

**4-Piperidonderivate als potenzielle DOHH-Inhibitoren:
ein neuer Ansatz zur Therapie tropischer
Infektionskrankheiten**

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

vorgelegt von
Tim Göbel
aus Schmalkalden

Würzburg 2011

Eingereicht am
bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter:
2. Gutachter:
der Dissertation.

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

Datum des öffentlichen Promotionskolloquiums:

.....

Doktorurkunde ausgehändigt am:

.....

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits in folgender Form publiziert:

Veröffentlichungen

Kaiser A.; Ulmer D.; Goebel T.; Holzgrabe U.; Saeftel M.; Hoerauf A.

Inhibition of hypusine biosynthesis in plasmodia: a possible, new strategy in prevention and therapy of malaria. *Mini-Rev Med Chem* (2006) 6, 1231-1241

Goebel T.; Ulmer D.; Hoerauf A.; Kaiser A.; Hauber J.; Holzgrabe U.

In Search of Novel Agents for Therapy of Tropical Diseases and Human Immunodeficiency Virus. *J Med Chem* (2008) 51, 238-250

Posterpräsentationen – Abstracta

Göbel T.; Holzgrabe U.; Kaiser A.; Hoerauf A.

Piperidones with activity against *Plasmodium falciparum*- inhibition of the hypusine biosynthesis.

Doktorandentagung der DPhG 2006 in Nürnberg-Heroldsberg

Göbel T.; Holzgrabe U.; Kaiser A.

New approaches for antimalarial therapy: new lead structures of deoxyhypusine-hydroxylase-inhibitors.

Pre-Satellite-Meeting of the 3rd World Congress of the Board of Pharmaceutical Sciences of FIP (PSWC) 2007 in Amsterdam

Göbel T.; Holzgrabe U.; Kaiser A.

4-Oxopiperidines as novel agents for antimalarial and antitrypanosomal therapy.

Doktorandensymposium des SFB (3rd Joint Students Meeting of SFB 630 & 544) 2007 in Retzbach

Goebel T.; Holzgrabe U.; Kaiser A.

Piperidone-type compounds as promising lead structures against tropical diseases.

DPhG-Jahrestagung 2007 in Erlangen

Goebel T.; Holzgrabe U.; Kaiser A.; Hoerauf A.

4-Oxopiperidine ester: small molecules as promising agents against tropical diseases.

DPhG-Jahrestagung **2008** in Bonn

Goebel T.; Holzgrabe U.; Kaiser A.; Hoerauf A.

4-Piperidone carboxylates as new lead structures for the development of antimalarial and antitrypanosomal drugs.

Doktorandentagung des SFB **2008** in Bronnbach

DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von November 2005 bis Juni 2009 am Institut für
Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
auf Anregung und unter der Anleitung von

Frau Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe,

der ich hiermit für die freundliche Aufnahme in ihren Arbeitskreis,
ihre Unterstützung und Anregungen in jeder Phase
meiner Promotion sowie ihr stetes Interesse am Fortgang dieser Arbeit
sehr herzlich danken möchte.

Weiterhin möchte ich der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Achim Hörauf vom Institut für
Medizinische Parasitologie in Bonn, der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Joachim Hauber vom
Heinrich-Pette-Institut in Hamburg sowie dem SFB 630-Teilprojekt Z1 für die Durchführung
der Substanztestungen danken.

Bei Frau Ebner und Frau Möhler möchte ich mich für die zahlreichen Hilfestellungen bei
bürokratischen Dingen sowie die netten Gespräche zwischendurch recht herzlich bedanken!

Herrn Dr. Jens Schmitz und Frau Dr. Sabine Niedermeier danke ich für die nette
Zusammenarbeit im altgedienten Großraumlabor 112. Danke Sabine, für die vielen Gespräche
und die gemeinsamen Unternehmungen, v.a. die Weinfeste, Studiobesuche und Tanzkurse!

Herrn Dr. Eberhard Heller danke ich für die guten Tipps und Ratschläge im Laboralltag sowie
die Hilfe bei nicht immer einfachen NMR-Auswertungen!

Für ihre Hilfestellungen im Labor, die regelmäßige Beseitigung der Laborunordnung und die
guten Gespräche am frühen Morgen bedanke ich mich bei Lina Pogorelaya!

Herrn Dr. Curd Schollmeyer danke ich dafür, dass man sich als Bayern-Fan nicht so verloren
vorkam- so wurden die wenigen Niederlagen einfach wegdiskutiert!

Ein besonderer Dank gilt Johannes Bäumert für seine tatkräftige Unterstützung bei den analytischen Messungen!

Vielen Dank an Christina Juli, Christine Topf, Michaela Prinz und Maximilian Tischer für viele auch außeruniversitäre gesellige Stunden!

Meinen Laborkolleginnen Frau Dr. Eva Kugelmann und Jessica Klöckner danke ich für die Aufhellung des Laboralltages, die zahlreichen lustigen „Labormomente“ und die vielen Gespräche!

Herrn Dr. Christoph Albert danke ich für etwaige aktive und passive Fußballabende, die Möglichkeit, das Bremer Weserstadion zu besuchen und die vielen Gespräche jeglicher Art.

Claudia Borst möchte ich für die tolle, fast schon 10-jährige Freundschaft danken, die nicht nur zu Promotionszeiten, sondern auch gerade während des Studiums viel Halt gegeben hat!

Eva, Jessy, Christoph und Claudi danke ich darüber hinaus für die unterhaltsamen Spiele-, Cocktail- und Grillabende! Auf dass noch viele weitere folgen werden!

Anita und Paul möchte ich dafür danken, dass sie mir sehr oft mit Rat und Tat zur Seite standen- und vor allem auch für die kulinarischen Leckereien!

Bei meinen Eltern und Großeltern sowie meiner lieben Schwester bedanke ich mich für die jahrelange Unterstützung in jeglicher Hinsicht! Danke dafür, dass ihr immer für mich da seid!

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Schatz Julia! Du warst die letzten Jahre mein großer und wichtigster Rückhalt! Für deine großartige Unterstützung und deine enorme Geduld kann ich dir gar nicht genug Danke sagen! Ich freue mich auf die kommende Zeit mit dir!!!

Für meine Eltern und Großeltern

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Protozoeninfektionen	3
1.1.1	Malariaerreger Plasmodien	3
1.1.1.1	Therapieoptionen und Resistenzentwicklung	6
1.1.2	Trypanosomeninfektionen	16
1.1.2.1	Die Schlafkrankheit und die Chagas-Krankheit	16
1.1.2.2	Therapie der Trypanosomeninfektionen	19
1.1.3	Leishmanieninfektionen	24
1.1.3.1	Erkrankungsformen	26
1.1.3.2	Therapiemöglichkeiten	27
1.2	Die Suche nach neuen Zielstrukturen	31
1.2.2	Der Polyamin-Biosynthese-Weg	32
1.2.2.1	Allgemeines	32
1.2.2.2	Die Schlüsselenzyme als neue Zielstrukturen	33
1.2.2.3	Die Hypusin-Biosynthese und ihre biologische Bedeutung	40
1.2.2.4	Die Deoxyhypusinhydroxylase als potenzielles neues Target	44
1.3	Die Entwicklung neuer DOHH-Inhibitoren	46
1.4	Die Eisenkomplexierungs-Theorie	52
2	ZIEL DER ARBEIT	55
2.1	Weiterentwicklung der Zielstrukturen	56
2.2	4-Hydroxychinolonester als mögliche Alternative	58
3	ALLGEMEINER TEIL	59
3.1	Die Mannich-Reaktion	60
3.1.1	Die Synthese der 4-Piperidonester durch die Einstufen-3-Komponenten-Doppel-Mannichreaktion	60

3.1.2	Allgemeine stereochemische Betrachtungen der 4-Piperidonester: Keto-Enol-Tautomere und Rotamere	61
3.2	Synthese	66
3.2.1	Synthese der 4-Hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbon- säurediesterderivate	66
3.2.1.1	Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon- säurediester 1 – 3	69
3.2.1.2	Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon- säurediester 4 - 6	72
3.2.1.3	Stereochemische Betrachtungen der 4-Hydroxy-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbon-säurediesterderivate	76
3.2.1.4	Nebenprodukte der Piperidonsynthese	82
3.2.2	Versuche zur Synthese der 2,6-Dialkyl-/ aryl-4-hydroxytetrahydro- pyridin-3-monocarbonsäureester 7 - 10	88
3.2.2.1	Synthesestrategie zum Erhalt der Verbindungen 7 und 8	88
3.2.2.2	Stereochemische Betrachtungen der synthetisierten Monoester- derivate 7 und 8	91
3.2.2.3	Weitere Synthesestrategien zum Erhalt der Monoester 9 und 10	95
3.2.3	Versuch zur Synthese von 2,6-Diaryl-3-(arylthio)-4-piperidonen 11	100
3.2.4	Synthese der 4-Piperidone und 4-Piperidinoxime 12 - 16	101
3.2.4.1	Synthese der 2,6-Dialkyl-4-piperidone 13 und der 2,6-Dialkyl-4- piperidinoxime 14	101
3.2.4.2	Stereochemische Betrachtungen der 2,6-Dialkyl-4-piperidone 13 und der 2,6-Dialkyl-4-piperidinoxime 14	102
3.2.4.3	Synthese der 2,6-Diaryl-4-piperidone 15 und der entsprechenden Oximderivate 16	105
3.2.4.4	NMR-spektroskopische Betrachtungen	106
3.2.5	Syntheseversuche der 4-Piperidinoximether 17 und 18	108
3.2.6	Synthese der Chinolonderivate	110
3.2.6.1	Synthese der 4-Hydroxy-2-oxo-1H-chinolin-3-carbonsäureester 20	110
3.2.6.2	Versuch zur Amidierung der Hydroxychinoloncarbonsäureester 20	111

