3h	weißes Pulver	774, 1237, 1335, 1382, 1587, 1649, 1693, 2362, 2960
3l	rosa Pulver	721, 790, 1325 (NO ₂), 1398, 1539 (NO ₂), 1665, 1704, 2956,
3m	braunes Pulver	726, 785, 1338 (NO ₂), 1526 (NO ₂), 1666, 1708, 2359, 3006
5c	weißes Pulver	725, 1042, 1137, 1321, 1380, 1710, 2864, 3006
5d	weißes Pulver	725, 807, 1377, 1405, 1464, 1708, 2861, 2939
5e	weißes Pulver	726, 743, 1383, 1402, 1433, 1709, 2939, 3009
6	weißes Pulver	744, 782, 966, 1230, 1344, 1371, 1399, 1660, 1709, 2947, 3003
7	weißes Pulver	733, 916, 1025, 1080, 1366, 1388, 1711, 2972

Tabelle 25. IR-Daten der Verbindungen 3a, 3b, 3f-3h, 3l, 5c-5e, 6 und 7

	3a	3b	3f	3g	3h
$N_{\text{Phth}}-\underline{\text{CH}_2}-$	3.65 (t, <i>J</i> 6.3)	3.66 (t, <i>J</i> 6.3)	3.49 (br)	3.49 (br)	-
$N_{\text{Naphth}}-\underline{\text{CH}_2}-$	4.13 (s)	4.16 (s)	4.15 (s)	4.15 (s)	4.11 (s)
$N_{\text{Phth}}-\underline{\text{CH}_2}\underline{\text{CH}_2}-$	2.07 (br)	2.06 (br)	-	-	2.13 (br)
$\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2$	1.24 (s)	1.27 (s)	1.24 (s) 1.25 (s)	1.22 (s) 1.24 (s)	1.23 (s)
$-\underline{\text{CH}_2}-\text{N}^+$	3.33 (br) 3.50 (s)	3.46 (br) 3.52 (s)	3.42 (br)	3.41 (br)	3.33 (br) 3.50 (s)
$-\underline{\text{CH}_2}\underline{\text{CH}_2}\text{N}^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	3.03 (s)	3.05 (s)	3.17 (s)	3.16 (s)	3.04 (s)
$-\text{C}_{\text{qu}}\underline{\text{CH}_2}\text{N}^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	3.20 (s)	3.22 (s)	3.20 (s)	3.19 (s)	3.21 (s)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	3.38 (br) 3.45 (br)	3.39 (br) 3.46 (br)	3.39 (br) 3.46 (br)	3.38 (br) 3.46 (br)	3.45 (br)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	1.68 (br) 1.76 (br)	1.70 (br) 1.78 (br)	1.77 (br)	1.77 (br)	1.69 (br) 1.76 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_2})_2-\underline{\text{CH}_2}-$	1.32 (br)	1.34 (br)	1.34 (br)	1.29 (br)	1.32 (br)
phth-CH₃	-	2.52 (s)	-	2.48 (s)	-
$\underline{\text{C}}_{\text{aromat}}$	7.86-7.90 (m) 8.48-8.50 (m)	7.63 (d, <i>J</i> 7.6) 7.68 (s) 7.74 (d, <i>J</i> 7.8) 7.89 (t, <i>J</i> 7.7) 8.48-8.51 (m)	7.85-7.92 (m) 8.48-8.51 (m)	7.65 (d, <i>J</i> 7.7) 7.71 (s) 7.76 (d, <i>J</i> 7.8) 7.90 (t, <i>J</i> 7.9) 8.48-8.52 (m)	7.84-7.88 (m) 8.44-8.46 (m)

Tabelle 26. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen **3a**, **3b** und **3f-3h**, 400 MHz, DMSO

	3j	3k	3l	3m	7
$N_{\text{Phth}}-\underline{\text{CH}_2}-$	3.66 (t, <i>J</i> 6.3)	3.66 (t, <i>J</i> 6.3)	3.66 (t, <i>J</i> 6.3)	3.66 (t, <i>J</i> 6.3)	3.49 (s) 3.50 (s)
$N_{\text{Naphth}}-\underline{\text{CH}_2}-$	4.11 (s)	4.12 (s)	4.15 (s)	4.13 (s)	-
$N_{\text{Phth}}-\underline{\text{CH}_2}\underline{\text{CH}_2}-$	2.05 (br)	2.05 (s)	2.05 (br)	2.05 (br)	-
$\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2$	1.23 (s)	1.21 (s)	1.25 (s)	1.25 (s)	1.23 (s) 1.24 (s)
$-\underline{\text{CH}_2}-\text{N}^+$	3.28 (s) 3.47 (s)	3.28 (s) 3.47 (s)	3.30 (br) 3.50 (s)	3.30 (br) 3.50 (s)	3.42 (br)
$-\underline{\text{CH}_2}\underline{\text{CH}_2}\text{N}^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	3.01 (s)	3.02 (s)	3.01 (s)	3.02 (s)	-
$-\text{C}_{\text{qu}}\underline{\text{CH}_2}\text{N}^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	3.18 (s)	3.19 (s)	3.19 (s)	3.19 (s)	3.17 (s)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-$	3.38 (br) 3.41 (br)	3.37 (br) 3.44 (br)	3.35 (br) 3.42 (br)	3.35 (br), 3.43 (br)	3.41 (br)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	1.67 (br) 1.75 (br)	1.67 (br) 1.75 (br)	1.67 (br) 1.75 (br)	1.67 (br) 1.75 (br)	1.77 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_2})_2-\underline{\text{CH}_2}-$	1.31 (br)	1.31 (br)	1.32 (br)	1.32 (br)	1.34 (br)
phth-CH₃	-	-	-	-	unter DMSO
$\underline{\text{C}}_{\text{aromat}}$	7.31 (d, <i>J</i> 2.3) 7.63 (t, <i>J</i> 7.7) 7.86 (m) 7.98 (d, <i>J</i> 2.3) 8.05 (d, <i>J</i> 7.8) 8.08 (d, <i>J</i> 7.3)	7.20 (d, <i>J</i> 8.6) 7.70 (t, <i>J</i> 8.0) 7.86 (m) 8.33 (d, <i>J</i> 8.6) 8.43 (d, <i>J</i> 6.8) 8.49 (d, <i>J</i> 8.3)	7.87 (m) 8.09 (t, <i>J</i> 7.8) 8.68 (d, <i>J</i> 7.3) 8.81 (d, <i>J</i> 8.1) 8.96 (d, <i>J</i> 2.3) 9.50 (d, <i>J</i> 2.3)	7.87 (m) 8.12 (t, <i>J</i> 8.0) 8.60 (m) 8.71 (dd, <i>J</i> 8.7, 1.0)	7.67 (d, <i>J</i> 7.6) 7.72 (s) 7.78 (d, <i>J</i> 7.6) 7.87 (m)

Tabelle 27. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen **3j-3m** und **7**, 400 MHz, DMSO

	5c	5d	5e	6
$N_{\text{Phth}}-\underline{\text{CH}_2}-$	3.66 (t, <i>J</i> 6.2) 3.70 (t, <i>J</i> 6.2)	3.66 (t, <i>J</i> 6.2) 3.49-3.62 (m)	3.66 (t, <i>J</i> 6.2) 3.48-3.62 (m)	3.62 (t, <i>J</i> 6.2) 4.13 (s, <i>J</i> 6.3)
$N_{\text{Phth}}-\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2}-$	2.06 (br)	2.05 (br)	2.06 (br)	2.03 (br), 2.13 (br)
$N_{\text{Phth}}-\underline{\text{CH}_2\text{CH}}-$	-	unter DMSO	unter DMSO	-
$-\underline{\text{CH}}-\underline{\text{CH}_3}$	-	1.07 (d, <i>J</i> 6.6)	1.06 (d, <i>J</i> 6.6)	-
$-\underline{\text{CH}_2}-N^+$	3.37 (br)	3.37 (br)	3.38 (br)	3.33 (br) 3.43 (br)
$N^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	3.01 (s)	3.01 (s) 3.03 (s)	3.04 (s), 3.11 (s)	3.02 (s) 3.01 (s)
$N^+\underline{\text{CH}_2}-$	3.26 (br)	3.27 (br)	3.30 (br)	3.26 (br)
$N^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	1.65 (br)	1.66 (br)	1.68 (br)	1.65 (br)
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_2-\underline{\text{CH}_2}-$	1.29 (br)	1.27 (br)	1.30 (br)	1.28 (br)
$\text{phth}-\underline{\text{CH}_3}$	-	-	2.51 (s)	2.47 (s)
$\underline{\text{C}}_{\text{aromat}}$	7.84-7.90 (m) 8.11 (d, <i>J</i> 7.6) 8.22-8.25 (s,d, <i>J</i> 7.8)	7.87 (m)	7.67 (d, <i>J</i> 7.6) 7.71 (s) 7.77 (d, <i>J</i> 7.6) 7.89 (m)	7.63 (d, <i>J</i> 7.6) 7.68 (s) 7.74 (d, <i>J</i> 7.6) 7.89 (t, <i>J</i> 7.8) 8.48-8.51 (m)

Tabelle 28. ^1H -NMR-Daten der Verbindungen **5c-5e** und **6**, 400 MHz, DMSO

	3a	3b	3f	3g	3h
$N_{\text{Imid}}-\underline{\text{CH}_2}-$	34.8 49.0	34.7 49.0	49.0 49.3	49.0 49.1	37.1 49.0
$N_{\text{Imid}}-\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2}-$	21.8	21.8	-	-	21.4
$\underline{\text{C}}(\underline{\text{CH}_3})_2$	25.4	25.4	25.0 25.5	25.0 25.5	25.4
$-\underline{\text{CH}_2}-N^+$	63.1 71.8	63.1 71.8	71.2, 71.8	71.6, 71.9	62.9 71.8
$N^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	50.2 52.2	50.2 52.2	52.1 52.2	52.1 52.2	50.2 52.2
$N^+\underline{\text{CH}_2}-$	60.9 67.1	60.9 67.1	67.1	67.1	61.2 67.1
$N^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	21.7 22.1	21.7 22.1	22.1	22.1	21.7 22.0
$N^+(\underline{\text{CH}_2})_2-\underline{\text{CH}_2}-$	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7
$\text{Ph}-\underline{\text{CH}_3}$	-	21.5	-	21.5	-
$\underline{\text{C}}_{\text{aromat}}$	122.4, 127.5, 131.4, 131.9	122.4, 127.4, 129.2, 131.5, 132.2	122.4, 127.6, 131.5, 131.9	122.4, 127.5, 129.2, 131.5, 132.2	122.2, 122.3, 127.5, 127.6, 131.3, 131.4
$\underline{\text{C}}\text{H}_{\text{aromat}}$	123.2, 127.5, 131.1, 134.5, 134.6	123.1, 123.6, 127.4, 131.1, 134.5, 134.9	123.3, 127.5, 131.1, 134.5, 134.6	123.2, 123.7, 131.0, 134.5, 134.9	127.3, 127.4, 130.9, 131.0, 134.5, 134.6
$\text{ar}\underline{\text{C}}-\underline{\text{CH}_3}$	-	145.5	-	145.6	-
$\underline{\text{C}}=\underline{\text{O}}$	164.8, 168.2	164.8, 168.1, 168.2	164.8, 169.0	164.8, 168.9	163.8, 164.7

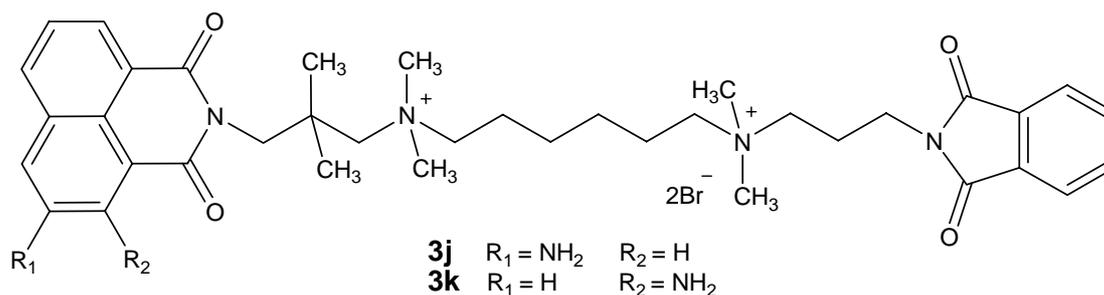
Tabelle 29. ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen **3a**, **3b** und **3f-3h**, 100 MHz, DMSO

	3j	3k	3l	3m	7
$N_{\text{Imid}}-\underline{C}H_2-$	34.8	34.8	34.8	34.8	49.1
	48.9	48.9	49.4	49.4	49.2
$N_{\text{Imid}}-\underline{C}H_2\underline{C}H_2$	21.8	21.8	21.8	21.8	-
$C(\underline{C}H_3)_2$	25.4	25.4	25.4	25.4	25.0
$-\underline{C}H_2-N^+$	63.1	63.1	63.1	63.1	71.3
	71.9	71.9	71.8	71.7	
$N^+(\underline{C}H_3)_2$	50.2	50.2	50.2	50.2	52.1
	52.2	52.2	52.2		
$N^+\underline{C}H_2-$	61.0	60.9	60.9	52.2	67.1
	67.1	67.1	67.1		
$N^+CH_2-\underline{C}H_2-$	21.7	21.7	21.7	21.7	22.1
	22.1	22.1	22.1	22.1	
$N^+(CH_2)_2-\underline{C}H_2-$	25.7	25.8	25.6	25.6	25.5
$Ph-\underline{C}H_3$	-	-	-	-	21.5
C_{aromat}	120.8, 122.2, 122.8, 131.9, 133.7, 148.1	118.5, 122.1, 124.2, 131.1, 131.9, 152.1	123.1, 124.5, 129.8, 131.0, 131.9, 146.0	122.9, 123.2, 127.1, 128.6, 131.9, 149.3	129.2, 131.9, 132.2
CH_{aromat}	111.9, 122.1, 123.2, 125.8, 127.2, 131.7, 134.6	109.7, 123.2, 124.9, 128.6, 128.6, 129.3, 134.6	123.1, 123.2, 129.5, 129.8, 134.2, 134.6, 136.5	123.2, 124.4, 128.9, 129.9, 130.4, 132.0, 134.6	123.3, 123.3, 123.7, 134.7, 135.0
$ar\underline{C}-CH_3$	-	-	-	-	145.6
$C=O$	164.9, 165.1, 168.2	164.2, 165.1, 168.2	163.7, 164.2, 168.2	163.6, 164.4, 168.2	168.9, 168.9, 169.0

Tabelle 30. ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen **3j-3m** und **7**, 100 MHz, DMSO

	5c	5d	5e	6
$N_{\text{Imid}}-\underline{C}H_2-$	34.8	34.8	34.8	34.7
	35.2	42.8	42.8	37.1
$N_{\text{Imid}}-\underline{C}H_2\underline{C}H_2$	21.8	21.6	21.6	21.4 21.8
$-\underline{C}H-\underline{C}H_3$	-	27.8	27.8	-
$-\underline{C}H-\underline{C}H_3$	-	18.8	18.8	-
$-\underline{C}H_2-N^+$	63.1	63.1	63.0	62.9
	63.2	67.1	67.1	63.1
$N^+(CH_3)_2$	50.1	50.1	50.2	50.1
$N^+\underline{C}H_2-$	61.0	60.9	60.9	60.9
		63.5	63.5	61.2
$N^+CH_2-\underline{C}H_2-$	21.6	21.8	21.8	21.6
$N^+(CH_2)_2-\underline{C}H_2-$	25.3	25.3	25.3	25.3
$Ph-\underline{C}H_3$	-	-	21.5	21.5
C_{aromat}	123.4 (q), 131.9, 133.1, 134.0, 135.5	131.7 131.8	129.0, 131.9, 132.0	122.3, 127.4, 129.2, 131.5, 132.2
CH_{aromat}	120.0, 123.2, 124.3, 131.7, 134.6	123.2, 123.3, 134.6, 134.7	123.2, 123.3, 123.7, 134.6, 135.0	123.1, 123.6, 127.4, 130.9, 134.6, 134.9
$ar\underline{C}-CH_3$	-	-	145.7	145.5
$C=O$	166.9, 167.0, 168.2	168.2, 168.5	168.2, 168.4, 168.5	163.9, 168.1, 168.2

Tabelle 31. ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen **5c-5e** und **6**, 100 MHz, DMSO

8.2.10.2 Synthese der aminosubstituierten Naphmethonium-Derivate **3j** und **3k**

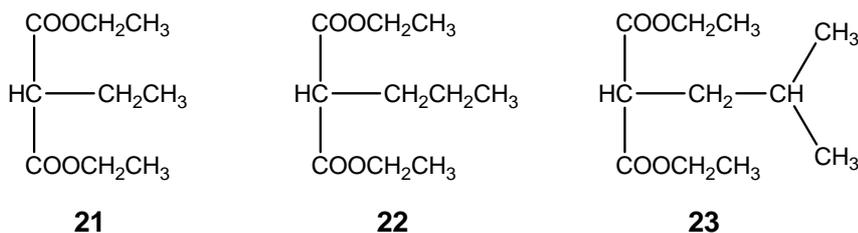
0.42 g (0.5 mmol) der Verbindung **3l** bzw. **3m** werden in 100 ml Methanol gelöst. Unter Verwendung von 50 mg Palladium-Kohle-Katalysator (10%) wird der Reaktionsansatz für 20 Stunden bei 3.5 atm an der Schüttelapparatur hydriert. Nachdem die Reaktion beendet ist, filtriert man den Katalysator ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der ölige Rückstand wird in Ethylacetat aufgenommen und erhitzt. Der nach einigen Minuten entstehende Feststoff wird abfiltriert und anschließend im Vakuum über P_2O_5 getrocknet.