3.2.7	Synthese des 4-Oxo-1 <i>H</i> -chinolin-3-carbonsäureester 23 sowie Syntheseversuch der 4-Oxo-1 <i>H</i> -chinolin-3-hydroxamsäure 25	113
3.3	Pharmakologische Testungen	114
3.3.1	Testungen an Trypanosomen	114
3.3.1.1	Testergebnisse der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridindiesterverbindungen	115
3.3.1.2	Testergebnisse der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridindiesterverbindungen	118
3.3.1.3	Testergebnisse der 4-Hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester-Verbindungen	120
3.3.1.4	Testung der 4-Piperidonabkömmlinge und Hydroxychinolone	121
3.3.2	Testungen an Plasmodien	123
3.3.2.1	Testungen mit dem Malstat-Assay	123
3.3.2.2	<i>P. falciparum</i> In-vitro-Toxizitäts-Assay	126
3.3.3	Testungen an HI-Viren	133
3.3.3.1	In-Vitro-Untersuchungen der antiviralen Aktivität	133
3.3.4	Testungen an Leishmanien	136
3.4	Lipophilie der 4-Piperidone: logP-Wert-Bestimmungen	138
3.4.1	Allgemeines	138
3.4.2	Bestimmung des log <i>k'</i> -Wertes	139
4	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	143
5	EXPERIMENTELLER TEIL	151
5.1	Allgemeine Angaben	152
5.1.1	Verwendete Geräte	152
5.1.2	Chromatographie	153
5.1.3	Chemikalien und Lösungsmittel	153
5.1.4	Abkürzungen	154

5.2	Synthese der 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-dialkyldiester- verbindungen 1-3	155
5.2.1	Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-di- carbonsäuredimethylester 1	156
5.2.1.1	Synthese von 1-Allyl-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5- dicarbonsäuredimethylester (1a)	156
5.2.1.2	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-pyridin-3-ylmethyl-1,2,3,6-tetra- hydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1b)	157
5.2.1.3	Synthese von 1-Benzyl-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1c)	158
5.2.1.4	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-methylbenzyl)-1,2,3,6-tetra- hydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1d)	159
5.2.1.5	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-methoxy-benzyl)-1,2,3,6- tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1e)	160
5.2.1.6	Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetra- hydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1f)	161
5.2.1.7	Synthese von 1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1g)	162
5.2.1.8	Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-methoxybenzyl)-2,6-dipropyl-1,2,3,6- tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1h)	163
5.2.1.9	Synthese von 4-Hydroxy-1-(3-nitrobenzyl)-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetra- hydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1i)	164
5.2.1.10	Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-nitrobenzyl)-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetra- hydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1j)	165
5.2.2	Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon- säurediethylester 2	166
5.2.2.1	Synthese von 1-Benzyl-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2a)	166
5.2.2.2	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-methoxybenzyl)-1,2,3,6-tetra- hydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2b)	167
5.2.2.3	Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetra- hydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2c)	168

5.2.2.4	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(3-nitrobenzyl)-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2d)	169
5.2.2.5	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-nitrobenzyl)-1,2,3,6-tetra- hydro- pyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2e)	170
5.2.2.6	Synthese von 1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2f)	171
5.2.3	Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester 3	172
5.2.3.1	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-methyl-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (3a)	172
5.2.3.2	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-propyl-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (3b)	173
5.2.3.3	Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(3-hydroxypropyl)-1,2,3,6-tetra- hydro- pyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (3c)	174
5.2.3.4	Synthese von 4-Hydroxy-1,2,6-tripropyl-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (3d)	175
5.2.3.5	Synthese von 1-Allyl-4-hydroxy-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (3e)	176
5.3	Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäurediester 4 - 6	177
5.3.1	Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydro- pyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester 4	179
5.3.1.1	4'-Hydroxy-1'-propyl-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-di- carbonsäuredimethylester (4a)	179
5.3.1.2	1'-Allyl-4'-hydroxy-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-di- carbonsäuredimethylester (4b)	180
5.3.1.3	4'-Hydroxy-1'-(2-hydroxyethyl)-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']ter- pyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (4c)	182
5.3.1.4	4'-Hydroxy-1'-pyridin-2-ylmethyl-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']ter- pyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (4d)	183
5.3.1.5	4'-Hydroxy-1'-pyridin-2-ylmethyl-1',2',5',6'-tetrahydro-[4,2';6',4'']ter- pyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (4e)	184

5.3.1.6	Synthese von 4-Hydroxy-1-methyl-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4f)	185
5.3.1.7	Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-nitro-benzyl)-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4g)	186
5.3.1.8	Synthese von 4-Hydroxy-1-methyl-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4h)	187
5.3.1.9	Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4i)	188
5.3.1.10	4-Hydroxy-1-benzyl-2,6-bis-(4-bromphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4j)	189
5.3.1.11	4-Hydroxy-1-(4-chlorbenzyl)-2,6-bis-(4-bromphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4k)	190
5.3.2	Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester 5	191
5.3.2.1	Synthese von 1-Allyl-4-hydroxy-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-dicarbonsäurediethylester (5a)	191
5.3.2.2	Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5b)	192
5.3.2.3	Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-chlorbenzyl)-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5c)	193
5.3.2.4	Synthese von 1-(3-Hydroxypropyl)-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5d)	195
5.3.2.5	Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5e)	196
5.3.2.6	Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-methoxybenzyl)-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5f)	197
5.3.2.7	Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-chlorbenzyl)-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5g)	198
5.3.3	Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredi- <i>tert</i> -butylester 6	199
5.3.3.1	4-Hydroxy-2,6-diphenyl-1-propyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (6a)	199

5.3.3.2	Synthese von 1-Allyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (6b)	201
5.3.3.3	Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (6c)	202
5.3.3.4	Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäure-di- <i>tert</i> -butylester (6d)	203
5.4	Synthese der 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-diaryl-piperidinmonoester 7	205
5.4.1	1'-Benzyl-4'-hydroxy-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3'-carbonsäuremethylester (7a)	206
5.4.2	1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester (7b)	206
5.4.3	1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäureethylester (7c)	207
5.4.4	1-Chlorbenzyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäureethylester (7d)	208
5.5	Synthese der 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-dialkyl-piperidin-3-monocarbonsäureester 8	210
5.5.1	Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester 8a	210
5.5.2	Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester 8b	211
5.6	Synthese der 4-Piperidinoxime 14 und 16	212
5.6.1	Synthese der 2,6-Dialkylpiperidinoximderivate 14	212
5.6.1.1	Synthese der Vorstufen 12 und 13	212
5.6.1.2	Synthese der 2,6-Dialkylpiperidinoxime 14	214
5.6.2	Synthese der 2,6-Diaryl-3,5-dimethylpiperidinoximderivate 16	216
5.6.2.1	Synthese der Vorstufen 15a, 15b und 15c	216
5.6.2.2	Synthese der 2,6-Diaryl-3,5-dimethylpiperidinoxime 16	219

5.7	Synthese des Oximethers 17	222
5.7.1	Synthese von 4-[(2,6-Dichlorbenzyloxyimino)methyl]-1-(3-phenylpropyl)-dipiperidinium-hydrochlorid (17) ¹⁰⁸	222
5.8	Synthese der Chinolonderivate 20 und 23	223
5.8.1	Synthese der Hydroxychinolonderivate 20	223
5.8.1.1	Synthese der Vorstufen 19	223
5.8.1.2	Analytische und spektroskopische Daten der Vorstufen 19	223
5.8.1.3	Cyclisierung der Vorstufen	225
5.8.1.4	Analytische und spektroskopische Daten von 20a, 20b und 20c	226
5.8.2	Synthese der 4-Oxo-1 <i>H</i> -chinolin-3-carbonsäuren	227
5.8.2.1	Synthese des Anilinomethylenmalonsäurediethylesters 22	227
5.8.2.2	Synthese des 4-Oxo-1 <i>H</i> -chinolin-3-carbonsäureethylesters 23	229
5.8.2.3	Synthese der 4-Oxo-1 <i>H</i> -chinolin-3-carbonsäure 24	230
5.9	Bestimmung der log<i>k'</i>-Werte	231
5.9.1	Geräte und Reagenzien	231
5.9.2	Durchführung	231
5.9.3	Auswertung	232
6	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	235
7	LITERATURVERZEICHNIS	239

1 EINLEITUNG

„Alle 30 Sekunden stirbt in Afrika ein Kind an Malaria.“¹

Malaria ist auch im 21. Jahrhundert eine der bedeutendsten Infektionskrankheiten weltweit. Trotz des medizinischen Fortschritts fallen ihr vor allem auf dem afrikanischen Kontinent jährlich über eine Million Menschen zum Opfer. Auch die durch Trypanosomen hervorgerufene Schlaf- und Chagas-Krankheit sowie die Leishmanieninfektionen sind ein Grund für die sehr hohe Morbidität und Mortalität der tropischen und subtropischen Bevölkerung.

Hinzu kommt das scheinbar unlösbare Problem der HIV-Infektionen, die sich gerade in afrikanischen Ländern immer noch auf dem Vormarsch befinden. Das geschwächte Immunsystem von HIV-Infizierten macht sie zusätzlich anfälliger für die schweren Krankheitsverläufe bei tropischen Infektionen. Die therapeutischen Möglichkeiten sind in allen Fällen sehr begrenzt und werden durch Resistenzen der Erreger weiter eingeschränkt.

Ein großes Ziel ist es daher, neue therapeutische Konzepte gegen die erwähnten tropischen Infektionskrankheiten zu erforschen und neue Möglichkeiten zur Therapie zu entwickeln. Ein solcher zentraler Therapieansatz scheint der eukaryotische Initiationsfaktor-5A (eIF-5A) zu sein. Dieser ist nicht nur für die Regulation des parasitären Wachstums zuständig, sondern stellt darüber hinaus einen essenziellen Replikationsfaktor des HI-Virus dar. Ein Eingriff in die Bildung und Aktivierung von eIF-5A könnte also nicht nur für die Bekämpfung von Malariaparasiten, Trypanosomen und Leishmanien eine Rolle spielen, sondern auch für die Behandlung von HIV-Infektionen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung von niedermolekularen, stickstoffhaltigen Verbindungen, den 4-Piperidonen, die als mögliche Inhibitoren des eIF-5A-aktivierenden Enzyms DOHH (Deoxyhypusinhydroxylase) das Potenzial besitzen, sowohl Malariaparasiten als auch HI-Viren in ihrem Wachstum zu hemmen. Darüber hinaus stellen sie vielversprechende Ansatzpunkte in der Bekämpfung von Trypanosomen- und Leishmanieninfektionen dar. Ob sie immer die DOHH treffen, kann

an dieser Stelle noch nicht gesagt werden, aber sie scheinen eine gute Leitstruktur für vielfältige antiinfektive Wirkungen zu sein.