Verb.	Summenformel	Molmasse [g/mol]	IR-Daten [cm^{-1}]	Mp [$^{\circ}\text{C}$]	Ausbeute
3j	$\text{C}_{38}\text{H}_{51}\text{Br}_2\text{N}_5\text{O}_4$	801.7	720, 779, 1342, 1394, 1619, 1704, 2951, 3192	185	53%
3k	$\text{C}_{38}\text{H}_{51}\text{Br}_2\text{N}_5\text{O}_4$	801.7	719, 779, 1037, 1352, 1637, 1701, 2963, 3159	181	65%

Tabelle 32. Analytische Daten der Verbindungen **3j** und **3k**

Die NMR-spektroskopischen Daten der Verbindungen **3j** und **3k** sind in den Tabellen 27 und 30 aufgeführt.

8.2.11 Synthese einfach alkylierter Malonsäureester⁸³



Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der Verbindungen 21-23:

Es wird eine Natriumethanolatlösung aus 4.6 g (200 mmol) Natrium und 100 ml wasserfreiem Ethanol hergestellt. Man tropft zur heißen Lösung 32.0 g (200 mmol) Malonsäurediethylester zu. Anschließend werden unter leichtem Sieden 210 mmol des entsprechenden Alkylbromids zugegeben. Man kocht zwei bis fünf Stunden, bis der Reaktionsansatz keine basische Reaktion mehr zeigt. Man destilliert das Lösungsmittel im Vakuum ab und löst das abgeschiedene Natriumbromid in Wasser. Die organische Phase wird abgetrennt und die Wasserphase noch zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wird das Lösungsmittel abdestilliert. Zur Reinigung des Rohprodukts wird im Vakuum über eine 30cm-Vigreux-Kolonne destilliert. Die Endprodukte sind farblose Flüssigkeiten.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Alkylbromid	Reaktionszeit [h]	Siedepunkt [°C/mbar]	Ausbeute (Lit.)
21	C ₉ H ₁₆ O ₄	188.2	Ethylbromid	4	109 / 27	65% (85%)
22	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	202.2	Propylbromid	2	101 / 15	67% (85%)
23	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	216.3	i-Butylbromid	5	123 / 24	64% (80%)

Tabelle 33. Analytische Daten der Verbindungen 21-23

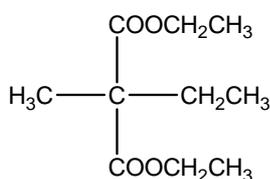
Verb.	COOCH ₂	COOCH ₂ CH ₃	-CH-	Substituent		
21	4.17 (qu, J 7.2)	1.24 (t, J 7.2)	3.22 (t, J 7.5)	1.90 (quin, J 7.5, 2H)	0.96 (t, J 7.5, 3H)	-
22	4.19 (qu, J 7.2)	1.26 (t, J 7.2)	3.32 (t, J 7.6)	1.87 (qu, J 7.6, 2H)	1.35 (m, 2H)	0.93 (t, J 7.3, 3H)
23	4.18 (qu, J 7.2)	1.26 (t, J 7.2)	3.40 (t, J 7.7)	1.78 (t, J 7.3, 2H)	1.57 (m, 1H)	0.91 (d, J 6.6, 6H)

Tabelle 34. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen 21-23, 400 MHz, CDCl₃

Verb.	COOCH ₂	COOCH ₂ CH ₃	-CH-	Substituent -C ₁ -C ₂ -C ₃			C=O
				C ₁	C ₂	C ₃	
21	61.1	14.0	53.5	22.1	11.7	-	169.4
22	61.2	14.0	51.8	30.7	20.6	13.6	169.6
23	61.2	14.0	50.3	37.5	26.1	22.2	169.7

Tabelle 35. ¹³C-NMR-Daten der Verbindungen 21-23, 100 MHz, CDCl₃

8.2.12 Herstellung zweifach alkylierter Malonsäureester: Synthese von Diethyl-2-ethyl-2-methylmalonat^{83,109}



24

Es wird eine Natriumethanolatlösung aus 2.3 g (100 mmol) Natrium und 50 ml wasserfreiem Ethanol hergestellt. Man legt 18.8 g (100 mmol) der Verbindung **21** und 15.6 g (110 mmol) Methyljodid vor und tropft zu dieser Mischung unter Wasserkühlung die Natriumethanolatlösung. Man erhitzt nach zwei Stunden noch für drei Stunden auf 40°C und lässt den Ansatz dann bei Raumtemperatur über Nacht stehen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und man löst das ausgefallene Natriumjodid in wenig Wasser. Die organische Phase wird abgetrennt und man extrahiert anschließend die Wasserphase noch zweimal mit Diethylether. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Destillation des Rohproduktes erfolgt im Vakuum über eine Kolonne. Verbindung **24** wurde nach einer allgemeinen Synthesevorschrift hergestellt,⁸³ ist dort aber nicht explizit beschrieben. Die analytischen Literaturdaten der Verbindung wurden bei Conrad entnommen.¹⁰⁹

Molekulargewicht: 202.3 g/mol

Summenformel: C₁₀H₁₈O₄

Siedepunkt: 91°C / 14 mbar (Lit.: 207°C)

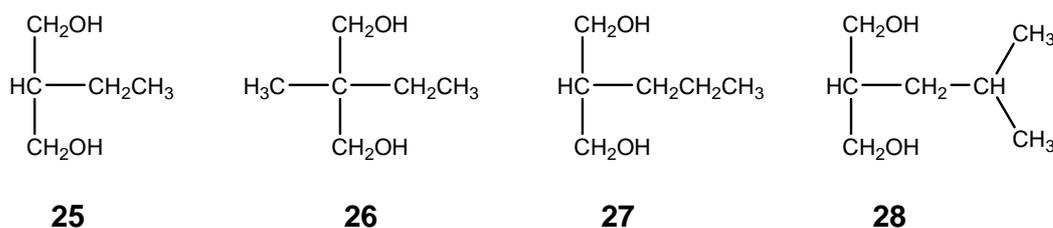
Ausbeute: 14.9 g (74%, Lit.: 54%)

IR [cm⁻¹]: 861, 1026, 1124, 1154, 1253, 1306, 1460, 1734, 2942, 2981

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 0.86 (t, *J* 7.6, -C-CH₂CH₃), 1.24 (t, *J* 7.2, O=C-CH₂CH₃), 1.37 (s, -C-CH₃), 1.89 (qu, *J* 7.6, -C-CH₂CH₃), 4.17 (qu, *J* 7.2, O=C-CH₂-)

¹³C-NMR: 8.6 (-C-CH₂CH₃), 14.0 (O=C-CH₂CH₃), 19.2 (-C-CH₃), 28.5 (-C-CH₂CH₃), 54.0 (C_{qu}), 61.0 (O=C-CH₂-), 172.4 (C=O)

8.2.13 Synthese einfach und zweifach alkylierter 1,3-Propandiolderivate



Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der Verbindungen 25-28:

7.80 g (170 mmol) Lithiumaluminiumhydrid-Pulver werden in 200 ml wasserfreiem Diethylether suspendiert. Unter Eiskühlung werden 100 mmol des entsprechenden substituierten Malonsäureesters **21-24** in 30 ml wasserfreiem Diethylether langsam zugetropft, so dass die Lösung mäßig siedet. Man erhitzt etwa vier Stunden unter Rückfluss. Anschließend wird der Reaktionsansatz mit möglichst wenig Eiswasser unter Eiskühlung vorsichtig hydrolysiert. Der Niederschlag wird abfiltriert und die Lösung über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der flüssige Rückstand im Vakuum fraktioniert destilliert. Die erhaltenen Endprodukte sind farblose, viskose Flüssigkeiten, die bei 4°C erstarren.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Edukt	R ₁	R ₂	Siedepunkt [°C/mbar]	Ausbeute
25	C ₅ H ₁₂ O ₂	104.2	21	-ethyl	H	134 / 22	60%
26	C ₆ H ₁₄ O ₂	118.2	24	-ethyl	-methyl	131 / 31	40%
27	C ₆ H ₁₄ O ₂	118.2	22	-propyl	H	135 / 22	59%
28	C ₇ H ₁₆ O ₂	132.2	23	<i>i</i> -butyl	H	136 / 17	53%

Tabelle 36. Analytische Daten der Verbindungen 25-28

Verb.	CH ₂ OH	-CH-	C-CH ₃	Substituent		
25	3.63 (dd, <i>J</i> 7.7, 10.6) 3.79 (dd, <i>J</i> 3.8, 10.6)	1.64 (m)	-	1.27 (quin, <i>J</i> 7.6, 2H)	0.92 (t, <i>J</i> 7.6, 3H)	-
26	3.54 (d, <i>J</i> 6.3)	-	0.81 (s)	1.37 (qu, <i>J</i> 7.6, 2H)	0.87 (t, <i>J</i> 7.6, 3H)	-
27	3.58 (dd, <i>J</i> 7.7, 10.6) 3.75 (dd, <i>J</i> 3.8, 10.6)	1.79 (m)	-	1.23 (br, 2H)	1.35 (br, 2H)	0.92 (t, <i>J</i> 7.2, 3H)
28	3.54 (dd, <i>J</i> 7.7, 10.6) 3.72 (dd, <i>J</i> 3.8, 10.6)	1.84 (m)	-	1.06 (t, <i>J</i> 7.2, 2H)	1.61 (m, 1H)	0.89 (d, <i>J</i> 6.6, 6H)

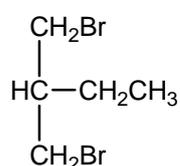
Tabelle 37. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen 25-28, 400 MHz, CDCl₃

Verb.	$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$	$-\underline{\text{C}}\text{H}-$	$\underline{\text{C}}_{\text{quart}}$	$\underline{\text{C}}-\text{CH}_3$	Substituent $-\text{C}_1-\text{C}_2-\text{C}_3$		
					C_1	C_2	C_3
25	65.6	43.6	-	-	20.6	11.6	-
26	70.2	-	38.8	17.8	26.2	7.6	-
27	66.6	41.6	-	-	29.9	20.3	14.3
28	66.7	39.5	-	-	36.8	25.4	22.8

Tabelle 38. ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen **25-28**, 100 MHz, CDCl_3

8.2.14 Synthese einfach substituierter 1,3-Dibrompropanderivate

8.2.14.1 Synthese von 1-Brom-2-(brommethyl)butan⁸⁴



29

Unter Eiskühlung werden zu 29 g Bromwasserstoffsäure 48% 8.5 g konzentrierte Schwefelsäure zugetropft. Unter heftigem Rühren tropft man bei 0°C zu dieser Lösung langsam 6.25 g (60 mmol) der Verbindung **25** und anschließend nochmals 14.5 g konzentrierte Schwefelsäure zu. Man erhitzt die Lösung 16 Stunden auf 100°C. Die erkaltete Reaktionsmischung wird auf 100 ml Eiswasser gegossen und mehrmals mit ca. 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10%iger NaHCO_3 -Lösung und mit Wasser gewaschen. Man trocknet über Natriumsulfat und entfernt das Lösungsmittel. Die Reinigung des braunen Rohprodukts erfolgt durch fraktionierte Destillation. Man erhält eine klare grünliche Lösung.

Molekulargewicht: 229.9 g/mol

Summenformel: $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{Br}_2$

Siedepunkt: 71°C / 11 mbar (Lit.: 60-65 °C / 2 mbar)

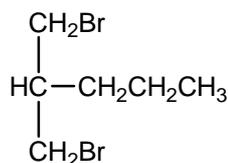
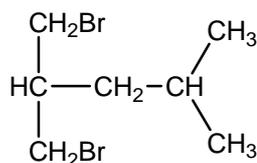
Ausbeute: 7.0 g (51%, Lit.: 50%)

IR [cm^{-1}]: 616, 652, 1218, 1240, 1265, 1430, 1459, 2874, 2932, 2965

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): 0.96 (t, J 7.2, $-\text{CH}_3$), 1.50 (quin, J 7.2, $-\text{CHCH}_2\text{CH}_3$), 1.89 (br, $-\text{CH}-$), 3.49 (dd, J 6.4, 10.2, $-\text{CH}_2\text{Br}$), 3.60 (dd, J 4.2, 10.2, $-\text{CH}_2\text{Br}$)

^{13}C -NMR: 11.2 ($-\text{CH}_3$), 24.4 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$), 35.9 ($-\text{CH}_2\text{Br}$), 43.2 ($-\text{CH}-$)

8.2.14.2 Synthese von 1-Brom-2-(brommethyl)pentan und 1-Brom-2-(brommethyl)-4-methylpentan⁸⁵

**30****31**

21.65 g (80 mmol) Phosphortribromid werden unter Wasserkühlung langsam zu 40 mmol der Verbindung **27** bzw. **28** zugetropft, wobei die Temperatur der Lösung 70 °C nicht übersteigen soll. Man erhitzt die Mischung fünf Stunden auf 100°C. Die erkaltete Lösung wird auf 100 ml Eiswasser gegossen. Man extrahiert den Ansatz drei Mal mit 70 ml Diethylether und wäscht die vereinigten organischen Phasen mit 10%iger NaHCO₃-Lösung und Wasser. Es wird über Natriumsulfat getrocknet und man entfernt das Lösungsmittel. Das Reaktionsprodukt wird durch Destillation gereinigt. Man erhält farblose Flüssigkeiten.

30

Molekulargewicht: 244.0 g/mol

Summenformel: C₆H₁₂Br₂

Siedepunkt: 93°C / 14 mbar (Lit.: 65-69°C / 2 mbar)

Ausbeute: 5.9 g (60%, Lit.: 80%)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 0.94 (t, *J* 7.1, -CH₃), 1.36 (m, -CHCH₂-), 1.46 (m, -CHCH₂CH₂-), 1.99 (br, CH), 3.49 (dd, *J* 6.4, 10.2, -CH₂Br), 3.61 (dd, *J* 4.2, 10.2, -CH₂Br)

¹³C-NMR: 13.9 (-CH₃), 19.9 (-CH₂CH₃), 33.6 (-CHCH₂CH₂-), 36.3 (-CH₂Br), 41.4 (-CH-)

31

Molekulargewicht: 258.0 g/mol

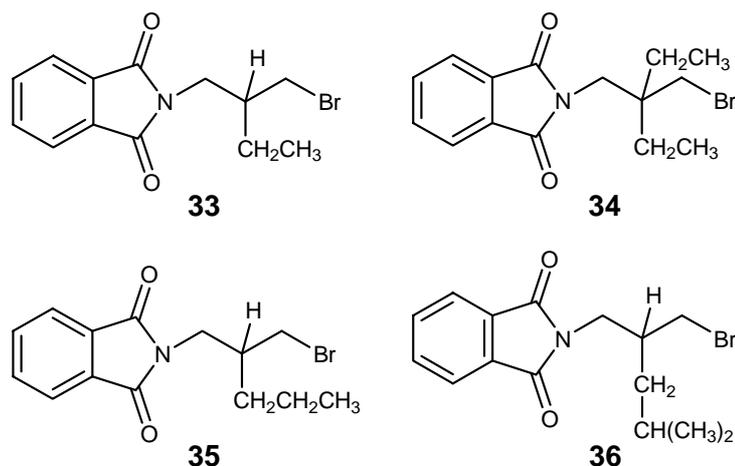
Summenformel: C₇H₁₄Br₂

Siedepunkt: 72°C / 4 mbar (Lit.: 72°C / 2 mbar)

Ausbeute: 6.1 g (64%, Lit.: 63%)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 0.92 (d, *J* 6.8, (CH₃)₂), 1.32 (t, *J* 7.1, -CHCH₂CH-), 1.66 (sept, *J* 6.8, -CH(CH₃)₂), 2.05 (m, -CHCH₂Br), 3.47 (dd, *J* 6.4, 10.2, -CH₂Br), 3.61 (dd, *J* 4.2, 10.2, -CH₂Br)

¹³C-NMR: 22.5 (CH₃)₂, 25.2 (-CH(CH₃)₂), 36.6 (-CH₂Br), 39.3 (-CHCH₂Br), 40.6 (-CHCH₂CH-)

8.2.15 Synthese von N-(3-Brompropyl)isoindolin-1,3-dion-Derivaten⁸⁶Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Verbindungen 33-36:

1.11 g (6 mmol) Kaliumphthalimid und 18 mmol der entsprechenden Dibromverbindung **29-31** bzw. 2,2-Diethyl-1,3-dibrompropan werden in 30 ml DMF gegeben. Die Mischung wird für sieben Stunden auf 80°C (für Verbindung **33** auf 100°C) erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird die überstehende Lösung vom ausgefallenen Kaliumbromid abdekantiert und das Lösungsmittel wird im Vakuum abdestilliert. Der flüssige Rückstand wird in Diethylether aufgenommen und mehrmals mit viel Wasser ausgeschüttelt. Man trocknet die organische Phase über Natriumsulfat und destilliert das Lösungsmittel ab. Das flüssige Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CH₂Cl₂, R_f 0.45-0.65). Das Endprodukt erhält man als farbloses Öl, das nach einigen Tagen bei 4°C zu einem weißen, wachsartigen Feststoff erstarrt.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Edukt	R ₁	R ₂	Mp [°C]	Ausbeute
33	C ₁₃ H ₁₄ BrNO ₂	296.2	29	-ethyl	H	42	41%
34	C ₁₅ H ₁₈ BrNO ₂	324.2	*	-ethyl	-ethyl	57	68%
35	C ₁₃ H ₁₄ BrNO ₂	310.2	30	-propyl	H	53	46%
36	C ₁₃ H ₁₄ BrNO ₂	324.2	31	-i-butyl	H	61	46%

Tabelle 39. Analytische Daten der Verbindungen 33-36, * kommerziell erhältlich

Verb.	IR-Daten [cm ⁻¹]
33	632, 710, 945, 1064, 1263, 1390, 1427, 1703, 2968
34	651, 711, 908, 1241, 1332, 1390, 1425, 1707, 2961
35	618, 721, 950, 1062, 1353, 1392, 1701, 2926, 2955
36	710, 796, 951, 1069, 1362, 1395, 1699, 2956

Tabelle 40. IR-Daten der Verbindungen 33-36

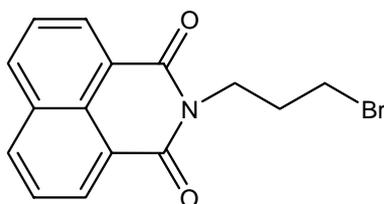
Verb	N-CH ₂ -	CH ₂ -CH-CH ₂	CH ₂ Br	Substituent	CH-Aromat
33	3.70 (dd, <i>J</i> 6.6, 13.9) 3.79 (dd, <i>J</i> 7.3, 13.9)	2.17 (br)	3.44, 3.49 (dd, <i>J</i> 4.8, 10.6)	0.98 (t, <i>J</i> 7.5, 1H) 1.42-1.58 (m, 2H)	7.74 (m) 7.84 (m)
34	3.71 (s)	-	3.43 (s)	0.95 (t, <i>J</i> 7.5, 3H) 1.46-1.49 (m, 2H)	7.74 (m) 7.84 (m)
35	3.69 (dd, <i>J</i> 6.4, 13.9) 3.75 (dd, <i>J</i> 7.1, 13.9)	2.24 (br)	3.42, 3.47 (dd, <i>J</i> 4.7, 10.5)	0.93 (t, <i>J</i> 7.5, 3H) 1.32-1.57 (m, 4H)	7.74 (m) 7.84 (m)
36	3.67 (dd, <i>J</i> 5.9, 13.9) 3.75 (dd, <i>J</i> 8.0, 13.9)	2.31 (br)	3.40, 3.45 (dd, <i>J</i> 4.7, 10.5)	0.93 (dd, <i>J</i> 6.5, 25.5, 6H) 1.15-1.22 (m, 1H) 1.42-1.49 (m, 1H) 1.68-1.78 (m, 1H)	7.74 (m) 7.84 (m)

Tabelle 41. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen 33-36, 400 MHz, CDCl₃

Verb	N-CH ₂ -	-CH-	-C-	CH ₂ Br	Substituent	C-Aromat	CH-Aromat	C=O
33	40.9	40.5	-	35.5	23.4 10.7	132.1	123.3 134.0	168.5
34	42.6	-	41.4	40.9	26.8 7.9	132.0	123.3 134.0	169.0
35	41.1	38.8	-	36.0	32.7 19.5 14.0	132.0	123.3 134.0	168.5
36	41.3	36.5	-	36.8	39.9 25.1 22.9	132.0	123.3 134.0	168.5

Tabelle 42. ¹³C-NMR-Daten der Verbindungen 33-36, 400 MHz, CDCl₃

8.2.16 Synthese von N-(3-Brompropyl)-1,8-benzo[de]isochinolin-1,3-dion⁷⁷



37

2.96 g (15 mmol) Naphthalimid werden in 90 ml DMF suspendiert und mit 12.1 g (60 mmol) 1,3-Dibrompropan versetzt. In diese Mischung werden 15 ml einer frisch hergestellten

Natriummethanolatlösung (1.3 g Natrium in 50 ml wasserfreiem Methanol) gegeben. Der Reaktionsansatz wird nach kurzer Zeit klar. Man rührt noch 90 Minuten bei Raumtemperatur und beendet die Reaktion durch Zugabe von 150 ml Eiswasser. Der entstehende hellbraune Niederschlag wird abfiltriert und getrocknet. Das Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert, aus dem der hellbraune Feststoff in Form kleiner Nadeln ausfällt. Diese werden im Vakuum über P_2O_5 getrocknet.

Molekulargewicht: 318.2 g/mol

Summenformel: $C_{15}H_{12}BrNO_2$

Schmelzpunkt: $142^\circ C$

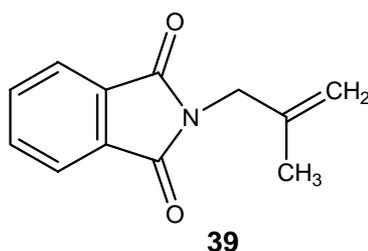
Ausbeute: 2.00 g (42%)

IR [cm^{-1}]: 778, 846, 1243, 1338, 1585, 1658, 1693, 2948, 3062

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 2.34 (quin, J 7.1, $-CH_2CH_2CH_2-$), 3.50 (t, J 6.8, $-CH_2Br$), 4.33 (t, J 7.1, NCH_2), 7.75 (dd, J 7.3, 8.1, 2H), 8.21 (dd, J 8.1, 1.0, 2H), 8.59 (dd, J 7.3, 1.0, 2H)

^{13}C -NMR: 30.5 ($-CH_2CH_2Br$), 31.4 ($-CH_2CH_2Br$), 39.2 (NCH_2-), 122.4, 127.6, 131.4 (alle C_{ar}); 127.5, 131.1, 134.5 (alle CH_{ar}); 164.2 ($C=O$)

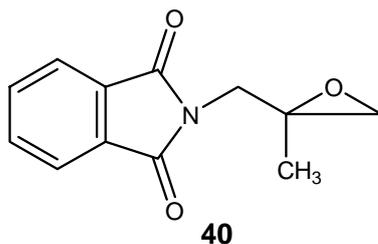
8.2.17 Synthese von N-(2-Methyl-2-propenyl)isoindolin-1,3-dion⁸⁷



Zu einer Suspension von 4.63 g (0.025 mol) Kaliumphthalimid in 25 ml DMF werden 2.26 g (0.025 mmol) 3-Chlor-2-methyl-1-propen zugegeben. Die Mischung wird drei Stunden auf $95^\circ C$ erhitzt. Man lässt abkühlen und gießt die Reaktionslösung auf 100 ml Eiswasser. Der ausgefallene weiße Feststoff wird abfiltriert und ohne weitere Aufarbeitung im Vakuum über P_2O_5 getrocknet.

Molekulargewicht:	201.2 g/mol
Summenformel:	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂
Schmelzpunkt:	89°C (Lit.: 85-88°C)
Ausbeute:	4.38 g (87%, Lit.: 71%)
IR [cm ⁻¹]:	710, 725, 881, 945, 1124, 1323, 1391, 1428, 1709, 2970
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃):	1.79 (s, -CH ₃), 4.22 (s, N _{Phth} CH ₂ -), 4.85 (d, -C=CH ₂), 7.74-7.86 (m, CH _{ar})
¹³ C-NMR:	43.2 (N _{Phth} CH ₂ -), 112.0 (-C=CH ₂), 139.3 (C _{qu}), 132.0 (C _{ar}), 123.3, 134.0 (CH _{ar}), 168.0 (C=O)

8.2.18 Synthese von (2-Methyloxiran-2-yl)-N-methyl-isoindolin-1,3-dion⁸⁷

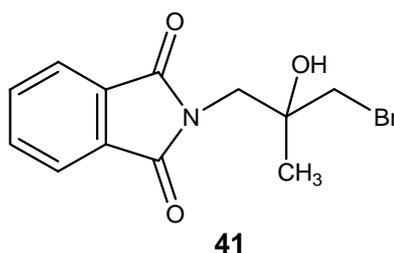


4.02 g (0.02 mol) der Verbindung **39** werden in 30 ml Chloroform gelöst. Man tropft langsam eine Lösung von 4.93 g (0.02 mol) 3-Chlorperoxybenzoesäure in 30 ml Chloroform zu. Der Reaktionsansatz wird über Nacht stehen gelassen und am nächsten Tag dann noch eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Man wäscht nacheinander je zwei Mal mit 5%iger NaHCO₃-Lösung, Wasser, 5%iger Na₂SO₃-Lösung und nochmals Wasser. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff wird im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

Molekulargewicht:	217.2 g/mol
Summenformel:	C ₁₂ H ₁₁ NO ₃
Schmelzpunkt:	98°C (Lit.: 98-100°C)
Ausbeute:	3.90 g (90%, Lit.: 79%)
IR [cm ⁻¹]:	710, 725, 954, 1053, 1321, 1403, 1426, 1703, 2931

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 1.38 (s, CH_3), 2.62 (d, J 4.6, $-\text{OCH}_2$), 2.81 (d, J 4.6, $-\text{OCH}_2$), 3.70 (d, J 14.4, NCH_2-), 4.01 (d, J 14.4, NCH_2-), 7.72-7.87 (m, CH_{ar})
 $^{13}\text{C-NMR}$: 19.5 ($-\text{CH}_3$), 42.6 (NCH_2-), 52.7 ($\text{CH}_2-\text{O}-$), 54.9 (C_{qu}), 123.4, 134.1 (CH_{ar}), 131.9 (C_{ar}), 168.0 ($\text{C}=\text{O}$)

8.2.19 Synthese von N-[(3-Brom-2-hydroxy-2-methyl)propyl]isoindolin-1,3-dion⁸⁷



2.17 g (10 mmol) des Epoxids **40** werden bei 70°C in 10 ml Ethanol gelöst. Man versetzt mit 1.5 ml 48%iger Bromwasserstoffsäure. Der Reaktionsansatz wird bei Raumtemperatur über Nacht stehen gelassen. Am nächsten Tag wird tropfenweise soviel Wasser zugegeben, bis sich ein bleibender Niederschlag bildet. Die Fällung wird über Nacht bei 4°C vervollständigt. Der voluminöse weiße Niederschlag wird abfiltriert. Zur Reinigung wird das Rohprodukt in wenig Ethanol unter Erwärmen gelöst. Man tropft Wasser bis zur bleibenden Trübung zu und erhitzt, bis eine klare Lösung entsteht. Der bei 4°C entstehende weiße Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum über P_2O_5 getrocknet.

Molekulargewicht: 298.1 g/mol

Summenformel: $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrNO}_3$

Schmelzpunkt: 88°C (Lit.: $88-89^\circ\text{C}$)

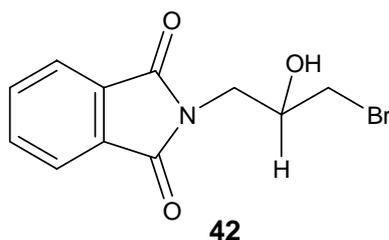
Ausbeute: 2.18 g (73%, Lit.: 63%)

IR [cm^{-1}]: 677, 712, 726, 1065, 1319, 1381, 1422, 1708, 3512

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 1.37 (s, CH_3), 3.48 (d, J 10.6, $-\text{CH}_2\text{Br}$), 3.51 (d, J 10.6, $-\text{CH}_2\text{Br}$), 3.88 (d, J 14.4, NCH_2-), 4.00 (d, J 14.4, NCH_2-), 7.74-7.89 (m, CH_{ar})

$^{13}\text{C-NMR}$: 24.0 ($-\text{CH}_3$), 41.6 ($-\text{CH}_2\text{Br}$), 46.1 (NCH_2-), 72.1 (C_{qu}), 123.6, 134.3 (CH_{ar}), 131.8 (C_{ar}), 169.0 ($\text{C}=\text{O}$)

8.2.20 Synthese von N-(3-Brom-2-hydroxypropyl)isoindolin-1,3-dion



7.1 g (35 mmol) käuflich erhältliches N-(2,3-Epoxypropyl)phthalimid werden bei 70°C in 40 ml Ethanol gelöst. Man tropft unter Rühren 5 ml 48%ige Bromwasserstoffsäure zu und lässt den Ansatz über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Der entstandene weiße Niederschlag wird abfiltriert, mit Ethanol gewaschen und im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

Molekulargewicht: 284.1 g/mol

Summenformel: C₁₁H₁₀BrNO₃

Schmelzpunkt: 106 °C

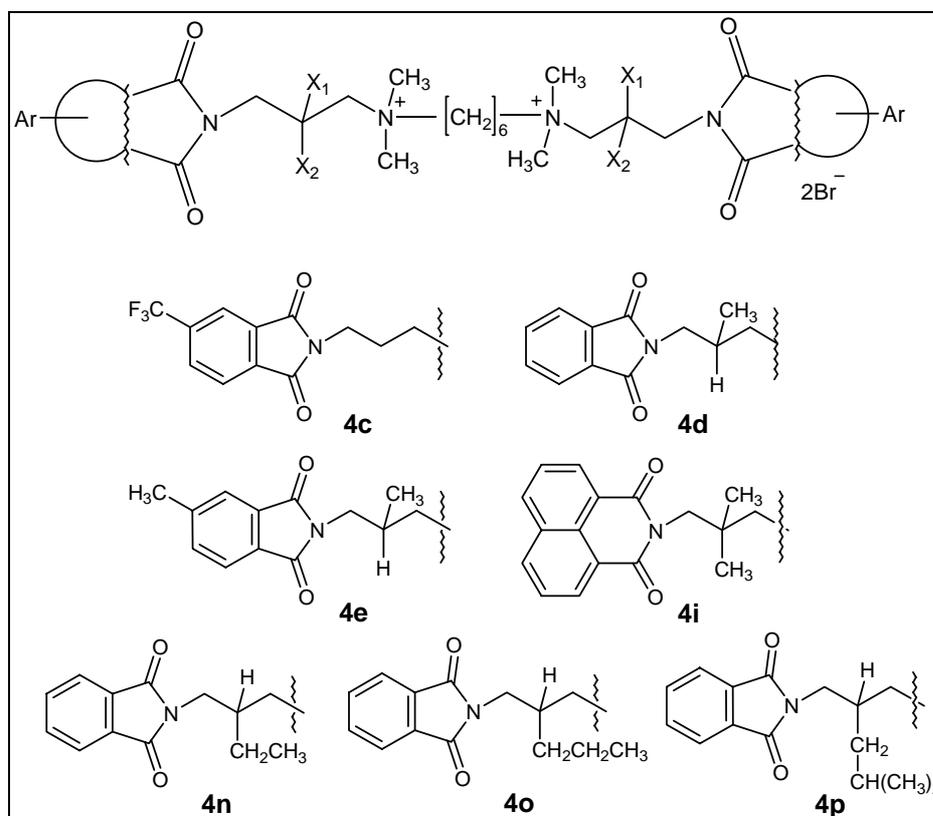
Ausbeute: 4.60 g (46%)

IR [cm⁻¹]: 716, 1035, 1061, 1272, 1395, 1688, 3460

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 2.61 (s, OH), 3.42 (dd, *J* 4.7, 10.7, -CH₂Br), 3.48 (dd, *J* 5.6, 10.7, -CH₂Br), 3.81 (dd, *J* 4.3, 14.1, NCH₂-), 3.89 (dd, *J* 7.3, 14.1, NCH₂-), 4.15 (m, -CH-), 7.75 (m, 2H), 7.86 (m, 2H)

¹³C-NMR: 36.4 (-CH₂Br), 42.3 (NCH₂-), 69.3 (-CH-), 123.5, 134.3 (CH_{ar}), 131.8 (C_{ar}), 168.6 (C=O)

8.2.21 Synthese der symmetrischen W84-Derivate



8.2.21.1 Umsetzung von Dimethylaminopropylphthalimiden mit 1,6-Dibromhexan

2 Äquivalente der Verbindung **1c-1e** und 1 Äquivalent 1,6-Dibromhexan werden in 30 ml Acetonitril gelöst. Man gibt eine Spatelspitze einer Mischung aus KI/K₂CO₃ (1:1) zur Reaktionslösung und erhitzt ein bis zwölf Tage zum Sieden. Der Reaktionsverlauf wird mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt (CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2, R_f 0.35-0.5).

Aufarbeitung **4d** und **4e**: Die Lösung wird etwa auf die Hälfte eingengt. Es bildet sich nach etwa 24 Stunden bei 4°C ein Niederschlag. Man filtriert ab und wäscht mit wenig Acetonitril und Pentan.

Aufarbeitung **4c**: Es bildet sich bereits in der siedenden Lösung ein voluminöser Niederschlag. Man filtriert den Niederschlag ab und wäscht mit Acetonitril und Pentan. Verbindung **4i** wird abweichend von dieser Vorschrift nach der in Kapitel 2.1.6 beschriebenen Methode aus den Edukten **1i** und **2i** hergestellt. Das Rohprodukt wird mit heißem Acetonitril und mit Pentan gewaschen.

Die erhaltenen weißen Feststoffe **4c-4e** und **4i** wurden alle im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Edukte	Reaktionszeit [d]	Ausbeute	Mp [°C]
4c	C ₃₄ H ₄₂ Br ₂ F ₃ N ₄ O ₄	844.5	1c	2	49%	246
4d	C ₃₄ H ₄₈ Br ₂ N ₄ O ₄	736.6	1d	4	65%	227
4e	C ₃₆ H ₅₂ Br ₂ N ₄ O ₄	764.6	1e	4	63%	218
4i	C ₄₄ H ₅₆ Br ₂ N ₄ O ₄	864.8	1i + 2i	12	34%	248

Tabelle 43. Analytische Daten der Verbindungen **4c-4e** und **4i**

Verb	Beschreibung	IR-Daten [cm ⁻¹]
4c	weißes Pulver	691, 744, 1098, 1120, 1164, 1317, 1394, 1717, 2947, 3004
4d	weißes Pulver	727, 929, 1050, 1358, 1402, 1709, 1771, 2935, 3009
4e	weißes Pulver	740, 847, 1047, 1365, 1438, 1701, 1763, 2932
4i	hellgelbes Pulver	781, 918, 939, 1238, 1341, 1587, 1655, 1703, 2361, 2931

Tabelle 44. IR-Daten der Verbindungen **4c-4e** und **4i**

Die NMR-Daten der Verbindungen **4c-4e** und **4i** sind in den Tabellen 47 und 48 aufgeführt.