1.1 Protozoeninfektionen

1.1.1 Malariaerreger Plasmodien

Jedes Jahr kommt es laut WHO zu über 250 Millionen Neuerkrankungen, wobei die tatsächlichen Fallzahlen wohl weit darüber hinaus gehen.^{2,3} Mehr als eine Million der Infizierten sterben jährlich, davon 90 Prozent in Afrika, wobei hauptsächlich Kinder und Schwangere südlich der Sahara betroffen sind. Damit ist die Malaria die häufigste letale parasitäre Infektionskrankheit weltweit.

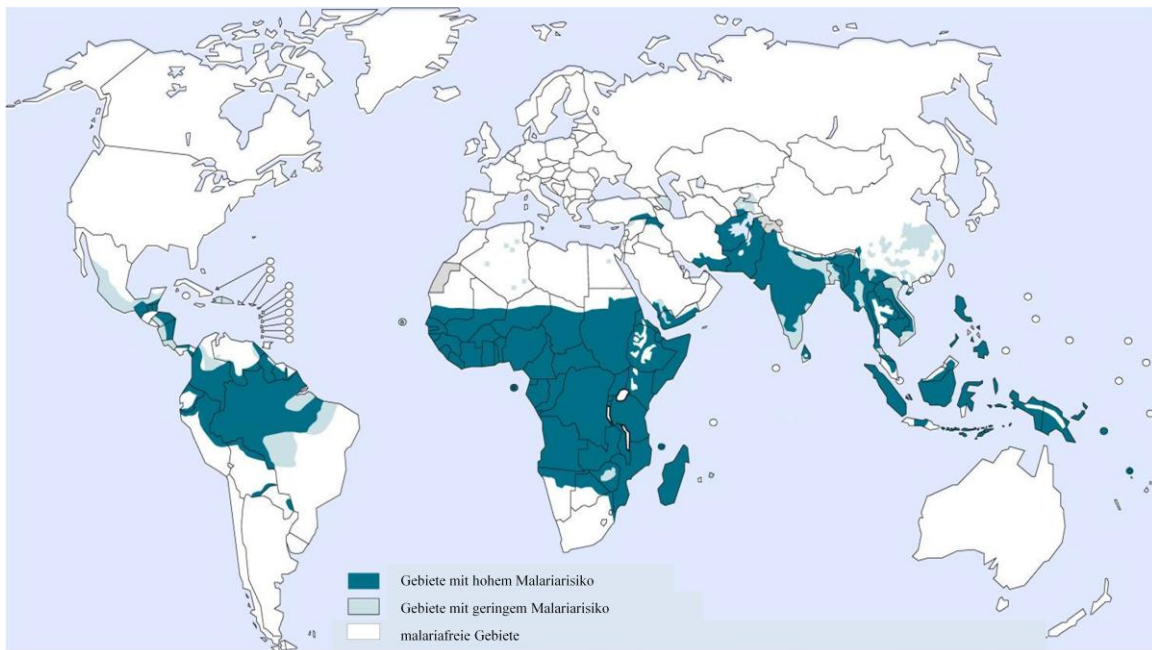


Abbildung 1-1 Verbreitungsgebiete der Malaria (modifiziert nach⁴)

Die Malaria-Erkrankung wird durch intrazelluläre, einzellige Parasiten, den Plasmodien, hervorgerufen. Die Übertragung der Erreger auf den Menschen erfolgt ausschließlich durch einen Stich der weiblichen Anophelesmücke, die als Vektor dient.

Unter den vielen bekannten Plasmodien-Arten kommen nur vier für eine Infektion des Menschen in Betracht: *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* sowie *Plasmodium falciparum*. Diese 4 humanpathogenen Arten rufen Erkrankungen unterschiedlichen Schweregrades und Verlaufs hervor. *Plasmodium vivax* und *Plasmodium falciparum* sind für 95% der Erkrankungen verantwortlich. Die größte Gefahr geht von *Plasmodium falciparum* aus, da dieser die potenziell tödlich verlaufende Malaria tropica verursacht. Das Problem hierbei ist, dass *Plasmodium falciparum* die Oberflächenbeschaffenheit von befallenen Erythrozyten so verändern kann, dass diese am Gefäßendothel haften bleiben. Dadurch kann es zu einem Gefäßverschluss in wichtigen Organen wie Lunge, Leber und Niere kommen. Desweiteren kann der Erreger die Blut-Hirn-Schranke überschreiten und so zu zerebralen Gefäßschäden mit tödlichem Ausgang führen.

Der Entwicklungszyklus der Malariaparasiten unterteilt sich in eine geschlechtliche Vermehrungsphase, die in der Anopheles-Mücke stattfindet und eine ungeschlechtliche Vermehrungsphase, die im menschlichen Zwischenwirt abläuft (siehe Abbildung 1-2). Für die Vermehrung der Erreger muss also ein Wirtswechsel vorgenommen werden.

Bei einem Stich der weiblichen Anophelesmücke werden mit deren Speicheldrüsensekret bestimmte Formen des Erregers, sogenannte Sporozoiten auf den Menschen übertragen. Diese gelangen über die Blutbahn zur Leber und nisten sich dort in die Leberzellen ein. Bei *P. vivax* und *P. ovale* können einige der Sporozoiten Dauerformen, sogenannte Hypnozoiten ausbilden, die bis zu 3 Jahre in der Leber ohne klinische Symptome persistieren können, um dann Rezidive zu verursachen. Ansonsten findet in den Leberzellen eine Reifung zu Schizonten statt (Schizogonie). In diesen Leberschizonten kommt es durch tausendfache Teilung zur Bildung von jungen Parasitenformen, den Merozoiten. Nach wenigen Tagen platzen die infizierten Leberzellen und entlassen die Merozoiten in den Blutkreislauf. Diese befallen die roten Blutkörperchen (Erythrozyten), in denen sich die Parasiten weiter vermehren. Innerhalb dieser Vermehrung treten bestimmte Ringformen, sogenannte Trophozoiten auf, die zu Schizonten heranreifen. Aus diesen Blutschizonten bilden sich wiederum Merozoiten, die beim Zerplatzen der Erythrozyten erneut freigesetzt werden. Nun können weitere Erythrozyten befallen

werden. Diese sogenannte erythrozytäre Schizogonie kann über längere Zeit zyklisch ablaufen. Durch die Zerstörung der roten Blutkörperchen kommt es zu den für die Malariaerkrankung typischen, rhythmisch wiederkehrenden Fieberschüben. Alle 48 bis 72 Stunden kann das Fieber ausbrechen, was der Malaria tertiana (Fieberschub am 1. und 3. Tag) sowie der Malaria quartana (Fieberschub am 1. und 4. Tag) ihren Namen gab.

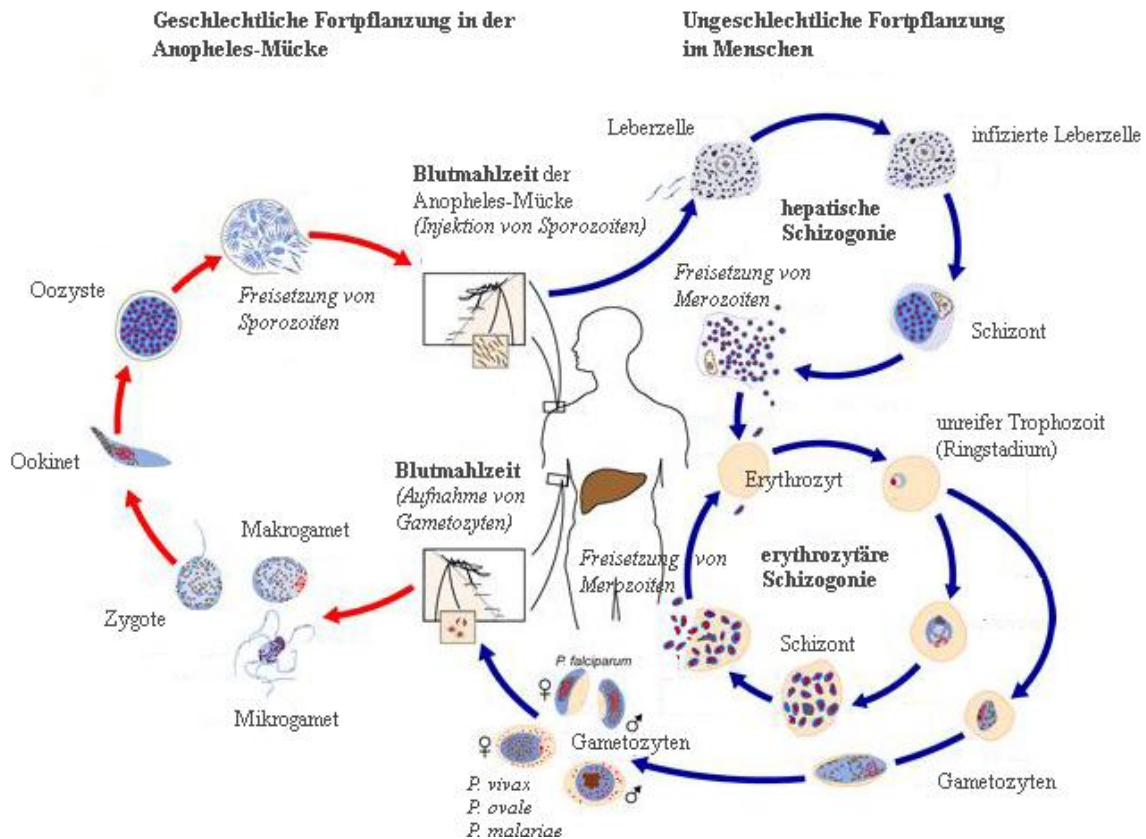


Abbildung 1-2 Entwicklungszyklus der Malariaerreger (modifiziert nach⁵)

Nach einiger Zeit entwickelt sich ein Teil der Merozoiten in den roten Blutkörperchen zu Geschlechtsformen, den Gametozyten. Diese werden bei einem erneuten Stich des Menschen durch die Anophelesmücke dem Moskito wieder zugeführt, in dem nun die geschlechtliche Vermehrung ablaufen kann. Nachdem sich die Gametozyten im Darm der Mücke zu Gameten weiterentwickelt haben, verschmelzen die männlichen Formen (Mikrogameten) mit weiblichen (Makrogameten) zu einer Zygote. Im Zuge eines Reifungsprozesses entwickeln sich daraus ein Ookinete und schließlich eine Oozyste. In

ihr entstehen neue Sporozoiten, die nach ihrer Freisetzung in die Speicheldrüsen des Insekts wandern. Von dort aus werden sie bei einem erneuten Stich über den Speichel auf den menschlichen Zwischenwirt übertragen.