8.2.21.2 Umsetzung von Brompropylphthalimiden mit *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamin

2.1 Äquivalente der entsprechenden *N*-(3-Brompropyl)phthalimidderivate **33**, **35** bzw. **36** und 1 Äquivalent *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamin werden in 30 ml Acetonitril gelöst. Man gibt eine Spatelspitze einer Mischung aus KI/K₂CO₃ (1:1) zur Reaktionslösung und erhitzt drei bis sieben Tage zum Sieden. Der Reaktionsverlauf wird mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt (CH₃OH/0.2 M NH₄NO₃-Lösung 3:2, R_f 0.3-0.45). Nach beendeter Reaktion wird die Lösung etwa auf die Hälfte eingengt. Es bildet sich nach zwei bis drei Tagen bei 4°C ein Niederschlag. Dieser wird abgesaugt und mit wenig Acetonitril und Diethylether gewaschen. Man trocknet den Feststoff im Vakuum über P₂O₅.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Edukt	Reaktionszeit [d]	Ausbeute	Mp [°C]
4n	C ₃₆ H ₅₂ Br ₂ N ₄ O ₄	764.6	33	3	34%	186
4o	C ₃₈ H ₅₆ Br ₂ N ₄ O ₄	792.7	46	7	51%	71
4p	C ₄₀ H ₆₀ Br ₂ N ₄ O ₄	820.8	53	5	65%	77

Tabelle 45. Analytische Daten der Verbindungen **4n**, **4o** und **4p**

Verb	Beschreibung	IR-Daten [cm ⁻¹]
4n	weißes Pulver	724, 939, 1052, 1398, 1703, 1768, 2949, 3420
4o	hellgelbes Pulver	721, 1065, 1363, 1398, 1703, 1768, 2870, 2949, 3407
4p	weißes Pulver	723, 896, 1363, 1398, 1704, 1768, 2950, 3408

Tabelle 46. IR-Daten der Verbindungen **4n**, **4o** und **4p**

	4c	4d	4e	4i*
N_{Imid}-CH₂-	3.70 (t, <i>J</i> 6.2)	3.49-3.62 (m)	3.49-3.62 (m)	4.30 (s)
N_{Imid}-CH₂CH₂-	2.07 (br)	-	-	-
N_{Imid}-CH₂-CH-	-	2.51 (br)	2.51 (br)	-
-CH-CH₃	-	1.06 (d, <i>J</i> 6.6)	1.05 (d, <i>J</i> 6.6)	-
C(CH₃)₂	-	-	-	1.32 (s)
-CH₂-N⁺	3.37 (br)	3.33 (br)	3.33 (br)	3.57 (s)
N(CH₃)₂	3.00 (s)	3.08 (s)	3.12 (s)	3.32 (s)
N⁺CH₂-	3.26 (br)	3.28 (br)	3.28 (br)	3.54 (br)
N⁺CH₂-CH₂-	1.65 (br)	1.68 (br)	1.72 (br)	1.97 (br)
N⁺(CH₂)₂-CH₂-	1.29 (br)	1.26 (br)	1.31 (br)	1.55 (br)
phth-CH₃	-	-	2.51 (s)	-
CH_{aromat}	8.11 (d, <i>J</i> 7.8) 8.22-8.25 (s, d, <i>J</i> 7.8)	7.88 (m)	7.67 (d, <i>J</i> 7.6) 7.71 (s) 7.77 (d, <i>J</i> 7.6)	7.78 (d, <i>J</i> 7.3) 8.30 (d, <i>J</i> 8.5) 8.50 (t, <i>J</i> 7.8)

Tabelle 47. ¹H-NMR-Daten der Verbindungen **4c-4e** und **4i**, 400 MHz, DMSO, *MeOH

	4c	4d	4e	4i*
N_{Imid}-CH₂	35.2	42.8	42.8	49.8
N_{Imid}-CH₂CH₂	21.6	-	-	-
N_{Imid}-CH₂-CH-	-	27.8	27.8	-
-CH-CH₃	-	18.8	18.8	-
C(CH₃)₂	-	-	-	26.5
-CH₂-N⁺	63.2	67.1	67.1	74.1
N⁺(CH₃)₂	50.2	50.2, 50.3	50.2, 50.3	53.5
N⁺CH₂-	61.0	63.5	63.5	69.3
N⁺CH₂-CH₂-	21.6	21.8	21.8	23.7
N⁺(CH₂)₂-CH₂-	25.4	25.4	25.3	26.5
Ph-CH₃	-	-	21.5	-
arC-CH₃	-	-	145.6	-
C_{aromat}	123.4 (q), 133.1, 134.2, 135.5	131.7	129.0, 132.0, 145.7	123.5, 129.2, 133.1
CH_{aromat}	120.0, 131.7, 124.3	123.3, 134.7	123.3, 123.7, 135.0	128.2, 132.6, 135.7
C=O	166.9, 167.1	168.4	168.4, 168.5	166.7

Tabelle 48. ¹³C-NMR-Daten der Verbindungen **4c-4e** und **4i**, 100 MHz, DMSO, *MeOH

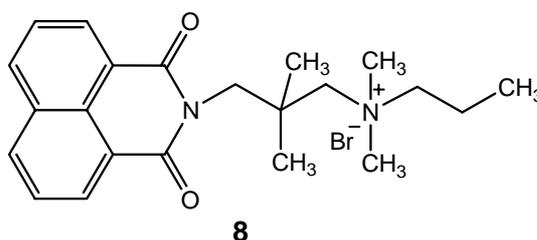
	4n	4o	4p
$N_{\text{Imid-CH}_2-}$	3.55-3.68 (m)	3.56-3.67 (m)	3.61 (br)
$N_{\text{Imid-CH}_2\text{CH-}}$	2.33 (br)	2.35 (br)	2.35 (br)
CH-CH_2-	1.34 (br)	1.48 (br)	1.25 (br)
$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	0.95 (t, <i>J</i> 7.3)	0.85 (t, <i>J</i> 6.7)	-
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	-	1.40 (br)	-
$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	-	-	1.75 (m)
$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	-	-	0.82, 0.91(d, <i>J</i> 6.5)
$-\text{CH}_2-\text{N}^+$	3.38 (br)	3.39 (br)	3.40 (br)
$\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$	3.09 (s)	3.10 (s), 3.11 (s)	3.08 (s), 3.09 (s)
N^+CH_2-	3.31 (br)	3.32 (br)	3.31 (br)
$\text{N}^+\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	1.68 (br)	1.72 (br)	1.69 (br)
$\text{N}^+(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-$	1.30 (br)	1.29 (br)	1.27 (br)
C_{aromat}	7.88 (m)	7.88 (m)	7.88 (m)

Tabelle 49. $^1\text{H-NMR}$ -Daten der Verbindungen **4n-4p**, 400 MHz, DMSO

	4n	4o	4p
$N_{\text{Imid-CH}_2-}$	40.8	41.2	41.6
$N_{\text{Imid-CH}_2\text{CH-}}$	33.4	32.3	30.5
$-\text{CH-CH}_2-$	24.5	18.5	42.0
$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	10.1	14.2	-
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	-	34.2	-
$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	-	-	22.5, 22.7
$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	-	-	24.6
$-\text{CH}_2-\text{N}^+$	65.1	65.6	66.6
$\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$	49.5	49.5	49.7
	49.9	50.0	50.1
N^+CH_2-	63.5	63.6	63.8
$\text{N}^+\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	21.8	21.8	21.8
$\text{N}^+(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-$	25.5	25.4	25.5
C_{aromat}	131.7	131.6	131.6
$\text{CH}_{\text{aromat}}$	123.4, 134.8	123.4, 134.8	123.4, 134.8
C=O	168.5	168.6	168.8

Tabelle 50. $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten der Verbindungen **4n-4p**, 100 MHz, DMSO

8.2.22 Synthese von Propyl-[3-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[*de*]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethyl-propyl]-dimethylammoniumbromid



780 mg (2.5 mmol) der Verbindung **1i** werden in 5 ml 1-Brompropan gelöst und bei 80°C acht Tage gerührt. Der entstandene Niederschlag wird nach beendeter Reaktion abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Man trocknet den erhaltenen weißen Feststoff im Vakuum über P₂O₅.

Molekulargewicht: 433.4 g/mol

Summenformel: C₂₂H₂₉BrN₂O₂

Schmelzpunkt: 196°C

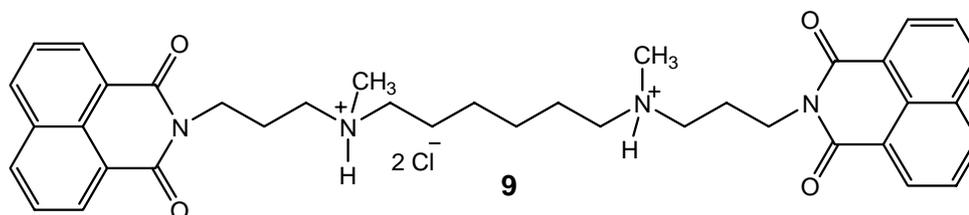
Ausbeute: 0.77 g (71%)

IR [cm⁻¹]: 783, 937, 1234, 1342, 1587, 1656, 1704

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 0.90 (t, *J* 7.2, -CH₂CH₃), 1.24 (s, C(CH₃)₂), 1.75 (m, -CH₂CH₃), 3.17 (s, N⁺(CH₃)₂), 3.36 (br, N⁺CH₂CH₂), 3.47 (s, CH₂N⁺), 4.13 (s, N_{Phth}CH₂), 7.89 (t, *J* 7.7, CH_{ar}, 2H), 8.49 (m, CH_{ar}, 4H)

¹³C-NMR: 10.7 (-CH₂CH₃), 15.9 (-CH₂CH₃), 25.7 (C(CH₃)₂), 49.1 (C(CH₃)₂), 52.2 (N⁺(CH₃)₂), 68.7 (N⁺CH₂CH₂-), 71.9 (-CH₂N⁺), 122.4, 127.6, 131.4 (alle C_{ar}), 127.4, 131.1, 134.5 (alle CH_{ar}), 164.8 (C=O)

8.2.23 Synthese von 2-{3-[1-(6-{1-Methyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-benzo[de]isochinolin-2-yl)-propyl]ammonio}hexyl)-1-methyl-ammonio]-propyl}-1,3-benzo[de]isochinolindion-Dichlorid (tertiäres WB64)



478 mg (1.5 mmol) N-(3-Brompropyl)-1,8-benzo[de]isochinolin-1,3-dion **37** und 110 mg (0.75 mmol) N,N'-Dimethyl-1,6-hexandiamin werden in 20 ml Acetonitril gelöst. Man gibt 1 g Kaliumcarbonat und eine Spatelspitze Kaliumiodid zu. Der Reaktionsansatz wird zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Der sich nach etwa einem Tag bildende voluminöse Niederschlag wird abfiltriert. Zur Reinigung wird das Rohprodukt in Chloroform gelöst und mit 3%iger NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt. Das nach dem Abdestillieren der organischen Phase zurückbleibende gelbe Öl erstarrt nach einigen Tagen zu einem wachsartigen Feststoff. Zur Fällung des Hydrochlorides wird die freie Base in der Wärme in einem kleinen Volumen einer Mischung aus Chloroform und Ethanol gelöst. Man tropft ca. 1 ml etherische Salzsäure zu. Bei 4°C fällt aus dieser Lösung ein weißer Feststoff aus. Man filtriert den Niederschlag ab, wäscht ihn mit Pentan und trocknet im Vakuum über P₂O₅.

Molekulargewicht: 691.6 g/mol

Summenformel: C₃₈H₄₄Cl₂N₄O₄

Schmelzpunkt: 272°C

Ausbeute: 90 mg (31%)

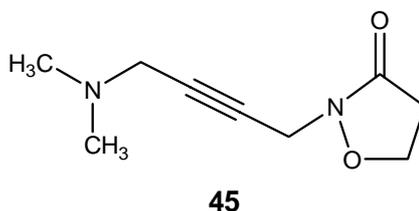
IR [cm⁻¹]: 778, 843, 1234, 1341, 1381, 1658, 1697, 2773, 2933

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): 1.58 (br, N⁺CH₂CH₂CH₂), 1.87 (br, N⁺CH₂CH₂), 2.06 (br, N_{Ph}CH₂CH₂), 2.97 (s, N⁺CH₃), 3.30 (br, CH₂N⁺CH₂), 3.79 (t, J 7.1, N_{Ph}CH₂), 7.34 (t, J 7.8, 2H_{ar}), 7.74 (d, J 7.3, 2H_{ar}), 7.80 (d, J 8.3, 2H_{ar})

¹³C-NMR: 22.5 (N_{Ph}CH₂CH₂), 22.8 (N⁺CH₂CH₂CH₂), 25.0 (N⁺CH₂CH₂), 37.6 (N_{Ph}CH₂), 40.9 (N⁺CH₃), 53.2 (CH₂N⁺), 55.1 (N⁺CH₂), 119.9, 126.2, 130.6 (alle C_{ar}), 127.1, 131.3, 135.7 (alle CH_{ar}), 164.9 (C=O)

8.2.24 Synthese der Oxotremorin-Analoga

8.2.24.1 Synthese von 2-(4-Dimethylamino)but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on⁹⁴



500 mg (2.9 mmol) 2-(4-Chlor-but-2-ynyl)isoxazolidin-3-on werden in 15 ml DMF gelöst. Man gibt 10 Tropfen bei -20°C verflüssigtes Dimethylamin zu und rührt die Reaktionsmischung 2 Stunden bei Raumtemperatur. Anschließend versetzt man mit 10 ml Wasser, säuert mit verdünnter Salzsäure an und schüttelt zwei Mal mit 30 ml Diethylether aus. Die wässrige Phase wird mit Kaliumcarbonat alkalisiert und sechs Mal mit 30 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Man trocknet die organische Phase über Natriumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Die Reinigung des öligen Rückstandes erfolgt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 9:1, R_f 0.40). Man erhält ein gelbes Öl.

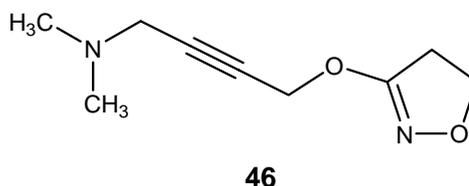
Molekulargewicht: 182.2 g/mol

Summenformel: $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$

Ausbeute: 330 mg (63%, Lit.: 65%)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 2.38 (s, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.78 (t, J 8.1, H-4), 3.37 (s, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.33 (s, $\text{C}\equiv\text{CH}_2\text{-N-O}$), 4.38 (t, J 8.1, H-5)

8.2.24.2 Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol⁹⁴



1.0 g (4.3 mmol) 3-(4-Hydroxybut-2-ynyl)oxy-4,5-dihydro-isoxazolmesylat werden in 20 ml Methanol gelöst. Man gibt 20 Tropfen bei -20°C verflüssigtes Dimethylamin zu und rührt den Ansatz 24 Stunden bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und man erhält als Rohprodukt ein braunes Öl. Zur Reinigung nimmt man es in Wasser auf, säuert mit verdünnter Salzsäure an und schüttelt zwei Mal mit 20 ml Diethylether aus. Dann

alkalisiert man die wässrige Phase mit Kaliumcarbonat und schüttelt fünf Mal mit 30 ml Dichlormethan aus. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und anschließend abdestilliert. Der ölige Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Kieselgel 9:1, R_f 0.50). Man erhält 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxy-4,5-dihydro-isoxazol **46** als gelbes Öl.

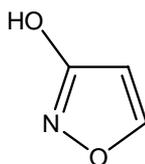
Molekulargewicht: 182.2 g/mol

Summenformel: $C_9H_{14}N_2O_2$

Ausbeute: 500 mg (65%, Lit.: 69%)

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 2.32 (s, $N(CH_3)_2$), 3.01 (t, J 9.7, H-4), 3.37 (s, $CH_2-N(CH_3)_2$), 4.42 (t, J 9.7, H-5), 4.81 (s, 2H, $C\equiv CH_2-O$)

8.2.24.3 Synthese von 3-Hydroxyisoxazol



47

Man löst 5.50 g (70 mmol) Hydroxylamin-HCl in 85 ml Ethanol und gibt diese Mischung zu einer Lösung von 8.1 g NaOH in 75 ml Wasser. Es werden unter Rühren langsam 5.20 g (60 mmol) Methylpropiolat in 20 ml Ethanol zugetropft. Man rührt den Ansatz über Nacht bei Raumtemperatur und destilliert anschließend das Ethanol ab. Die wässrige Lösung wird mit verdünnter Salzsäure auf pH 2 eingestellt und 15 Stunden an einer Soxhletapparatur mit Diethylether kontinuierlich extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Das halb feste Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 1:1, R_f = 0.53). Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man einen weißen Feststoff.

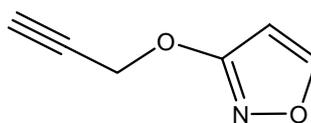
Molekulargewicht: 85.1 g/mol

Summenformel: $C_3H_3NO_2$

Schmelzpunkt: 101°C

Ausbeute: 2.10 g (41%)

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 6.01 (d, H-4), 8.14 (d, H-5)

8.2.24.4 *Synthese von 3-(Propin-2-yloxy)isoxazol*⁹⁷**48**

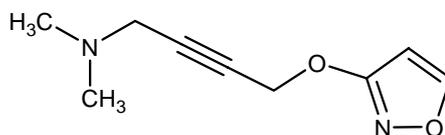
Eine Mischung aus 840 mg (15 mmol) fein pulverisiertem KOH und 869 mg (2.35 mmol) Tetrabutylammoniumiodid wird bei Raumtemperatur 30 min in 10 ml absolutem THF gerührt. Anschließend wird bei 0°C eine Lösung aus 1.73 g (12.9 mmol) Propargylmesylat und 1.0 g (11.7 mmol) 3-Hydroxyisoxazol in 10 ml THF zugetropft. Damit sich der Reaktionsansatz nicht verfestigt, werden noch einmal 20 ml THF zugegeben und man lässt sechs Stunden bei Raumtemperatur rühren. Nach beendeter Reaktion wird der Feststoff abfiltriert und noch mehrmals mit Diethylether gewaschen. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und man reinigt das erhaltene ölige Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 7:3, R_f 0.68). Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man ein gelbes Öl.

Molekulargewicht: 123.1 g/mol

Summenformel: $C_6H_5NO_2$

Ausbeute: 350 mg (25%)

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 2.62 (s, $-C\equiv CH$), 4.91 (s, $-CH_2-O$), 6.03 (d, H-4), 8.15 (d, H-5)

8.2.24.5 *Synthese von 3-[4-(Dimethylamino)but-2-ynyl]oxyisoxazol*⁹⁷**49**

Man löst bzw. suspendiert in 10 ml Dioxan 185 mg (6.15 mmol) Paraformaldehyd, 150 mg Eisessig sowie eine katalytische Menge $CuCl$. Zu dieser Mischung gibt man 504 mg (4.1 mmol) 3-(Propin-2-yloxy)isoxazol **48** und 20 Tropfen bei $-20^\circ C$ verflüssigtes Dimethylamin. Der Reaktionsansatz wird drei Tage dicht verschlossen auf $50^\circ C$ erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man nimmt den Rückstand in Wasser auf, säuert mit verdünnter Salzsäure an und schüttelt mit Diethylether aus. Anschließend wird die wässrige Phase mit Kaliumcarbonat alkalisiert und mehrmals mit

Dichlormethan ausgeschüttelt. Man trocknet über Natriumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 9:1, R_f 0.45). Man erhält ein gelbes Öl.

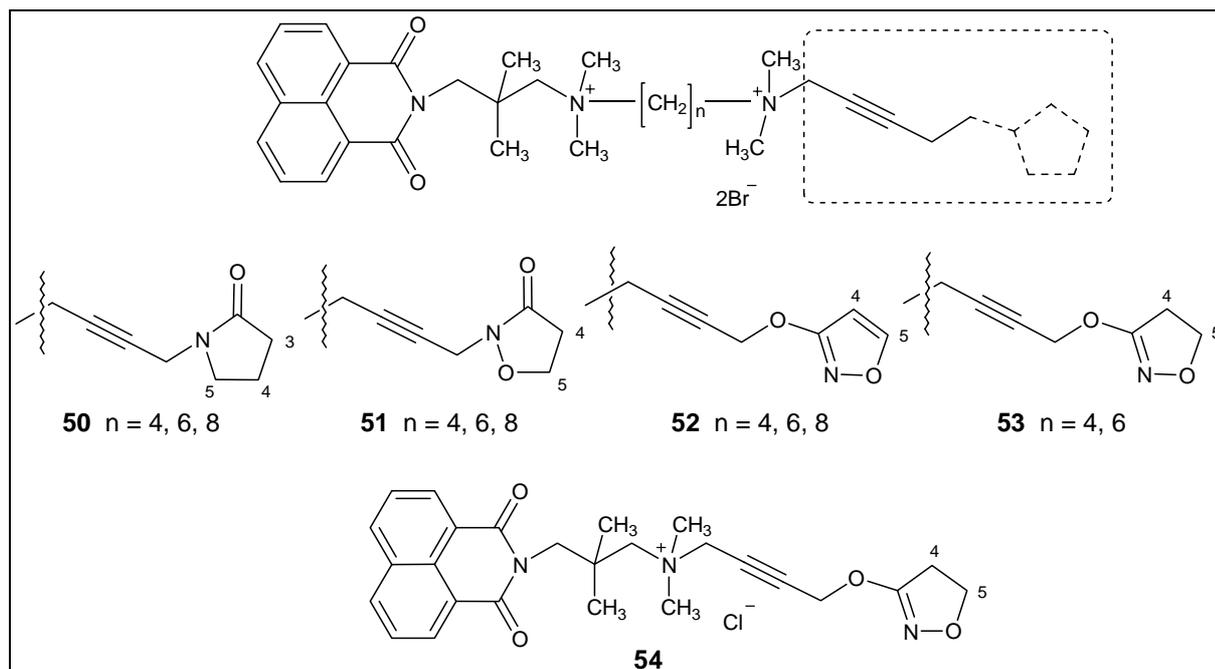
Molekulargewicht: 180.2 g/mol

Summenformel: $C_9H_{12}N_2O_2$

Ausbeute: 221 mg (30%)

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 2.31 (s, $N(CH_3)_2$), 3.33 (s, $-CH_2-N(CH_3)_2$), 4.97 (s, $C\equiv CH_2-O$), 6.01 (d, J 1.9, H-4), 8.17 (d, J 1.9, H-5)

8.2.25 Synthese der Hybridmoleküle



Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Hybridmoleküle 50-54

1 mmol **2i-C6**, **2i-C4** oder **2i-C8** und 1 mmol des entsprechenden Oxotremorin-Analogons werden in 30 ml Acetonitril gelöst. Man gibt eine Spatelspitze einer Mischung aus KI/K_2CO_3 (1:1) zu und erhitzt den Reaktionsansatz für zwei bis drei Tage zum Sieden. Nach beendeter Reaktion, deren Verlauf dünnschichtchromatographisch ($CH_3OH/0.2$ M NH_4NO_3 -Lösung 3:2) verfolgt wird, erfolgt die weitere Aufarbeitung nach folgenden Methoden:

A) Man entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und kristallisiert den öligen Rückstand aus Isopropanol um. Nach einigen Stunden bildet sich bei 4°C ein öliger Niederschlag. Die überstehende Lösung wird abpipettiert. Falls noch nicht umgesetztes Edukt vorhanden ist, wird die Umkristallisation gegebenenfalls mehrfach wiederholt. Man löst schließlich das saubere Öl in Dichlormethan und entfernt anschließend das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird im Feinvakuum getrocknet. Man erhält einen schaumartigen gelblichen bis braunen Feststoff, der meist sehr hygroskopisch ist.

B) Die Reaktionslösung wird etwa auf die Hälfte ihres Volumens eingengt. Über Nacht bildet sich bei 4°C ein Niederschlag. Dieser wird abfiltriert und aus Acetonitril und eventuell wenigen Tropfen Ethanol umkristallisiert. Der entstandene Niederschlag wird nach der Filtration mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Als Endprodukt erhält man ein hellbraunes Pulver.

C) Man entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und kristallisiert den öligen Rückstand aus Isopropanol um. Nach einigen Stunden bildet sich bei 4°C ein öliger Niederschlag. Die überstehende Lösung wird abpipettiert. Das dunkelbraune Öl wird in einer Mischung aus Isopropanol und Methanol aufgenommen und mit Aktivkohle gerührt. Man filtriert anschließend die Lösung über Cellite und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Falls noch nicht umgesetztes Edukt vorhanden ist, kristallisiert man erneut aus Isopropanol um. Das ausgefallene Öl wird dann in Dichlormethan aufgenommen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der gelbliche Rückstand wird anschließend im Feinvakuum getrocknet, so dass man einen schaumartigen, hygroskopischen Feststoff erhält.

D) Man entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und rührt den Reaktionsansatz über Nacht in Ethylacetat. Der Feststoff wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Verb.	Summenformel	M _r [g/mol]	Methode	Ausbeute	Mp [°C]
50-C4	C ₃₃ H ₄₆ Br ₂ N ₄ O ₃	706.6	C	44%	*
50-C6	C ₃₅ H ₅₀ Br ₂ N ₄ O ₃	734.6	A	75%	*
50-C8	C ₃₇ H ₅₄ Br ₂ N ₄ O ₃	778.7	A	40%	*
51-C4	C ₃₂ H ₄₄ Br ₂ N ₄ O ₄	708.5	A	64%	113
51-C6	C ₃₄ H ₄₈ Br ₂ N ₄ O ₄	736.6	A	30%	152
51-C8	C ₃₆ H ₅₂ Br ₂ N ₄ O ₄	764.6	C	55%	*
52-C4	C ₃₂ H ₄₂ Br ₂ N ₄ O ₄	706.5	B	42%	143
52-C6	C ₃₄ H ₄₆ Br ₂ N ₄ O ₄	734.6	B	49%	210
52-C8	C ₃₆ H ₅₀ Br ₂ N ₄ O ₄	762.6	B	68%	166
53-C4	C ₃₂ H ₄₄ Br ₂ N ₄ O ₄	708.5	B	35%	98
53-C6	C ₃₄ H ₄₈ Br ₂ N ₄ O ₄	736.6	B	59%	180
54	C ₂₆ H ₃₂ ClN ₃ O ₄	486.0	D	61%	194

Tabelle 51. Analytische Daten der Hybridmoleküle 50-54, * aufgrund der hohen Hygroskopizität der Substanzen war eine Bestimmung des Schmelzpunktes nicht möglich

Verb.	IR-Daten [cm ⁻¹]
50-C4	781, 1236, 1339, 1587, 1655, 2360, 2959
50-C6	782, 949, 1235, 1338, 1377, 1588, 1658, 2962
50-C8	782, 1235, 1338, 1377, 1587, 1657, 2928
51-C4	781, 1235, 1338, 1379, 1588, 1657, 1697, 2930
51-C6	775, 925, 1234, 1332, 1377, 1654, 1693, 2924
51-C8	782, 1235, 1338, 1377, 1588, 1657, 1699, 2926
52-C4	780, 904, 1234, 1339, 1481, 1580, 1655, 2965
52-C6	774, 928, 1237, 1333, 1483, 1581, 1654, 1696, 2927
52-C8	781, 1235, 1340, 1483, 1578, 1655, 1699, 2360, 2924
53-C4	780, 912, 1236, 1339, 1625, 1654, 1696, 2360, 2966
53-C6	774, 927, 1234, 1331, 1585, 1624, 1654, 1693, 2918
54	783, 917, 1238, 1342, 1628, 1655, 1706, 2975

Tabelle 52. IR-Daten der Hybridmoleküle 50-54

	50-C4	50-C6	50-C8	51-C4	51-C6	51-C8
$N_{\text{imid}}-\underline{\text{CH}_2}-$	4.15 (s)	4.14 (s)	4.13 (s)	4.15 (s)	4.15 (s)	4.13 (s)
$\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2$	1.25 (s)	1.24 (s)	1.24 (s)	1.25 (s)	1.24 (s)	1.24 (s)
$-\underline{\text{CH}_2}-\text{N}^+$	3.52 (s)	3.50 (s)	3.42 (s)	3.51 (s)	3.49 (s)	3.47 (d)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	3.13 (s) 3.21 (s)	3.12 (s) 3.20 (s)	3.11 (s) 3.18 (s)	3.12 (s) 3.17 (s)	3.10 (s) 3.18 (s)	3.10 (s) 3.18 (s)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-$	3.47 (br)	3.46 (br)	3.40 (br)	3.47 (br)	3.40 (br)	3.44 (br)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	1.78 (br)	1.75 (br)	1.71 (br)	1.77 (br)	1.74 (br)	1.71 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_2})_2-\underline{\text{CH}_2}-$	-	1.34 (br)	1.32 (br)	-	1.33 (br)	1.32 (br)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_2})_3-\underline{\text{CH}_2}-$	-	-	1.29 (br)	-	-	1.29 (br)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-\text{C}\equiv\text{C}-$	4.48 (s)	4.46 (s)	4.45 (s)	4.48 (s)	4.46 (s)	4.46 (s)
$-\text{C}\equiv\text{C}-\underline{\text{CH}_2}-\text{O}$	4.19 (s)	4.18 (s)	4.18 (s)	4.45 (s)	4.44 (s)	4.44 (s)
$\underline{\text{CH}}_{\text{naphthal}}$	7.90 (m) 8.51 (m)	7.90 (m) 8.50 (m)	7.89 (m) 8.50 (m)	7.90 (m) 8.51 (m)	7.90 (m) 8.51 (m)	7.90 (m)
$\underline{\text{CH}}_{\text{oxotrem}}$	1.95 (H4) (quin, J 7.6) 2.23 (H3) (t, J 8.2) 3.41 (H5) (t, J 7.0)	1.95 (H4) (quin, J 7.6) 2.23 (H3) (t, J 8.2) 3.40 (H5) (t, J 7.0)	1.95 (H4) (quin, J 7.6) 2.23 (H3) (t, J 8.2) 3.40 (H5) (t, J 7.0)	2.77 (H4) (t, J 8.0) 4.33 (H5) (t, J 8.0)	2.76 (H4) (t, J 8.0) 4.43 (H5) (t, J 8.0)	2.76 (H4) (t, J 8.0) 4.44 (H5) (t, J 8.0)

Tabelle 53. ^1H -NMR-Daten der Verbindungen 50 und 51, 400 MHz, DMSO

	52-C4	52-C6	52-C8	53-C4	53-C6	54
$N_{\text{imid}}-\underline{\text{CH}_2}-$	4.15 (s)	4.15 (s)	4.13 (s)	4.15 (s)	4.14 (s)	4.13 (s)
$\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2$	1.25 (s)	1.24 (s)	1.24 (s)	1.25 (s)	1.24 (s)	1.25 (s)
$-\underline{\text{CH}_2}-\text{N}^+$	3.52 (s)	3.49 (s)	3.48 (s)	3.51 (s)	3.49 (s)	3.59 (s)
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_3})_2$	3.13 (s) 3.21 (s)	3.11 (s) 3.19 (s)	3.10 (s) 3.18 (s)	3.13 (s) 3.20 (s)	3.13 (s) 3.19 (s)	3.26 (s) 3.34 (s)
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-$	3.50 (br)	3.36 (br) 3.41 (br)	3.40 (br)	3.49 (br)	3.43 (br)	-
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-$	1.76 (br)	1.73 (br)	1.66 (br) 1.72 (br)	1.77 (br)	1.75 (br)	-
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_2})_2-\underline{\text{CH}_2}-$	-	1.39 (br)	1.31 (br)	-	1.34 (br)	-
$\text{N}^+(\underline{\text{CH}_2})_3-\underline{\text{CH}_2}-$	-	-	1.31 (br)	-	-	-
$\text{N}^+\underline{\text{CH}_2}-\text{C}\equiv\text{C}-$	4.57 (s)	4.54 (s)	4.54 (s)	4.55 (s)	4.56 (s)	4.62 (s)
$-\text{C}\equiv\text{C}-\underline{\text{CH}_2}-\text{O}$	5.11 (s)	5.10 (s)	5.10 (s)	4.94 (s)	4.94 (s)	4.86 (s)
$\underline{\text{CH}}_{\text{naphthal}}$	7.90 (m) 8.51 (m)	7.90 (m) 8.50 (m)	7.89 (m) 8.49 (m)	7.90 (m) 8.51 (m)	7.90 (m) 8.50 (m)	7.88 (m) 8.50 (m)
$\underline{\text{CH}}_{\text{oxotrem}}$	6.43 (d, J 1.8, H4) 8.74 (d, J 2.0, H5)	6.44 (d, J 1.8, H4) 8.75 (d, J 2.0, H5)	6.43 (d, J 1.8, H4) 8.75 (d, J 2.0, H5)	3.01 (H4) (t, J 9.6) 4.31 (H5) (t, J 9.6)	3.02 (H4) (t, J 9.6) 4.31 (H5) (t, J 9.6)	2.98 (H4) (t, J 9.6) 4.29 (H5) (t, J 9.6)