1.1.1.1 Therapieoptionen und Resistenzentwicklung

Zur Behandlung der Malaria stehen mehrere Arzneistoffe mit unterschiedlichen Angriffspunkten zur Verfügung. Diese Arzneistoffe stammen aus 7 Substanzklassen, die nachfolgend näher betrachtet werden sollen. Gemessen an der Bedeutung der Malariaerkrankung gibt es dennoch recht wenige Therapieoptionen. Zudem erschweren Resistenzbildungen in den Plasmodien sowie ein ungünstiges Nebenwirkungsprofil einiger Arzneimittel eine effektive Therapie.

Die genauen Wirkmechanismen der meisten Substanzen sowie die Resistenzmechanismen sind zum Teil noch nicht vollständig verstanden, so dass hier nur Vermutungen angestellt werden können.

1.1.1.1.1 Hemmstoffe der Hämoglobinverwertung: 4-Aminochinoline und Arylaminoalkohole

Das Hämoglobin der befallenen Erythrozyten dient dem Parasiten als für die Vermehrung essenzielle Peptidquelle und wird in der parasitären Nahrungsvakuole proteolytisch gespalten. Im Zuge dieses Abbaus bleibt letztendlich der Häm-Anteil übrig, der durch Oxidation des zweiwertigen zum dreiwertigen Eisen in das für den Parasiten toxische Ferriprotoporphyrin-IX (FPIX) umgewandelt wird. Dieses wird nichtenzymatisch zum Hämozoin agglomeriert und somit entgiftet. Der Abbau bzw. die Aggregatbildung zum Hämozoin ist für den Parasiten überlebenswichtig.⁶ Wie FPIX den Parasiten schädigt, ist nicht klar. Membranveränderungen und die Erzeugung von oxidativen Stress könnten hier eine Rolle spielen.⁷

Die 4-Aminochinoline reichern sich als Dikationen in der Nahrungsvakuole an. Sie bilden durch ihre planare Struktur stabile Komplexe mit dem FPIX und verhindern die Umwandlung zum Hämozoin und somit die ordnungsgemäße Entgiftung des

Hämoglobinabbauproduktes.⁶ Untersuchungen zeigen, dass sich zwei Chloroquinmoleküle an zwei FPIX-Dimere anlagern und so einen FPIX-Chloroquin-Komplex der Stöchiometrie 4:2 ausbilden.⁸

Vermutet wird, dass die FPIX-Aminochinolin-Komplexe auf ein noch unbekanntes Membrantarget wirken, dadurch die Calciumkonzentration erhöht wird und dies eine Agglomeration der Hämoglobin-Transportvesikel zur Folge hat. Ein ordnungsgemäßer Hämoglobinabbau kann nicht mehr erfolgen und es kommt zur Schädigung und Lyse der Parasitenzellen, was letztlich zum Absterben des Parasiten führt.^{9,10}

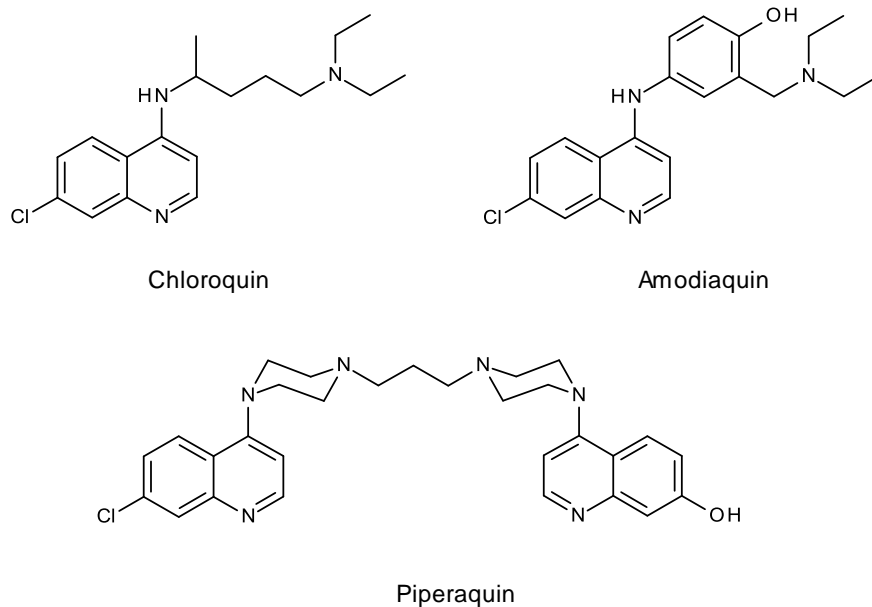


Abbildung 1-3 4-Aminochinoline als Hemmstoffe der Hämозoin-Bildung

Die Probleme dieser Stoffklasse sind die weit verbreiteten Resistenzen sowie vor allem bei Amodiaquin die schweren Nebenwirkungen, wie letale Leberschäden und Agranulozytosen.^{11,12} Durch Oxidation des 4-Aminophenol-Ringes im Amodiaquin entsteht ein Chinonimin, das schwefelhaltige Proteine binden und somit Leberzellen schädigen kann.

Resistenzen gegen Chloroquin treten vermehrt durch eine Mutation im Gen des plasmodialen Chloroquin-Resistenz-Transporters (PfCRT) auf.¹³ Dieses Transportprotein verhindert die Anreicherung des Chloroquins in der Nahrungsvakuole, indem der Wirk-

stoff wieder aus der Vakuole heraus transportiert wird. Dieser Rücktransport wird durch den Austausch eines basischen Lysins gegen das neutrale Threonin im CRT-Protein ermöglicht. Nun kann keine Ladungsabstoßung mehr zwischen der positiv geladenen Lysinseitenkette und dem in der Nahrungsvakuole positiv geladenen Chloroquinkation stattfinden.^{9,14}

Die Arylaminoalkohole besitzen einen ähnlichen Wirkmechanismus wie die 4-Amino-chinolone. Jedoch wird hier vermutlich die Calciumfreisetzung gehemmt und somit die Verschmelzung der Hämoglobintransportvesikel mit der Nahrungsvakuole verhindert. Somit steht das Hämoglobin dem Parasiten als wichtige Nahrungsquelle nicht mehr zur Verfügung.⁹ Mefloquin, Halofantrin und Lumefantrin kommen als Racemat zur Anwendung.

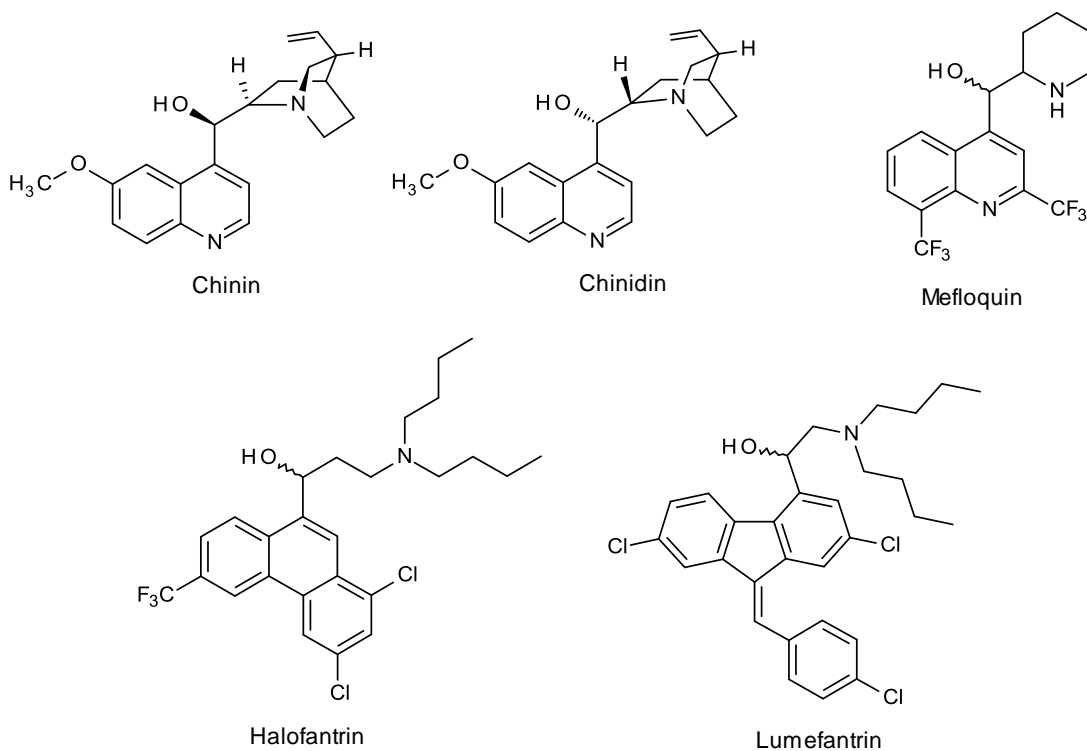


Abbildung 1-4 Arylaminoalkohole mit der Leitstruktur Chinin

Auch hier treten Resistenzen auf. Hierbei spielt die Zunahme der sogenannten MDR- (*multi drug resistance*) 1-Transporter in der Membran der Nahrungsvakuole eine

entscheidende Rolle. Dadurch werden die Wirkstoffe vermehrt aus dem Cytosol in die Nahrungsvakuole transportiert und somit unschädlich gemacht.¹⁴

Nebenwirkungen der Arylaminoalkohole, wie Tinnitus, Herzrhythmusstörungen und Neuropsychosen, führen häufig zum Therapieabbruch.

1.1.1.1.2 Folsäure-Antagonisten

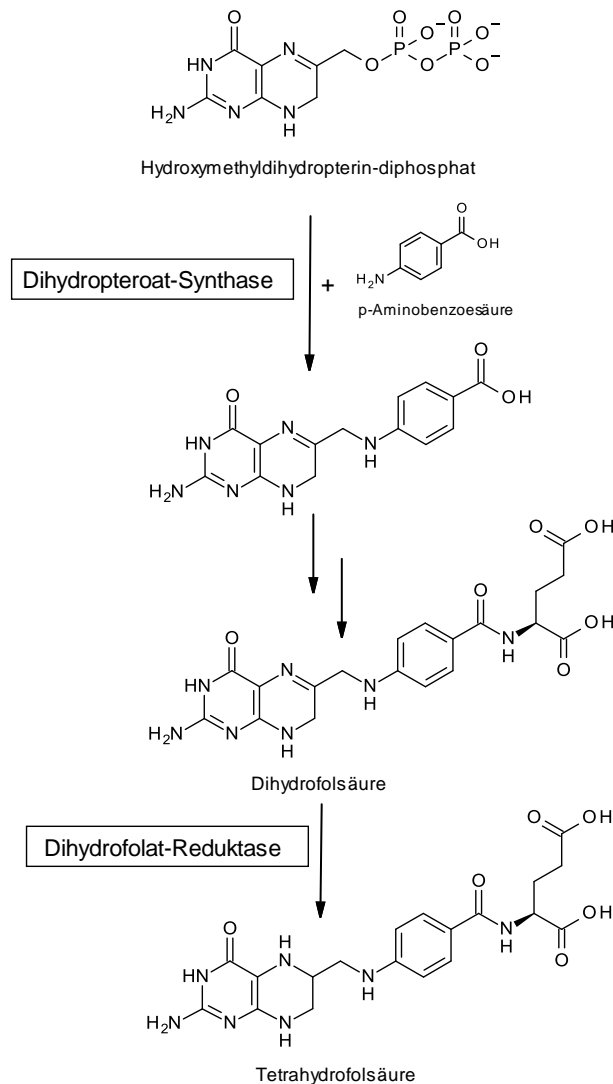


Abbildung 1-5 Vereinfachtes Schema der Folsäuresynthese

Im Unterschied zum Menschen sind Parasiten in der Lage, die für die Nukleinsäuresynthese wichtige Folsäure selbst zu bilden. In den parasitären Folatstoffwechsel und somit in die Nukleinsäuresynthese kann mit Hemmstoffen der Dihydropteroat-Synthase (DHPS) sowie mit Dihydrofolat-Reduktase (DHFR)-Hemmstoffen eingegriffen werden. Eine Hemmung der Dihydropteroat-Synthase wird mit 4-Aminosulfonamidderivaten wie Sulfadoxin und mit dem Lepratherapeutikum Dapson erreicht. Sie wirken als Antimetaboliten, indem sie kompetitiv die p-Aminobenzoesäure verdrängen, die zum Aufbau der Dihydrofolsäure benötigt wird. Da diese Substanzen alleine eine nur recht schwache antiparasitäre Wirkung besitzen, werden sie mit Hemmstoffen der Dihydrofolat-Reduktase (siehe Abbildung 1-6) kombiniert. Diesen Synergismus nutzt man z. B. in den Malariamedikamenten Fansidar[®], das eine Kombination aus Sulfadoxin und Pyrimethamin darstellt, sowie im Lapdap[®], einer Kombination aus Chlorproguanil und Dapson.¹⁵

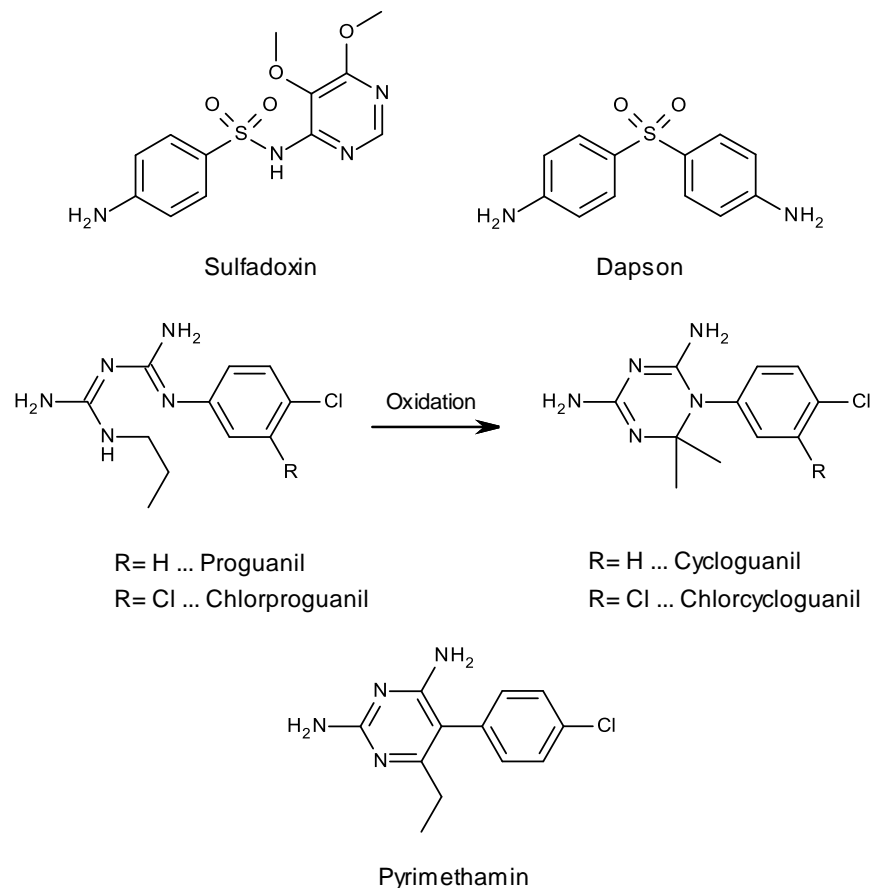


Abbildung 1-6 Hemmstoffe der Dihydropteroat-Synthase (Sulfadoxin, Dapson) sowie der Dihydrofolat-Reduktase (Pyrimethamin, Proguanil)

Proguanil und Chlorproguanil stellen Prodrugs dar, die durch Cytochrom-P450-Enzymvermittelte Oxidation (CYP 2C19) in ihre eigentliche Wirkform Cycloguanil bzw. Chlorcycloguanil überführt werden.

Resistenzen gegen diese Wirkstoffe entstehen durch Mutationen im *dhps*^I- sowie *dhfr*^{II}-Gen.¹¹ Diese beinhalten den Austausch verschiedener Aminosäuren in den Zielenzymen, so dass eine wichtige Wechselwirkung mit den Wirkstoffen, die auf der Ausbildung von Wasserstoffbrücken beruht, nicht mehr erfolgen kann.⁹

Diese Stoffgruppe ist nur bedingt einsetzbar, da schwere allergische Reaktionen auftreten können (Steven-Johnson-Syndrom). Unter der Therapie mit Dapson kam es bei Patienten mit Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase-Mangel zu hämolytischen Anämien.

1.1.1.3 Artemisininine

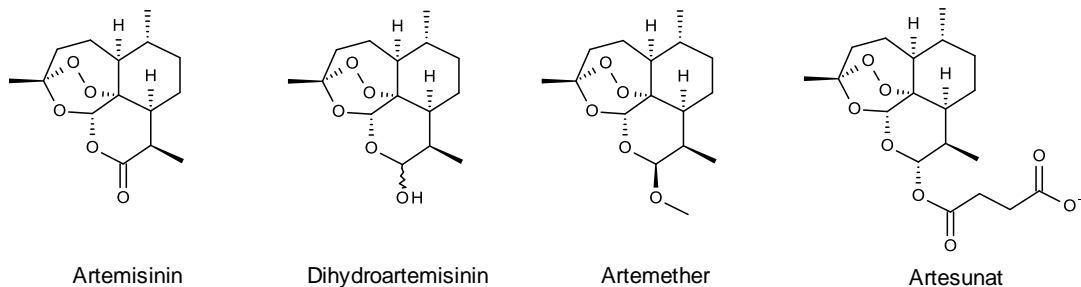


Abbildung 1-7 Artemisinin mit seinen semi-synthetischen Derivaten

Die Artemisininine leiten sich vom Sesquiterpenlacton Artemisinin ab, das ursprünglich aus dem einjährigen Beifuß (*Artemisia annua*) stammt. Dessen Extrakte wurden schon vor 2000 Jahren in China zur Behandlung von fieberigen Erkrankungen eingesetzt.

Aufgrund der schlechten Löslichkeit des Artemisinins in Wasser sowie in Öl kommen nur seine halbsynthetischen Derivate, wie die Acetale Dihydroartemisinin und Artemether sowie der Ester Artesunat, zum Einsatz (siehe Abbildung 1-7).