Tabelle 54. ^1H -NMR-Daten der Verbindungen 52-54, 400 MHz, DMSO

	50-C4	50-C6	50-C8	51-C4	51-C6	51-C8
$N_{\text{imid}}-\underline{C}H_2-$	49.0	49.0	49.1	49.0	49.0	49.1
$C(\underline{C}H_3)_2$	25.7	25.6	25.6	25.6	25.7	25.7
$\underline{C}(\underline{C}H_3)_2$	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25.8
$-\underline{C}H_2-N^+$	71.9	71.9	72.0	72.1	71.9	71.7
$N^+(\underline{C}H_3)_2$	50.0	49.9	49.9	50.0	50.0	49.9
	52.2	52.2	52.1	52.2	52.2	52.1
$N^+\underline{C}H_2-$	62.4	63.1	63.2	62.1	63.1	63.3
	66.2	67.1	67.5	66.1	67.1	67.5
$N^+CH_2-\underline{C}H_2-$	19.4	21.8	22.0	19.4	21.9	22.0
	19.6	22.1	22.2	19.6	22.1	22.2
$N^+(CH_2)_2-\underline{C}H_2-$	-	25.5	28.3	-	25.5	28.3
			28.4			28.4
$N^+(CH_2)_3-\underline{C}H_2-$	-	-	25.8	-	-	25.8
$N^+\underline{C}H_2-C\equiv C-$	53.9	53.6	53.5	53.7	53.5	53.4
$-C\equiv C-\underline{C}H_2-O$	72.3	71.9	71.7	72.4	72.4	72.2
$N^+CH_2-\underline{C}\equiv C-$	87.0	86.8	86.8	85.9	85.6	85.7
$-C\equiv C-\underline{C}H_2$	31.8	31.8	31.7	35.4	35.4	35.39
$\underline{C}_{\text{naphthal}}$	122.4	122.4	122.4	122.4	122.5	122.4
	127.6	127.6	127.6	127.6	127.6	127.6
	131.5	131.4	131.4	131.5	131.5	131.5
$\underline{C}H_{\text{naphthal}}$	127.5	127.4	127.5	127.5	127.5	127.4
	131.1	131.1	131.1	131.1	131.1	131.1
	134.5	134.5	134.5	134.5	134.5	134.5
$\underline{C}H_{\text{oxotrem}}$	17.4 (C4)	17.4 (C4)	17.4 (C4)	32.8 (C4)	32.8 (C4)	32.8 (C4)
	30.1 (C3)	30.1 (C3)	30.1 (C3)	66.5 (C5)	66.5 (C5)	66.4 (C5)
	46.3 (C5)	46.2 (C5)	46.2 (C5)			
$C=O$	164.8	164.8	164.8	164.8	164.8	164.8
	174.0	174.0	174.0	173.0	172.8	172.8

Tabelle 55. ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen 50 und 51, 100 MHz, DMSO

	52-C4	52-C6	52-C8	53-C4	53-C6	54
$N_{\text{imid}}-\underline{C}H_2-$	49.0	49.0	49.1	49.0	49.0	49.0
$C(\underline{C}H_3)_2$	25.7	25.7	25.7	25.7	25.6	25.4
$\underline{C}(\underline{C}H_3)_2$	25.7	25.7	25.7	25.7	25.7	25.5
$-\underline{C}H_2-N^+$	72.3	71.9	71.7	72.4	71.9	71.7
$N^+(\underline{C}H_3)_2$	50.0 52.2	50.0 52.2	49.9 52.1	50.0 52.2	49.9 52.2	52.2
$N^+\underline{C}H_2-$	62.5 66.1	63.1 67.1	63.2 67.5	62.5 66.1	63.1 67.1	-
$N^+CH_2-\underline{C}H_2-$	19.4 19.6	21.8 22.1	21.9 22.2	19.4 19.6	21.9 22.1	-
$N^+(CH_2)_2-\underline{C}H_2-$	-	25.4 25.4	28.3 28.4	-	25.4 25.4	-
$N^+(CH_2)_3-\underline{C}H_2-$	-	-	25.8	-	-	-
$N^+\underline{C}H_2-C\equiv C-$	53.7	53.5	53.4	53.8	53.6	56.8
$-C\equiv C-\underline{C}H_2-O$	76.5	76.6	76.6	76.3	76.4	76.6
$N^+CH_2-\underline{C}\equiv C-$	86.3	86.2	86.2	86.3	86.4	86.7
$-C\equiv C-\underline{C}H_2$	57.8	57.7	57.70	57.4	57.4	57.3
$\underline{C}_{\text{naphthal}}$	122.4 127.6 131.5	122.4 127.6 134.5	122.4 127.6 134.5	122.4 127.6 131.5	122.4 127.6 131.5	122.4 127.6 131.4
$\underline{C}H_{\text{naphthal}}$	127.5 131.1 134.5	127.5 131.1 134.5	127.4 131.1 134.50	127.5 131.1 134.6	127.5 131.1 134.5	127.4 131.1 134.5
$\underline{C}H_{\text{oxotrem}}$	96.2 (C4) 170.5 (C5)	96.2 (C4) 170.5 (C5)	96.2 (C4) 170.5 (C5)	32.4 69.8	32.4 69.8	32.4 69.7
$\underline{C}_{\text{oxotrem}}$	162.3	162.3	162.2	166.9	166.9	166.8
$C=O$	164.8	164.8	164.8	164.8	164.8	164.8 166.8

Tabelle 56. ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen 52-54, 100 MHz, DMSO

8.3 Stabilitätsmessungen mittels UV-Spektroskopie

Zur Herstellung des Magnesium-Tris-Puffers wurde $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ in Aqua dest. suspendiert. Die Suspension wurde durch Zugabe von 1N Salzsäure gelöst. Danach wurde Tris(hydroxymethyl)aminomethan zugegeben. Die Endkonzentration des Puffers betrug 2.7 mM MgHPO_4 und 45 mM Tris-HCl. Der pH-Wert wurde mit 1N Salzsäure auf 7.3 eingestellt.

Zur Bestimmung der Stabilität der synthetisierten Verbindungen unter den Bedingungen der pharmakologischen Testung werden diese in Magnesium/Tris-Puffer (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) gelöst. Zunächst werden UV-spektroskopisch die Absorptionsmaxima der Substanzen bestimmt. Dann wird die UV-Absorption im jeweiligen Maximum über einen Zeitraum von 24 Stunden gemessen. Für die Substanzen, die eine exponentielle Abnahme der Absorption zeigen, wurde die jeweilige Halbwertszeit $t_{1/2}$ bestimmt. Die ermittelten Werte sind in Tabelle 3, Kapitel 3.1, zusammengestellt.

8.4 Lipophiliebestimmung

Herstellung des Phosphat-Puffers pH 7.4 (DAB 9): 250 ml einer 0.02 M Kaliumdihydrogenphosphatlösung werden mit 393.4 ml 0.1 M Natriumhydroxidlösung auf pH 7.4 eingestellt.

HPLC-Bedingungen:

Flussrate:	1.5 ml/min
Druck:	176 bar
Temperatur:	30°C
Injektionsvolumen:	100 μl
Standardlaufzeit:	10 min, für Anthracen 15 min
Fließmittel:	Methanol/Phosphat-Puffer 70/30 Zusatz von 0.02% N,N-Dimethylhexylamin

Zur Bestimmung der $\log k'$ -Werte der verwendeten Standards und der Testsubstanzen werden diese in Methanol gelöst (40 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Die Retentionszeiten der Verbindungen werden mittels HPLC unter Verwendung einer RP18-Säule ermittelt. Der k' -Wert wird nach folgender Gleichung bestimmt:

$$k' = (T_r - T_0) / T_0$$

k' = Kapazitätsfaktor

T_r = Retentionszeit der Substanz

T_0 = Totzeit

Aus den gemessenen $\log k'$ -Werten der Standardsubstanzen und den aus der Literatur bekannten $\log P$ -Werten, die den notwendigen Lipophiliebereich abdecken, wird durch lineare Regression eine Kalibriergerade berechnet. Diese dient zur mathematischen Bestimmung der $\log P$ -Werte der Testsubstanzen aus den experimentell ermittelten k' -Werten.

Standardsubstanz	Retentionszeit [min]	$\log k'$	$\log P^{71}$
2-Phenylethanol	1.18	-0.04	1.36
2-Phenylethylamin	1.15	-0.13	1.41
Benzol	2.05	0.32	2.13
N,N-Dimethylanilin	2.39	0.43	2.31
Chlorbenzol	2.89	0.53	2.89
Toluol	3.01	0.59	2.73
Ethylbenzol	4.27	0.73	3.15
Cumol	5.85	0.91	3.66
Biphenyl	6.44	0.94	4.01
Anthracen	11.50	1.22	4.45

Tabelle 57. Retentionszeiten, $\log k'$ - und $\log P$ -Werte der verwendeten Standardsubstanzen

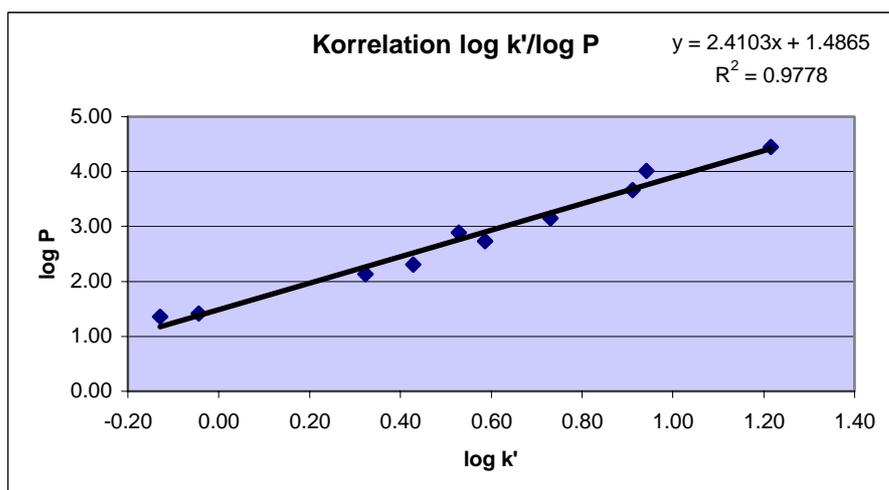
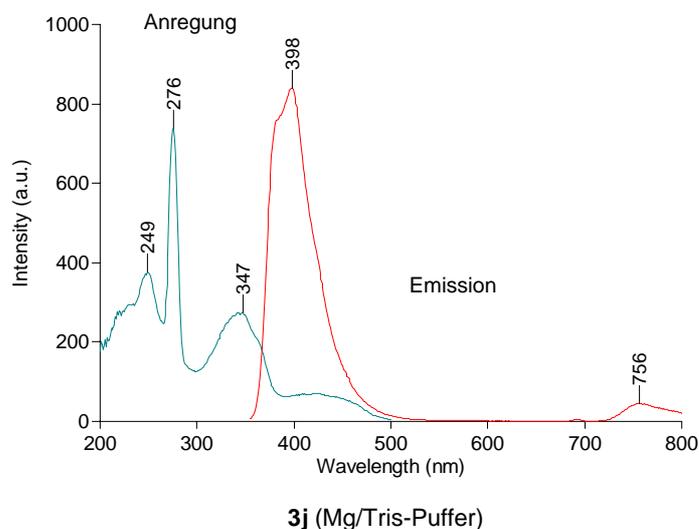
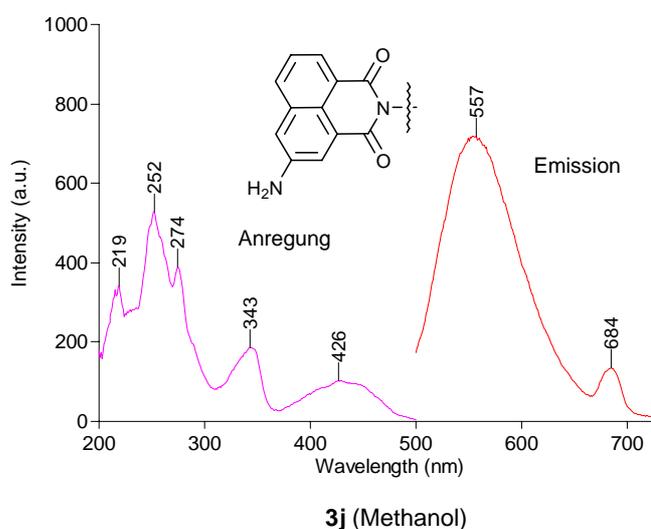
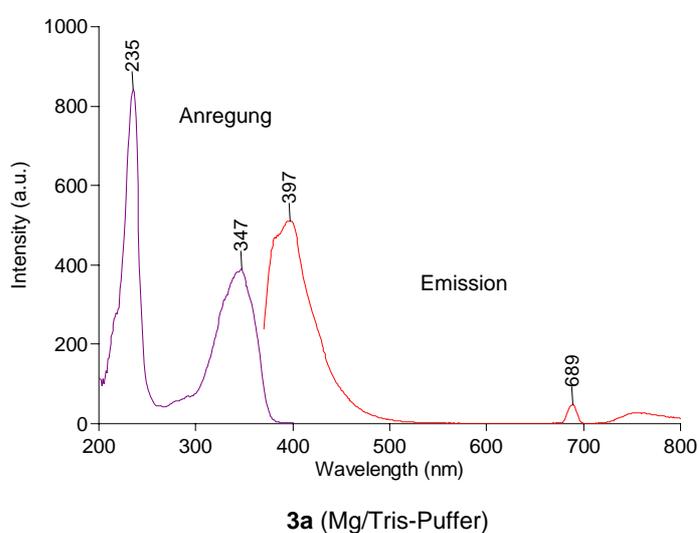
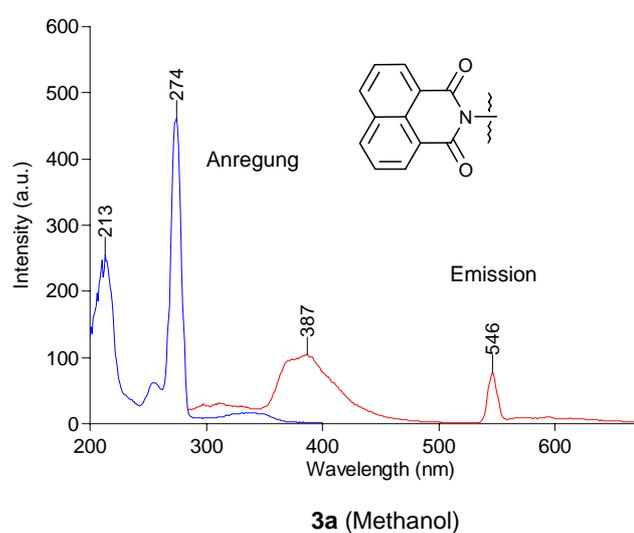


Abb. 65. Korrelation zwischen den $\log k'$ - und den $\log P$ -Werten der Standardsubstanzen

Die ermittelten $\log P$ -Werte der Testsubstanzen werden in Kapitel 3.2 aufgelistet und diskutiert.

8.5 Fluoreszenzmessungen

Es wurden jeweils von den nitrosubstituierten Naphthylverbindungen **3l** und **3m**, den aminosubstituierten Naphthylverbindungen **3j** und **3k** sowie von der Verbindung **3a** Anregungs- und Emissionsspektren aufgenommen. Die Messungen wurden sowohl in Magnesium/Tris-Puffer pH 7.3 als auch in Methanol durchgeführt. Dazu wurden jeweils 5 μM Lösungen der Verbindungen **3j-3m** in beiden Lösungsmitteln hergestellt. Die Anregung erfolgte jeweils bei der vorher ermittelten Wellenlänge des langwelligsten Maximums. Die Diskussion der aufgenommenen Spektren erfolgt in Kapitel 3.3.



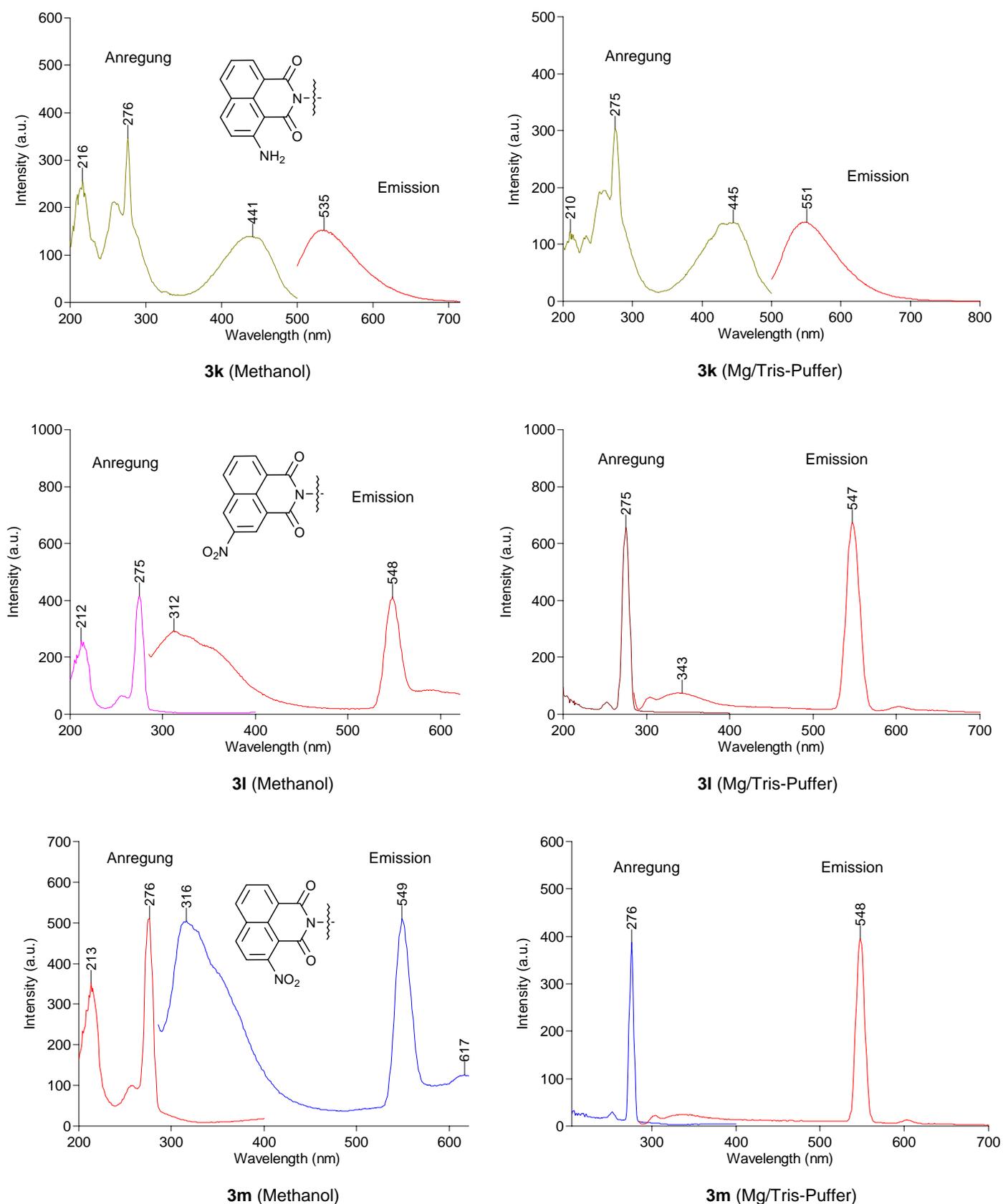


Abb. 66. Fluoreszenzspektren der Verbindungen **3a** und **3j-3m**, gemessen in Methanol und Magnesium/Tris-Puffer (pH 7.3)