^I Dihydropteroat-Synthase-Gen

^{II} Dihydrofolat-Reduktase-Gen

Hinsichtlich des Wirkmechanismus gibt es 2 Theorien:

- 1) Das Endoperoxid scheint für die Wirksamkeit das essenzielle Strukturelement zu sein. Durch eine Eisen(II)-vermittelte Spaltung der Endoperoxidbrücke in der Nahrungsvakuole entstehen reaktive Kohlenstoffradikale, die mit dem Häm selbst interagieren sowie parasitäre Proteine schädigen und inaktivieren (Multiple-Target-Theorie).^{16,17} Nach neuesten Erkenntnissen an Hefemodellen scheint dieser Mechanismus jedoch eher im parasitären Mitochondrium abzulaufen. Nach der Aktivierung durch in der Mitochondrienmembran vorhandene Eisenionen kommt es zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies, die letztendlich den Elektronentransport stören und zum Zusammenbruch des mitochondrialen Membranpotentials führen.¹⁸
- 2) Diesem Mechanismus steht die Hemmung eines definierten Zielproteins außerhalb der Nahrungsvakuole bzw. des Mitochondriums gegenüber. So könnten die Artemisinine den Parasiten schädigen, indem sie eine membranständige Calcium-ATPase (PfATP6) hemmen, die Calciumionen in das endoplasmatische Retikulum transportiert. Dadurch wird die Calcium-Homöostase gestört.^{17,19,20,21}

Artemether und Artesunat werden recht schnell in den biologisch aktiven Hauptmetaboliten Dihydroartemisinin umgewandelt. Artesunat kann neben der oralen (orale Bioverfügbarkeit ca. 15%), intramuskulären sowie rektalen Gabe aufgrund seiner freien Carboxylatgruppe und der damit verbundenen guten Wasserlöslichkeit auch intravenös gegeben werden. Im Blut wird es vermutlich nichtenzymatisch innerhalb von Minuten zu Dihydroartemisinin hydrolysiert.²² Dihydroartemisinin besitzt eine relativ kurze Halbwertszeit von 40 bis 60 Minuten und wird daher rasch aus dem Plasma eliminiert. Artemether besitzt eine ausreichend gute orale Bioverfügbarkeit von 43%. Es wird langsamer als Artesunat durch oxidative Desalkylierung zu Dihydroartemisinin metabolisiert. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 1-2 Stunden.²³

Die Artemisininderivate sind die effektivsten Malariatherapeutika, die es bis jetzt auf dem Markt gibt. Sie reduzieren die Parasitenlast pro asexuellen Zyklus um den Faktor 10^4

und sind gegen alle erythrozytären Stadien - auch gegen die frühen Ringstadien - wirksam.²³

Bis jetzt sind kaum klinisch relevante Resistenzen gegen die Artemisinine bekannt, aber Hinweise auf eine verminderte Wirksamkeit von Dihydroartemisinin *in vitro* sowie Rezidive nach einer Artesunat-Monotherapie sind sehr besorgniserregend.^{17,24} Es ist nicht auszuschließen, dass sich im Laufe der Zeit, gerade unter der Monotherapie, Resistenzen ausbilden können. Aufgrund der raschen Elimination der Artemisinine und um das Risiko von Resistenzen sowohl gegen die Artemisinine als auch gegen Malariatherapeutika aus anderen Wirkstoffklassen zu minimieren, geht man laut WHO-Empfehlungen dazu über, Artemisinine in Kombination mit anderen, länger wirksamen Stoffen einzusetzen.^{25,26,27}

Sie bilden dabei die Grundlage der Artemisinin-basierten Kombinationstherapie (ACT: artemisinin based combination therapy).²⁸ Die am häufigsten verwendeten Kombinationen, die von der WHO empfohlen werden, sind die Artesunat-Kombinationen mit Mefloquin, Amodiaquin und Pyrimethamin/ Sulfadoxin sowie Dihydroartemisinin mit Piperaquin.^{29,30} Darüber hinaus wird Artemether mit dem Arylaminoalkohol Lumefantrin kombiniert (Riamet[®], Coartem[®]), was einen deutlich additiven Effekt in der Wirkung hat.^{11,31} Da Artemether, Artesunat und der aktive Metabolit Dihydroartemisinin nach etwa 3 Tagen komplett aus dem Kreislauf eliminiert sind, führt man danach praktisch eine Art Monotherapie mit dem länger wirksamen Kombinationspartner durch, der die übrig gebliebenen Parasiten abtöten soll. Was die Entstehung resistenter Parasiten angeht, wird der Einsatz von Stoffen mit unterschiedlichen pharmakokinetischen Profilen jedoch kontrovers diskutiert.³²

1.1.1.1.4 Hemmstoffe der Atmungskette

Atovaquon, ein Struktur analogon des Ubichinons, hemmt den Ubichinon-vermittelten Elektronentransport auf einen bestimmten Cytochromkomplex in der Mitochondrienmembran. Dadurch bricht das mitochondriale Membranpotential zusammen und die Atmungskette kommt zum Erliegen, was ein Absterben der Parasiten zur Folge hat.

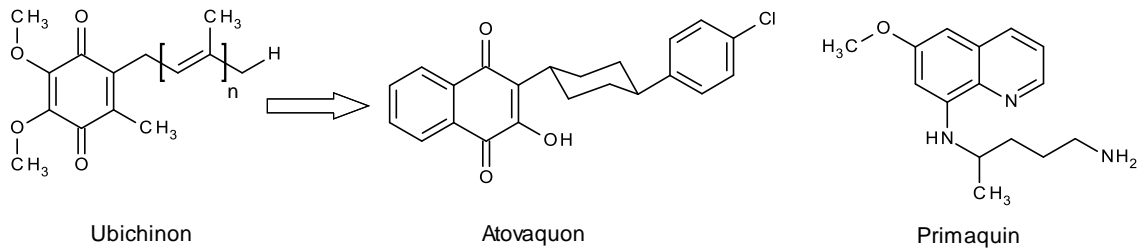


Abbildung 1-8 Atovaquon und das 8-Aminochinolin Primaquin als Hemmstoffe der Atmungskette

Auch hier bilden sich, gerade unter der Monotherapie, schnell Resistenzen aus. Diese bestehen darin, dass es zu einem Aminosäureaustausch in der Bindetasche des Zielproteins kommt und der Wirkstoff nicht mehr ausreichend mit diesem wechselwirken kann. Das Resistenzproblem kann man umgehen, indem man Atovaquon mit einem anderem Wirkstoff, dem Folsäureantagonisten Proguanil, kombiniert (wie im Malaria-medikament Malarone[®]).³³

Primaquin ist das einzige Therapeutikum, das gegen alle Leberstadien von *P.vivax* und *P.ovale* wirksam ist. Die Hypnozoiten, die hepatischen Dauerformen, können eliminiert werden, hingegen ist die Effektivität gegen die erythrozytären Parasitenformen eher gering. Die genaue Wirkweise ist nicht bekannt, aber es wird ebenfalls eine Hemmung des Elektronentransports in der mitochondrialen Atmungskette diskutiert, die durch einen Ubichinon-antagonistischen Effekt hervorgerufen wird.

Unter der Therapie mit Primaquin kann es bei Menschen mit Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase-Mangel zu einer schweren Nebenwirkung, der intravasalen Hämolyse, kommen.^{34,35}

1.1.1.1.5 Antibiotika

Das Tetracyclin-Antibiotikum Doxycyclin sowie Clindamycin aus der Gruppe der Lincosamide werden zur Therapie der Malaria eingesetzt. Sie binden an spezifische Untereinheiten der Ribosomen und verhindern dadurch die RNA-Translation und somit

die Proteinbiosynthese im sogenannten Apikoplasten der Parasiten.²⁰ Der Apikoplast verfügt noch über einen prokaryotischen, Bakterien-ähnlichen Proteinbiosyntheseapparat. Auffällig ist die verzögerte Wirkung der Antibiotika, die erst nach ca. 4 Tagen einsetzt. Deshalb kombiniert man sie mit schneller wirksamen Malariatherapeutika, wie z. B. Chinin oder Artesunat.²⁷ Klinisch relevante Resistenzen traten in dieser Gruppe bisher noch nicht auf.

Jedoch kann Doxycyclin gerade bei den stark von Malariaerkrankungen betroffenen Gruppen der Schwangeren und Kindern aufgrund der Einlagerung in wachsende Knochensubstanz nicht angewendet werden.

Doxycyclin wird darüber hinaus auch zur Malariaphylaxe eingesetzt, obwohl es für diese Indikation in Deutschland keine Zulassung besitzt.

1.1.1.1.6 Neue Antimalaria-Wirkstoffe

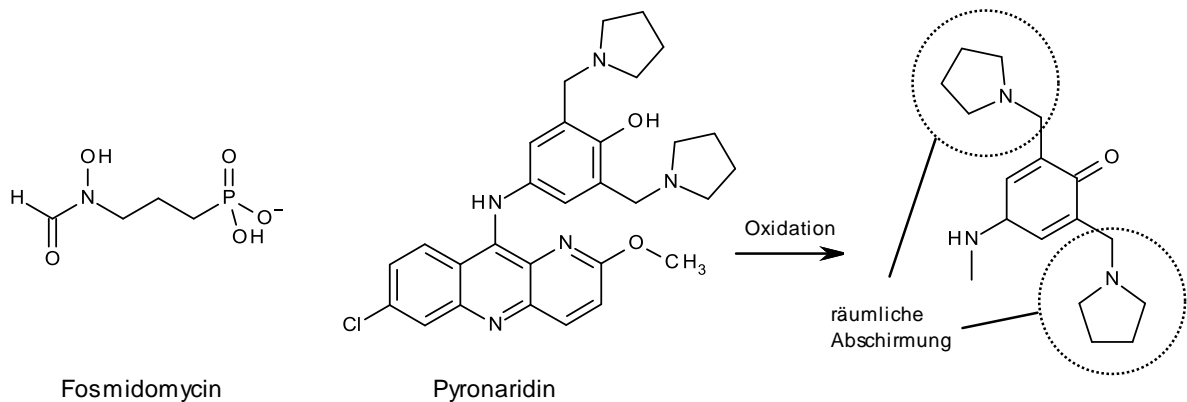


Abbildung 1-9 Beispiele von in der klinischen Entwicklung befindlichen, neuen Malariatherapeutika

Fosmidomycin ist ein Hemmstoff der Mevalonat-unabhängigen Isoprenoidsynthese, die nur in Parasiten vorkommt. Es blockiert ein Schlüsselenzym dieses Stoffwechselweges, die sogenannte Deoxyxylulose-5-phosphat-Reduktoisomerase. Da Fosmidomycin ein schnell wirksames Malariatherapeutikum ist, muss es mit einem länger wirksamen Wirkstoff kombiniert werden. In klinischen Studien konnte eine Kombination von

Fosmidomycin mit Clindamycin durch gute Wirksamkeit gepaart mit guter Verträglichkeit überzeugen.¹⁰

Auch Pyronaridin erzielte bis dato in klinischen Studien in Kombination mit Artesunat vielversprechende Ergebnisse.³⁶ Die Wirkweise scheint äquivalent zu den 4-Amino-chinolinen zu sein, obwohl es aufgrund des Azaacridin-Ringsystems nicht dieser Stoffgruppe angehört. Wie beim Amodiaquin entsteht aus dem 4-Aminophenolrest *in vivo* durch Oxidation ein Chinonimin, das Leberproteine schwer schädigen kann. Jedoch ist dies durch die zwei Mannich-Base-Teilstrukturen besser abgeschirmt (siehe Abbildung 1-9).^{7,10}

1.1.2 Trypanosomeninfektionen

1.1.2.1 Die Schlafkrankheit und die Chagas-Krankheit

Trypanosomen, parasitische Protozoen aus der Familie der Trypanosomatiden, sind verantwortlich für zwei lokal getrennt auftretende Infektionen: die in Mittel- und Südamerika vorkommende Chagas-Krankheit sowie die Schlafkrankheit, die in Ost- und Westafrika vorherrscht.