9 Anhang

Auflistung der systematischen Namen der Verbindungen, die im Experimentellen Teil nicht mit ihren systematischen Namen bezeichnet sind:

1a 2-(3-Dimethylaminopropyl)-isoindolin-1,3-dion

1b 2-(3-Dimethylaminopropyl)-5-methyl-isoindolin-1,3-dion

1c 2-(3-Dimethylaminopropyl)-5-trifluormethyl-isoindolin-1,3-dion

1d 2-(3-Dimethylamino-2-methylpropyl)-isoindolin-1,3-dion

1e 2-(3-Dimethylamino-2-methylpropyl)-5-methyl-isoindolin-1,3-dion

1f 2-(3-Dimethylamino-2,2-dimethylpropyl)-isoindolin-1,3-dion

1g 2-(3-Dimethylamino-2,2-dimethylpropyl)-5-methyl-isoindolin-1,3-dion

1h 2-(3-Dimethylaminopropyl)-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion

1i 2-(3-Dimethylamino-2,2-dimethylpropyl)-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion

1j 2-(3-Dimethylamino-2,2-dimethylpropyl)-4-amino-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion

1l 2-(3-Dimethylamino-2,2-dimethylpropyl)-4-nitro-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion

1m 2-(3-Dimethylamino-2,2-dimethylpropyl)-3-nitro-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion

2a (6-Bromhexyl)dimethyl-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydroisoindol-2-yl)propyl]ammoniumbromid

2b (6-Bromhexyl)dimethyl-[3-(5-methyl-1,3-dioxo-1,3-dihydroisoindol-2-yl)propyl]-ammoniumbromid

2f (6-Bromhexyl)dimethyl-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydroisoindol-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]-ammoniumbromid

2g (6-Bromhexyl)dimethyl-[3-(5-methyl-1,3-dioxo-1,3-dihydroisoindol-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]ammoniumbromid

2i-C4 (4-Brombutyl)-[3-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[*de*]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]-dimethylammoniumbromid

2i-C6 (6-Bromhexyl)-[3-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[*de*]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]-dimethylammoniumbromid

2i-C8 (8-Bromooctyl)-[3-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[*de*]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]-dimethylammoniumbromid

- 2l** (6-Bromhexyl)-[3-(4-nitro-1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[*de*]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]-dimethylammoniumbromid
- 2m** (6-Bromhexyl)-[3-(3-nitro-1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[*de*]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]-dimethylammoniumbromid
- 3a** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3b** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-5-methyl-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3f** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3g** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-5-methyl-isoindol-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3h** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-benzo[*de*]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-propyl}-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3j** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-4-amino-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3k** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-3-amino-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3l** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-4-nitro-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 3m** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-3-nitro-benzo[*de*]isochinolin-1,3-dion Dibromid
- 4c** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-5-trifluormethyl-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-propyl}-5-trifluormethyl-isoindolin-1,3-dion Dibromid
- 4d** 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-2-methylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2-methylpropyl}-isoindolin-1,3-dion Dibromid

4e 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-5-methyl-isoindol-2-yl)-2-methylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2-methylpropyl} -5-methyl-isoindolin-1,3-dion Dibromid

4i 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-benzo[de]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl} -benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

4n 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-2-ethylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2-ethylpropyl} -isoindolin-1,3-dion Dibromid

4o 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-2-propylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2-propylpropyl} -isoindolin-1,3-dion Dibromid

4p 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-2-isobutylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2-isobutylpropyl} -isoindolin-1,3-dion Dibromid

5c 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-propyl} -5-trifluormethyl-isoindolin-1,3-dion Dibromid

5d 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2-methylpropyl} -isoindolin-1,3-dion Dibromid

5e 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2-methylpropyl} -5-methyl-isoindolin-1,3-dion Dibromid

6 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-5-methyl-isoindol-2-yl)propyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-propyl} -benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromide

7 2- {3-[1-(6- {1,1-Dimethyl-1-[3-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-5-methyl-isoindol-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]ammonium} hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl} -5-methyl-isoindolin-1,3-dion Dibromide

21 Diethyl-2-ethylmalonat

22 Diethyl-2-propylmalonat

23 Diethyl-2-isobutylmalonat

25 2-Ethyl-propan-1,3-diol

26 2-Ethyl-2-methyl-propan-1,3-diol

27 2-Propyl-propan-1,3-diol

28 2-Isobutyl-propan-1,3-diol

33 2-(2-(Brommethyl)butyl)isoindolin-1,3-dion

34 2-(2-(Brommethyl)-2-ethylbutyl)isoindolin-1,3-dion

35 2-(2-(Brommethyl)pentyl)isoindolin-1,3-dion

36 2-(2-(Brommethyl)-4-methylpentyl)isoindolin-1,3-dion

50-C4 2-{3-[1-(4-{1,1-Dimethyl-1-[4-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)but-2-iny]l)-ammonium}butyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

50-C6 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[4-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)but-2-iny]l)-ammonium}hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

50-C8 2-{3-[1-(8-{1,1-Dimethyl-1-[4-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)but-2-iny]l)-ammonium}octyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

51-C4 2-{3-[1-(4-{1,1-Dimethyl-1-[4-(3-oxo-isoxazolidin-2-yl)but-2-iny]l)-ammonium}butyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

51-C6 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[4-(3-oxo-isoxazolidin-2-yl)but-2-iny]l)-ammonium}hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

51-C8 2-{3-[1-(8-{1,1-Dimethyl-1-[4-(3-oxo-isoxazolidin-2-yl)but-2-iny]l)-ammonium}octyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

52-C4 2-{3-[1-(4-{1,1-Dimethyl-1-[4-(isoxazol-3-yloxy)but-2-iny]l)-ammonium}butyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

52-C6 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[4-(isoxazol-3-yloxy)but-2-iny]l)-ammonium}hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

52-C8 2-{3-[1-(8-{1,1-Dimethyl-1-[4-(isoxazol-3-yloxy)but-2-iny]l)-ammonium}octyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

53-C4 2-{3-[1-(4-{1,1-Dimethyl-1-[4-(4,5-dihydro-isoxazol-3-yloxy)but-2-iny]l)-ammonium}butyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

53-C6 2-{3-[1-(6-{1,1-Dimethyl-1-[4-(4,5-dihydro-isoxazol-3-yloxy)but-2-iny]l)-ammonium}hexyl)-1,1-dimethylammonium]-2,2-dimethylpropyl}-benzo[de]isochinolin-1,3-dion Dibromid

54 [4-(4,5-Dihydro-isoxazol-3-yloxy)-but-2-iny]l-[3-(1,3-dioxo-1*H*,3*H*-benzo[de]isochinolin-2-yl)-2,2-dimethylpropyl]-dimethylammoniumbromid

10 Literaturverzeichnis

- ¹ Devi L. A. Heterodimerization of G-protein-coupled receptors: pharmacology, signaling and trafficking. *Trends Pharmacol Sci* **2001**, 22, 532-537.
- ² Hulme, E. C.; Birdsall, N. J. M.; Buckley, N. J. Muscarinic receptor subtypes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **1990**, 30, 633-673.
- ³ Schertler, G. F. X; Villa, C.; Henderson, R. Projection structure of rhodopsin. *Nature* **1993**, 362, 770-772.
- ⁴ Palczewski, K.; Kumasaka, T.; Hori T.; Behnke, C. A.; Motoshima, H.; Fox, B. A.; Le Trong, I.; Teller, D. C.; Okada, T.; Stenkamp, R. E.; Yamamoto, M.; Miyano, M. Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor. *Science* **2000**, 289, 739-745.
- ⁵ Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.; Förstermann, U.; Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 8. völlig überarbeitete Auflage, Urban & Fischer Verlag, München, Jena, **2001**, 19-21.
- ⁶ Riker, W. F.; Wescoe, W. C. The pharmacology of flaxedil with observations on certain analogs. *Ann NY Acad Sci* **1951**, 54, 373-394.
- ⁷ Hammer, R.; Berrie, C. P.; Birdsall, N. J. M.; Burgen, A. S. V.; Hulme, E. C.; Pirenzepine distinguishes between subclasses of muscarinic receptors. *Nature* **1980**, 283, 90-92.
- ⁸ Kubo, T.; Fukuda, K.; Mikami, A.; Meada, A.; Takahashi, H.; Mishina, M.; Haga, T.; Haga, K.; Ichiyama, A.; Kangawa, K.; Kojima, M.; Matsuo, H.; Hirose, T.; Numa, S. Cloning, sequencing and expression of complementary DNA encoding for the muscarinic acetylcholine receptor. *Nature* **1986**, 323, 411-416.
- ⁹ Bonner, T. I.; Buckley, N.; Young, A. C.; Brann, M. R. Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. *Science* **1987**, 237, 527-532.
- ¹⁰ Bonner, T. I.; Young, A. C.; Brann, M. R.; Buckley, N. J. Cloning and expression of the human and rat m5 muscarinic acetylcholine receptor genes. *Neuron* **1988**, 1, 403-410.
- ¹¹ Peralta, E. G.; Ashkenazie A.; Winslow, J. W.; Smith, D. H.; Ramachandran, J.; Capon, D. J. Distinct primary structures, ligand-binding properties and tissue-specific expression of four human muscarinic acetylcholine receptors. *EMBO J* **1987**, 6, 3923-3929.

- ¹² Mutschler, E.; Moser, U.; Wess J.; Lambrecht G. Muscarinic receptor subtypes – pharmacological, molecular biological and therapeutical aspects. *Pharmaceutica Acta Helveticae* **1995**, *69*, 243-258.
- ¹³ Caulfield, M. P.; Birdsall, N. J. M. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev* **1998**, *50*, 279-290.
- ¹⁴ Reeve, C. M.; Ferrari-DiLeo, G.; Flynn, D. D. The M5 (m5) receptor subtype: fact or fiction?. *Life Sci* **1997**, *60*, 1105-1112.
- ¹⁵ Wess, J. Molecular basis of muscarinic acetylcholine receptor function. *Trends Pharmacol Sci* **1993**, *14*, 308-313.
- ¹⁶ Birdsall, N. J. M.; Spalding, T. A.; Corrie, J. E. T.; Curtis, C. A. M.; Hulme, E. C. Studies on muscarinic receptors using nitrogen mustards. *Life Sci* **1993**, *52*, 561.
- ¹⁷ Wess, J.; Gdula, D.; Brann, M. R. Site-directed mutagenesis of the m3 muscarinic receptor: identification of a series of threonine and tyrosine residues involved in agonist but not antagonist binding. *Embo J* **1991**, *10*, 3729-3734.
- ¹⁸ Wess, J.; Maggio, R.; Palmer, J. R.; Vogel, Z. Role of conserved threonine and tyrosine residues in acetylcholine binding and muscarinic receptor activation. *J Biol Chem* **1992**, *267*, 19313-19319.
- ¹⁹ Tuček, S.; Proška, J. Allosteric modulation of muscarinic acetylcholine receptors. *Trends Pharmacol Sci* **1995**, *16*, 205-212.
- ²⁰ Ellis, J. Allosteric binding sites on muscarinic receptors. *Drug Dev Res* **1997**, *40*, 193-204.
- ²¹ Christopoulos, A.; Lanzafame, A.; Mitchelson, F. Allosteric interactions at muscarinic cholinceptors. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **1998**, *25*, 185-194.
- ²² Holzgrabe, U.; Mohr, K. Allosteric modulators of ligand binding to muscarinic acetylcholine receptors. *Drug Discovery Today* **1998**, *3*, 214-222.
- ²³ Christopoulos, A.; Kenakin, T. G-Protein-coupled receptor allosterism and complexing. *Pharmacol. Rev.* **2002**, *54*, 323-374.
- ²⁴ Christopoulos, A. Allosteric binding sites on cell-surface receptors: novel targets for drug discovery. *Nature Reviews Drug Disc* **2002**, *1*, 198-210.
- ²⁵ Mohr, K.; Tränkle, C.; Holzgrabe, U. Structure/Activity Relationships of M₂ Muscarinic Allosteric Modulators. *Receptors and Channels* **2003**, *9*, 229-240.
- ²⁶ Buller, S.; Zlotos, D. P.; Mohr, K.; Ellis, J. Allosteric site on muscarinic acetylcholine receptors: a single amino acid in transmembrane region 7 is critical to the subtype

-
- selectivities of caracurine V derivatives and alkane-bisammonium ligands. *Mol Pharmacol* **2002**, *61*, 160-168.
- ²⁷ Ellis, J.; Seidenberg, M.; Brann, M. R. Use of chimeric muscarinic receptors to investigate epitopes involved in allosteric interactions. *Mol Pharmacol* **1993**, *44*, 583-588.
- ²⁸ Gnagey, A. L.; Seidenberg, M.; Ellis, J. Site-directed mutagenesis reveals two epitopes involved in the subtype selectivity of the allosteric interactions of gallamine at muscarinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol* **1999**, *56*, 1245-1253.
- ²⁹ Leppik, R. A.; Miller, R. C.; Eck, M.; Pacquet, J. L. Role of acidic amino acids in the allosteric modulation by gallamine of antagonist binding at the m2 muscarinic acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol* **1994**, *45*, 983-990.
- ³⁰ Ellis, J.; Seidenberg, M. Interactions of alcuronium, TMB-8 and other allosteric ligands with muscarinic acetylcholine receptors: studies with chimeric receptors. *Mol Pharmacol* **2000**, *58*, 1451-1460.
- ³¹ Voigtländer, U.; Jöhren, K.; Mohr, M.; Raasch, A.; Tränkle, C.; Buller, S.; Ellis, J.; Höltje, H. D.; Mohr, K. Allosteric site on muscarinic acetylcholine receptors: Identification of two amino acids in the muscarinic M₂ receptor that account entirely for the M₂/M₅ subtype selectivities of some structurally diverse allosteric ligands in N-methylscopolamine-occupied receptors. *Mol Pharmacol* **2003**, *64*, 21-31.
- ³² Jöhren, K.; Höltje, H. D. A model of the human M₂ muscarinic acetylcholine receptor. *J Comput Aided Mol Des* **2003**, *16*, 795-801.
- ³³ Monod, J.; Changeux, J. P.; Jacob, F. Allosteric proteins and cellular control systems. *J Mol Biol* **1963**, *6*, 306-329.
- ³⁴ Ellis, J.; Seidenberg, M. Gallamine exerts biphasic allosteric effects at muscarinic receptors. *Mol Pharm* **1989**, *35*, 173-176.
- ³⁵ Ellis, J.; Huyler, J.; Brann, M. R. Allosteric regulation of cloned m1-m5 muscarinic receptor subtypes. *Biochem Pharmacol* **1991**, *42*, 1927-1932.
- ³⁶ Proška, J.; Tuček, S. Mechanism of steric and cooperative actions of alcuronium on cardiac muscarinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol* **1994**, *45*, 709-717.
- ³⁷ Stockton, J. M.; Birdsall, N. J.; Burgen, A. S.; Hulme, E. C. Modification of the binding properties of muscarinic receptors by gallamine. *Mol Pharmacol* **1983**, *23*, 551-557.
- ³⁸ Ehlert, F. J. Estimation of the affinities of allosteric ligands using radioligand and pharmacological null methods. *Mol Pharmacol* **1988**, *83*, 187-194.