Die *Trypanosoma brucei*-Unterarten *T. brucei rhodesiense* und *gambiense* sind die Erreger der Schlafkrankheit. Sie werden durch die ausschließlich auf den afrikanischen Kontinent vorkommende Tsetse-Fliegen auf den Menschen übertragen. *Trypanosoma brucei rhodesiense* führt zur akut verlaufenden ostafrikanischen Schlafkrankheit, während *Trypanosoma brucei gambiense* in Westafrika einen chronischen Verlauf hervorruft.³⁷ Insgesamt 500.000 Menschen sind laut WHO momentan betroffen. 2004 infizierten sich noch ca. 18.000 Menschen neu mit den Erregern, während 2009 nur etwa 10.000 Neuinfektionen auftraten.³⁸

Nach der Übertragung von *Trypanosoma brucei* auf den Menschen in Form von sogenannten Trypomastigoten gelangen die Parasiten über das Lymphsystem in den Blutkreislauf. Dort findet eine Teilung und Vermehrung statt. Im ersten Stadium der Trypanosomeninfektion bildet sich an der Einstichstelle eine lokale Entzündung, die man

als Trypanosomenschanker bezeichnet. Es kommt zu Fieberschüben und Schwellung der Lymphknoten. Nach Wochen bzw. Monaten überwinden die Erreger die Blut-Hirn-Schranke und dringen ins zentrale Nervensystem (ZNS) ein. In diesem zweiten Stadium der Erkrankung bildet sich eine schleichende Enzephalopathie begleitet von Störungen des Schlaf-Wach-Rhythmus, Krampfanfällen bis hin zu apathischen Verhaltensweisen und komatösen Zuständen. Unbehandelt führt die Erkrankung immer zum Tod.

Bei einem erneuten Stich der Tsetse-Fliege nimmt diese die trypomastigoten Erregerformen wieder auf. Im Mückendarm teilen und vermehren sich die Parasiten und es entwickeln sich die sogenannten epimastigoten Formen, die nach einer weiteren Teilungs- und Vermehrungsphase in der Speicheldrüse als Trypomastigoten erneut auf einen Wirt übertragen werden können (siehe Abbildung 1-10).

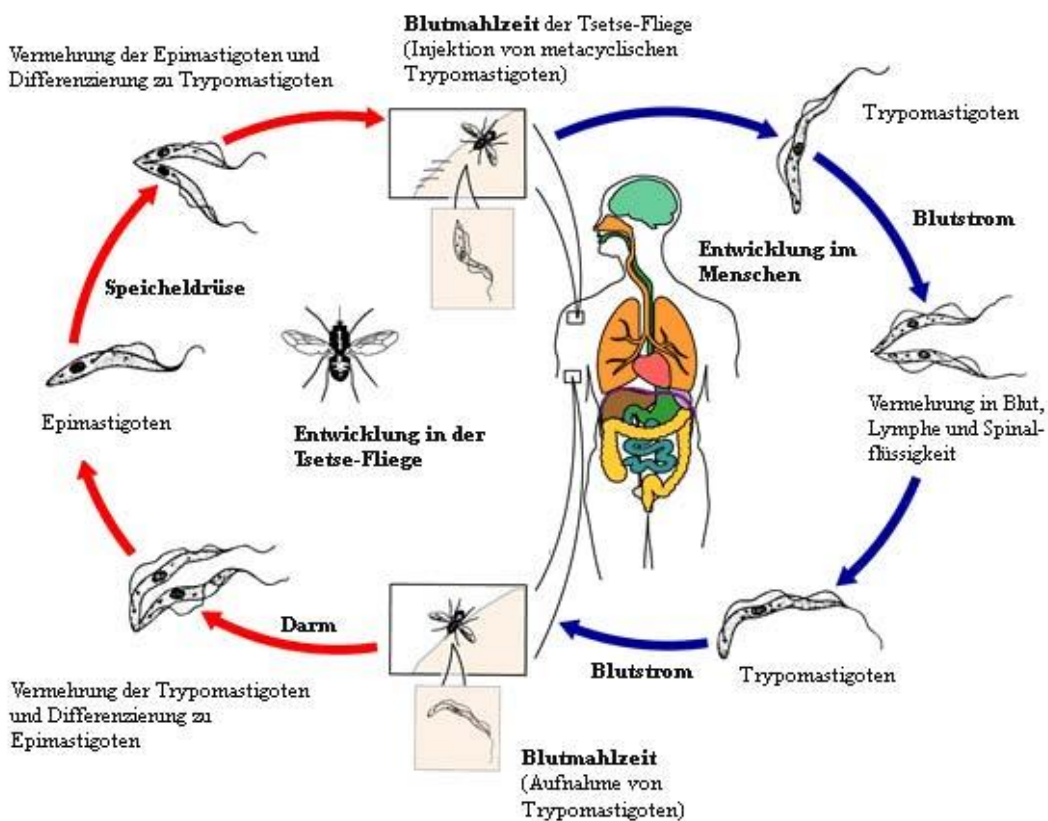


Abbildung 1-10 Entwicklungszyklus der Schlafkrankheitserreger *T. brucei rhodesiense* und *gambiense* (modifiziert nach⁵²)

Die in Mittel- und Südamerika auftretende Chagas-Krankheit, auch Amerikanische Trypanosomeninfektion genannt, wird hervorgerufen durch *Trypanosoma cruzi*. Der Erreger wird von blutsaugenden Raubwanzen der Gattung *Triatoma* auf den Menschen übertragen. Pro Jahr kommt es zu ca. 50.000 Neuinfektionen und über 15.000 Todesfällen.³⁹

Die trypomastigote Form des *Trypanosoma cruzi*-Erregers wird durch den infizierten Kot der Raubwanze auf den Menschen übertragen. Über Schleimhäute, besonders die Augenschleimhaut, und über die Stichwunde, zugefügt durch die Raubwanze, gelangen sie in den Blutstrom des Zwischenwirts. Dort angekommen dringen sie in verschiedene Körperzellen ein und es entstehen intrazelluläre Amastigoten. Diese vermehren sich im Cytoplasma der infiltrierten Zellen durch Teilung und differenzieren schließlich wieder zu Trypomastigoten aus. Die Wirtszelle wird zerstört und die Parasiten in die Blutbahn freigesetzt. Nun können weitere Körperzellen, wie Herzmuskelzellen, Zellen des Verdauungstraktes und des Nervensystems befallen werden, wobei der intrazelluläre Vermehrungszyklus von Neuem beginnt.

Wird bei einem erneuten Stich infiziertes Blut von der Raubwanze aufgenommen, werden die trypomastigoten Parasitenformen im Darm des Insekts zu Epimastigoten umgewandelt. Nach einer Teilungs- und Vermehrungsphase stehen letztendlich neue infektiöse Trypomastigoten im Insektenenddarm zur Übertragung auf einen neuen Wirt bereit (siehe Abbildung 1-11).

Der symptomatische Verlauf der Chagas-Krankheit lässt sich in verschiedene Stadien einteilen. Im ersten Stadium entsteht an der Infektionsstelle ein Ödem, das sogenannte Chagom. Typisch ist hier das Lidödem, da die Erreger oft über die Augenschleimhaut aufgenommen werden. Vor allem bei abwehrgeschwächten Personen treten in einem akuten Zwischenstadium Fieber, Durchfälle, Lymphknotenschwellungen und Krampfanfälle auf. Die Krankheit kann über Monate bis Jahre unbemerkt im Körper persistieren. Aus dieser Latenzphase heraus entwickelt sich schließlich das zweite, das chronische Stadium. Dabei kommt es zur Herzvergrößerung bis hin zur Myokarditis, zur Ausbildung von Megaorganen (Megakolon) sowie zu neurologischen Ausfallerscheinungen.