- ³⁹ Zlotos, D. P.; Bender, W.; Holzgrabe, U. Muscarinic receptor agonists and antagonists. *Exp Opin Ther Patents* **1999**, *9*, 1029-1053.
- ⁴⁰ Lazareno, S.; Gharagozloo, P.; Kuonen, D.; Popham, A.; Birdsall N. J. M. Subtype-selective positive cooperative interaction between brucine analogues and acetylcholine at muscarinic receptors: radioligand binding studies. *Mol Pharmacol* **1998**, *53*, 573-589.
- ⁴¹ Kords, H.; Lüllmann, H.; Ohnesorge, F. K.; Wassermann, O. Action of atropine and some hexane-1,6-bis-ammonium derivatives upon the toxicity of DFP in mice. *Eur J Pharmacol* **1968**, *3*, 341-346.
- ⁴² Lüllmann, H.; Ohnesorge, F. K.; Schauwecker, G. C.; Wassermann, O. Inhibition of the actions of carbachol and DFP on guinea pig isolated atria by alkane-bis-ammonium compounds. *Eur J Pharmacol* **1969**, *6*, 241-247.
- ⁴³ Clark, A. L.; Mitchelson F. The inhibitory effects of gallamine to muscarinic receptors. *Br J Pharmacol* **1976**, *58*, 323-331.
- ⁴⁴ Tuček, S.; Musílková, J.; Nedoma, J.; Proška J.; Shelnikov, S.; Vorlíček, J. Positive cooperativity in the binding of alcuronium and *N*-methylscopolamine to muscarinic acetylcholine receptors. *Mol Pharmacol* **1990**, *38*, 674-680.
- ⁴⁵ Jakubík, J.; Bačáková, L.; El-Fakahany, E. E.; Tuček, S. Subtype selectivity of the positive allosteric action of alcuronium at cloned M₁-M₅ muscarinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* **1995**, *274*, 1077-1083.
- ⁴⁶ Ellis, J.; Seidenberg, M. Two allosteric modulators interact at a common site on cardiac muscarinic receptors. *Mol Pharmacol* **1992**, *42*, 638-641.
- ⁴⁷ Lanzafame, A.; Christopoulos, A.; Mitchelson, F. Three allosteric modulators act at a common site, distinct from that of competitive antagonists, at muscarinic acetylcholine M₂ receptors. *J Pharmacol Exp Ther* **1997**, *282*, 278-285.
- ⁴⁸ Tränkle, C.; Mohr, K. Divergent modes of action among cationic allosteric modulators of muscarinic receptors. *Mol Pharmacol* **1997**, *51*, 674-682.
- ⁴⁹ Jepsen, K.; Lüllmann, H.; Mohr, K.; Pfeffer, J. Allosteric stabilization of [³H]N-methylscopolamine binding in guinea pig myocardium by an antidote against organophosphate intoxication. *Pharmacol Toxicol* **1988**, *63*, 163-168.
- ⁵⁰ Tränkle, C.; Mies-Klomfaß, E.; Botero Cid, M. H.; Holzgrabe, U.; Mohr, K. Identification of a [³H]ligand for the common allosteric site of muscarinic acetylcholine M₂ receptors. *Mol Pharmacol* **1998**, *54*, 139-145.

-
- ⁵¹ Tränkle, C.; Weyand, O.; Voigtländer, U.; Mynett, A.; Lazareno, S.; Birdsall, N. J. M.; Mohr, K. Interactions of orthosteric and allosteric ligands with [³H]Dimethyl-W84 at the common allosteric site of muscarinic M₂ receptors. *Mol Pharmacol* **2003**, *64*, 385-389.
- ⁵² Birdsall, N. J. M.; Lazareno, S.; Popham, A.; Saldanha, J. Multiple allosteric sites on muscarinic receptors. *Life Sci* **2001**, *68*, 2517-2524.
- ⁵³ Burgmer, U.; Schulz, U.; Tränkle, C.; Mohr, K. Interaction of Mg²⁺ with the allosteric site of muscarinic M₂ receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **1998**, *357*, 363-370.
- ⁵⁴ Pfaffendorf, M.; Batink, H. D.; Tränkle, C.; Mohr, K.; van Zwieten, P. A. Probing the selectivity of allosteric modulators of muscarinic receptors at other G-protein-coupled receptors. *J Auton Pharmacol* **2000**, *20*, 55-62.
- ⁵⁵ Franken, C.; Tränkle, C.; Mohr, K. Testing the specificity of allosteric modulators of muscarinic receptors in phylogenetically closely related histamine H₁-receptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **2000**, *361*, 107-112.
- ⁵⁶ Kostenis, E.; Holzgrabe, U.; Mohr, K. Allosteric effect on muscarinic M₂-receptors of derivatives of the alkane-bis-ammonium compound W84. Comparison with bispyridinium-type allosteric modulators. *Eur J Med Chem* **1994**, *29*, 947-953.
- ⁵⁷ Gilsbach, R.; Großmüller, M.; Alptüzün, V.; Erciyas, E.; Tränkle, C.; Holzgrabe, U.; Mohr, K. Cooperative Interactions at M₂ Muscarinic Acetylcholine Receptors: Structure/Activity Relationships in Stepwise Shortened Bispyridinium- and Bis(Ammonio)Alkane-Type Allosteric Modulators *Neurochem Res* **2003**, *28*, 667-673.
- ⁵⁸ Staudt, M.; Tränkle, C.; Mohr, K.; Holzgrabe, U. Contribution of lateral substituents in heptane-bisammonium derivatives to the allosteric stabilization of antagonist binding to M₂-receptors. *Life Sci* **1998**, *62*, 423-429.
- ⁵⁹ Staudt, M.; Tränkle, C.; Mohr, K.; Holzgrabe, U. Contribution of lateral substituents in symmetrical and non-symmetrical heptane-bisammonio compounds to the allosteric stabilization of N-methylscopolamine binding to muscarinic M₂ receptors. *Arch Pharm Pharm Med Chem* **2003**, *336*, 385-389.
- ⁶⁰ Nassif-Makki, T.; Tränkle, C.; Zlotos, D. P.; Bejeuhr, G.; Cambareri, A.; Pfletschinger, C.; Kostenis, E.; Mohr, K.; Holzgrabe, U. Bisquaternary ligands of the common allosteric site of M₂ acetylcholine receptors: Search for the minimum essential distances between the pharmacophoric elements. *J Med Chem* **1999**, *42*, 849-858.

-
- ⁶¹ Daiss, J. O.; Duda-Johner, S.; Burschka, C.; Holzgrabe, U.; Mohr, K.; Tacke, R. N⁺/Si replacement as a tool for probing the pharmacophore of allosteric modulators of muscarinic M₂ receptors: synthesis, allosteric potency, and positive cooperativity of silicon-based W84 derivatives. *Organometallics* **2002**, *21*, 803-811.
- ⁶² Johner, S.; Pick, R.; Buller, S.; Tränkle, C.; Holzgrabe, U.; Mohr, K. Topology of allosteric binding in free and antagonist liganded muscarinic acetylcholine receptors. *Arch Pharm Pharm Med Chem* **1999**, *332* (suppl.), R69.
- ⁶³ Raasch, A.; Scharfenstein, O.; Tränkle, C.; Holzgrabe, U.; Mohr, K. Elevation of ligand binding to muscarinic M₂ acetylcholine receptors by bis(ammonio)alkane-type allosteric modulators. *J Med Chem* **2002**, *45*, 3809-3812.
- ⁶⁴ Tränkle, C.; Mies-Klomfaß, E.; Botero Cid, M. H.; Holzgrabe, U.; Mohr, K. Identification of a [³H]ligand for the common allosteric site of muscarinic acetylcholine M₂ receptors. *Mol Pharmacol* **1998**, *54*, 139-145.
- ⁶⁵ Botero Cid, H. M.; Tränkle, C.; Pick, R.; Mies-Klomfaß, E.; Kostenis E.; Mohr, K.; Holzgrabe, U. Structure-activity relationships in a series of bisquaternary phthalimidine derivatives modulating the muscarinic M₂-receptor allosterically. *J Med Chem* **2000**, *43*, 2155-2164.
- ⁶⁶ Bender, W.; Staudt, M.; Mohr, K.; Holzgrabe, U. Probing the size of a hydrophobic binding pocket within the allosteric site of muscarinic acetylcholine M₂-receptors. *Life Sci* **2000**, *66*, 1675-1682.
- ⁶⁷ Li, R.; Tränkle, C.; Mohr, K.; Holzgrabe, U. Hexamethonium-type allosteric modulators of the muscarinic receptors bearing lateral dibenzazepine moieties. *Arch Pharm Pharm Med Chem* **2001**, *334*, 121-124.
- ⁶⁸ Holzgrabe, U.; Wagener, M.; Gasteiger, J. Comparison of structurally different allosteric modulators of muscarinic receptors by self-organizing neural networks. *J Mol Graphics* **1996**, *14*, 185-193.
- ⁶⁹ Holzgrabe, U.; Hopfinger, A. J. Conformational Analysis, Molecular Shape Comparison, and Pharmacophore Identification of Different Allosteric Modulators of Muscarinic Receptors. *J Chem Inf Comput Sci*. **1996**, *36*, 1018-1024.
- ⁷⁰ Stiefl, N.; Baumann, K. Mapping property distributions of molecular surfaces: Algorithm and evaluation of a novel 3D quantitative structure-activity relationship technique. *J Med Chem* **2003**, *46*, 1390-1407.

-
- ⁷¹ Hansch, C.; Leo, A.; Hoekman, D. *Exploring QSAR. Hydrophobic, electronic and steric constants*. IV. series, American Chemical Society, Washington DC, **1995**.
- ⁷² Lombardino, J. G. Unusual dimeric salts of 2-(3-pyridyl)-1,3-indandione. *J Org Chem* **1967**, *32*, 1988-1992.
- ⁷³ Pawlowski, G.; Hanack, M. A. A convenient synthesis of trifluoromethyl substituted phthalocyanines. *Synth Comm* **1981**, *11*, 351-363.
- ⁷⁴ Negrimovsky, V. M.; Derkacheva, V. M.; Luk'yanets, E. A. Synthesis of sulfonated 1,2-dicyanobenzenes. *Phosphorus, Sulfur Silicon* **1995**, *104*, 161-167.
- ⁷⁵ Quiclet-Sire, B.; Saicic, R. N.; Zard, S. Z. A convenient synthesis of trifluoromethyl aryl sulfides. *Tetrahedron Lett* **1996**, *37*, 9057-9058.
- ⁷⁶ McClinton, M. A.; McClinton, D. A. Trifluoromethylations and related reactions in organic chemistry. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 6555-6666.
- ⁷⁷ Middleton, R. W.; Parrick, J.; Clarke, E. D.; Wardman, P. Synthesis and fluorescence of *N*-substituted-1,8-naphthalimides. *J Heterocyclic Chem* **1986**, *23*, 849-855.
- ⁷⁸ Marcinkiewicz, S. Nowe sposoby otrzymywania pochodnych 3-aminopropanolu-1. *Acta Polon Pharm* **1971**, *28*, 359-364.
- ⁷⁹ Stewart J. M.; Hung Chang, C. Addition reactions of atropinonitrile (α -cyanostyrene). *J Org Chem* **1956**, *21*, 635-637.
- ⁸⁰ Mowry, D. T.; Morner, R. R. Unsaturated nitriles. V. The preparation of *trans*-cinnamonnitrile and methacrylonitrile by oxime dehydration. *J Am Chem Soc* **1947**, *69*, 1831.
- ⁸¹ Marvel, C. S.; Miller, W. R.; Chou, L. C. The preparation of α -acrylonitriles. *J Am Chem Soc* **1950**, *72*, 5408-5409.
- ⁸² Bender, W. Dissertation Würzburg, **1999**
- ⁸³ Autorenkollektiv. *Organikum*, 19. bearbeitete und erweiterte Auflage, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Leipzig, Berlin **1993**, 537-538.
- ⁸⁴ Haramoto, Y.; Nobe, A.; Kamogawa, H. Liquid crystal materials with sulfur atoms incorporated in the principal structure 1. New liquid crystal compounds with 1,3-dithiane ring. *Bull Chem Soc Jpn* **1984**, *57*, 1966-1969.
- ⁸⁵ Escale, R.; Girard, J.-P.; Vergnon, P.; Grassy, G.; Chapat, J.-P.; Granger, R. Recherches sur les composés cyclobutaniques d'intérêt biologique: III. Synthèses et relations structure-activité antiinflammatoire et antalgique d'acides carboxyliques substitués en position 3. *Eur J Med Chem* **1977**, *12*, 501-509.

- ⁸⁶ Pfammatter, M. J.; Siljegovic, V.; Darbre, T.; Keese, R. Synthesis of ω -substituted alkanethiols and (bromomethyl)methylthiomalonates. *Helv Chim Acta* **2001**, *84*, 678-689.
- ⁸⁷ Piper, J. R.; Rose, L. M.; Johnston, T. P.; Grenan, M. M. S-2, ω -Diaminoalkyl dihydrogen phosphorothioates as antiradiation agents. *J Med Chem* **1979**, *22*, 631-638.
- ⁸⁸ Ogawa, H.; Ichimura, Y.; Chihara, T.; Teratani, S.; Taya, K. Methylation of alcohols, phenols and carboxylic acids, and selective monomethylation of diols and dicarboxylic acids with dimethyl sulfate by use of alumina. *Bull Chem Soc Jpn* **1986**, *59*, 2481-2483.
- ⁸⁹ Pfeffer, J. Dissertation **1990**, Kiel
- ⁹⁰ Khan, M.N. The kinetics of mechanism of alkaline hydrolysis of N-substituted phthalimides. *Int J Chem Kinet* **1987**, *19*, 143-53.
- ⁹¹ Khan, M. N. Kinetics and mechanism of aminolysis of phthalimide and N-substituted phthalimides. Evidence for the occurrence of intramolecular general acid-base catalysis in the reactions of ionized phthalimides with primary amines. *J Chem Soc Perkin Trans 2* **1990**, *3*, 435-444.
- ⁹² Mohr, M.; Heller, E.; Ataie, A.; Mohr, K.; Holzgrabe, U. Development of a new type of allosteric modulator of muscarinic receptors: hybrids of the antagonist AF-DX 384 and the hexamethonio derivative W84. *J Med Chem* **2004**, in revision
- ⁹³ Conti, P.; Dallanoce, C.; de Amici, M.; de Micheli, C.; Ebert, B. Synthesis and binding affinity of new muscarinic ligands structurally related to oxotremorine. *Bioorg Med Chem Lett* **1997**, *7*, 1033-1036.
- ⁹⁴ Dallanoce, C.; Conti, P.; de Amici, M.; de Micheli, C.; Barocelli, E.; Chiavarini, M.; Ballabeni, V.; Bertoni, S.; Impicciatore, M. Synthesis and functional characterization of novel derivatives related to oxotremorine and oxotremorine-M. *Bioorg Med Chem* **1999**, *7*, 1539-1547.
- ⁹⁵ Barocelli, E.; Ballabeni, V.; Bertoni, S.; Dallanoce, C.; de Amici, M.; de Micheli, C.; Impicciatore, M. New analogues of oxotremorine and oxotremorine-M. Estimation of their in vitro affinity and efficacy at muscarinic receptor subtypes. *Life Sci* **2000**, *67*, 717-723.
- ⁹⁶ Barocelli, E.; Ballabeni, V.; Bertoni, S.; de Amici, M.; Impicciatore, M. Evidence for specific analgesic activity of a muscarinic agonist selected among a new series of acetylenic derivatives. *Life Sci* **2001**, *68*, 1775-1785.

-
- ⁹⁷ Nilsson, B. M.; Ringdahl, B.; Hacksell, U. β -Lactam analogues of oxotremorine. 3- and 4-substituted 2-azetidinones. *J Med Chem* **1990**, *33*, 580-584.
- ⁹⁸ Testa, B.; van de Waterbeemd, H.; Folkers, G.; Guy, R. *Pharmacokinetic optimization in drug research*, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**, 51-63.
- ⁹⁹ Böhm, H. J.; Klebe, G.; Kubinyi, H. *Wirkstoffdesign*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1996**, 404.
- ¹⁰⁰ Hammers, W. E.; Meurs, G. J.; de Ligny, C. L. Correlations between liquid chromatographic capacity ratio data on lichrosorb RP-18 and partition coefficients in the octanol-water system. *J Chromatogr* **1982**, *247*, 1-13.
- ¹⁰¹ Braumann, T. Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography: theory, experimental techniques, and application in studies of quantitative structure-activity relationships. *J Chromatogr* **1986**, *373*, 191-225.
- ¹⁰² Leo, A. J. Some advantages of calculating octanol-water partition coefficients. *J Pharmac Sciences* **1987**, *76*, 166-168.
- ¹⁰³ Scharfenstein, O. Dissertation **2000**, Bonn
- ¹⁰⁴ Muth, M.; Bender, W.; Scharfenstein, O.; Holzgrabe, U.; Balatkova, E.; Tränkle, C.; Mohr, K. Systematic development of high affinity bis(ammonio)alkane-type allosteric enhancers of muscarinic ligand binding. *J Med Chem* **2003**, *46*, 1031-1040.
- ¹⁰⁵ Böhm, H. J.; Klebe, G.; Kubinyi, H. *Wirkstoffdesign*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1996**, 363.
- ¹⁰⁶ Todeschini, R.; Consonni, V. *Handbook of molecular descriptors*. Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, 297.
- ¹⁰⁷ Kubinyi, H., BASF AG, 67056 Ludwigshafen, Germany, **1997**.
- ¹⁰⁸ Kubinyi, H. *QSAR: Hansch analysis and related approaches*. Wiley-VCH, Weinheim, **1993**.
- ¹⁰⁹ Conrad, M.; Bischoff, C. A. Synthesen mittelst Malonsäureester. *Liebigs Ann Chem* **1880**, *204*, 121-203.

LEBENS LAUF

MATHIAS MUTH

geb. 22.06.1975 in Würzburg
ledig

Schulbildung

1981 – 1985 Grundschule in Veitshöchheim
1985 – 1994 Friedrich-Koenig-Gymnasium in Würzburg
Abschluss: Abitur

Wehrdienst

10 / 94 – 09 / 95 Ableistung des Wehrdienstes beim
Heeresmusikkorps 12 in Veitshöchheim

Hochschule

11 / 95 – 10 / 99 Studium der Pharmazie
Bayerische Julius-Maximilians-Universität, Würzburg
11 / 99 – 04 / 00 Praktikum Firma Heumann, Nürnberg
Qualitätskontrolle/Produktion
05 / 00 – 10 / 00 Praktikum Rosen-Apotheke, Veitshöchheim
01 / 01 Erhalt der Approbation als Apotheker
11 / 00 Beginn der Promotion
Arbeitskreis Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe
Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie
Universität Würzburg
09 / 03 – 12 / 03 Forschungsaufenthalt als Stipendiat der Lesmüller-Stiftung
an der Università degli Studi di Milano
Arbeitskreis Prof. Dr. Marco De Amici