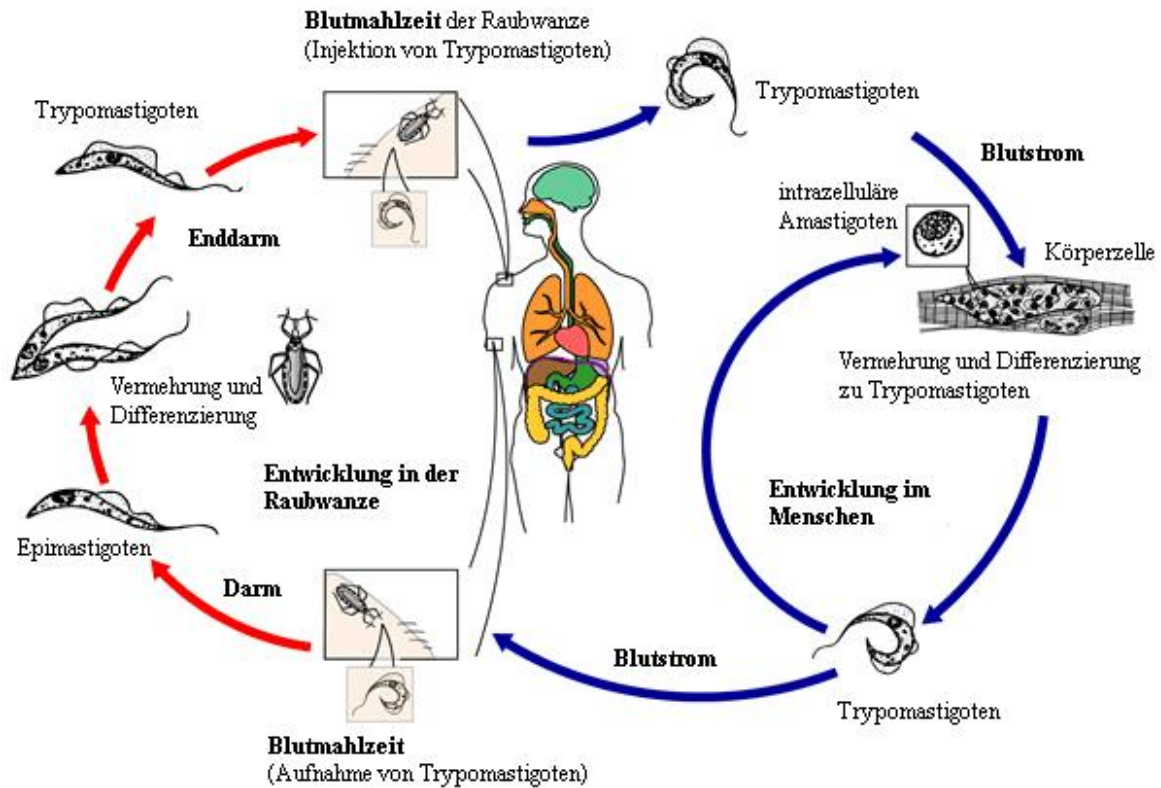


Abbildung 1-11 Entwicklungszyklus des Erregers der Amerikanischen Chagas-Krankheit *Trypanosoma cruzi* (modifiziert nach⁵²)

1.1.2.2 Therapie der Trypanosomeninfektionen

Die Möglichkeiten der Chemotherapie der Trypanosomenerkrankung sind sehr begrenzt und recht unbefriedigend.

Eine besondere Herausforderung stellt die Behandlung von *T. cruzi*-Infektionen dar, da es sich um einen intrazellulären Parasiten handelt und die Wirkstoffe somit die Plasmamembran durchdringen müssen. *T. brucei*-Erreger verbleiben vor dem Befall des ZNS im Blut, so dass sie für Therapeutika besser zugänglich sind.

Für die Therapie der Chagas-Krankheit stehen mit Benznidazol und Nifurtimox nur 2 Wirkstoffe zur Verfügung, die auch noch mit schweren Nebenwirkungen behaftet sind und schon seit 40 Jahren angewandt werden.

Nifurtimox ist zusätzlich gegen *T. brucei gambiense*, den Erreger der westafrikanischen Schlafkrankheit, wirksam. Es wird durch Nitroreduktasen in reaktive Moleküle (reaktive Sauerstoffspezies bzw. Superoxidationen und Radikalanionen) umgewandelt, die verschiedene Proteine in der Parasitenzelle schädigen.⁴⁰ Benznidazol wird ebenfalls zu reaktiven Metaboliten biotransformiert, die schließlich kovalent an Proteine und DNA binden.^{41, 42}

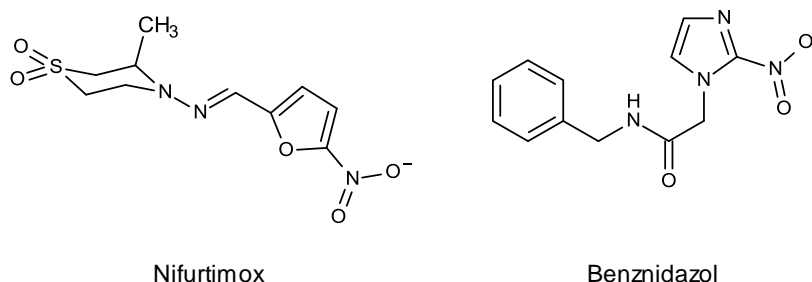


Abbildung 1-12 Wirkstoffe zur Behandlung der Amerikanischen Trypanosomeninfektion (Chagas-Krankheit)

Benznidazol und Nifurtimox sind nur in der akuten Phase der Infektion wirksam, in der chronischen Phase sind sie weniger effektiv. Ein weiterer Nachteil ist die notwendige, sehr lange Behandlungsdauer von 60 Tagen bei Benznidazol und bis zu 90 Tagen bei Nifurtimox.³⁹ Dazu kommen Nebenwirkungen wie Leber- und Nierenversagen sowie zentralnervöse Störungen.

Posaconazol, ein Antimykotikum aus der Gruppe der Triazole, scheint eine vielversprechende neue Substanz zur Behandlung der Chagas-Krankheit zu sein. Zurzeit befindet sie sich in Spanien in Phase-II-Studien.^{39,43}

Für die Behandlung der Afrikanischen Schlafkrankheit kommen neben Nifurtimox 4 weitere Substanzen in Frage: Suramin, Pentamidin, Melarsoprol sowie Eflornithin.

Suramin und Pentamidin sind nur im ersten Stadium der *T. brucei*-Infektion wirksam, solange die Erreger die Blut-Hirn-Schranke noch nicht überschritten haben. Suramin, eine Weiterentwicklung von Naphthylamin-Azofarbstoffen, wird als Hexanatriumsalz eingesetzt. Es muss parenteral appliziert werden und hemmt in der Parasitenzelle neben

der LDL^{III}-Aufnahme eine Vielzahl von Enzymen, wie z.B. die Dihydrofolatreduktase und Enzyme der Glykolyse.⁴⁴ Der genaue Wirkmechanismus ist allerdings unbekannt. Problematisch ist die Nierentoxizität von Suramin. Resistenzen gegen den Wirkstoff traten bisher noch nicht auf.

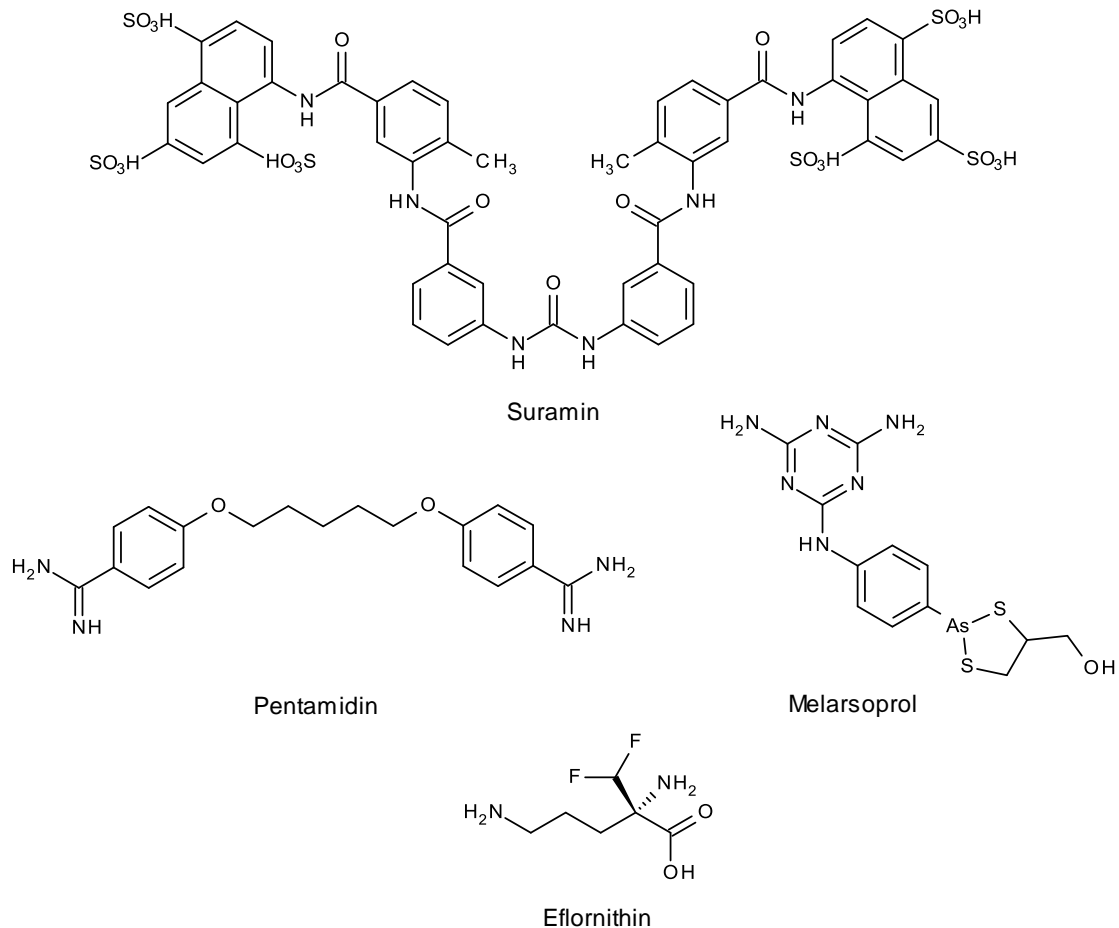


Abbildung 1-13 Strukturen der Wirkstoffe gegen die Afrikanische Schlafkrankheit

Das Diamidin Pentamidin gelangt über mehrere Transporter in millimolaren Konzentrationen in die Parasitenzelle. Dort interagiert es als Dikation mit einer Vielzahl von polyanionischen Zielstrukturen wie der DNA, verschiedenen Proteinen und Lipiden. Neuerdings wird vermutet, dass die Hemmung von Enzymen im parasitären Mitochondrium zum Zusammenbruch des mitochondrialen Membranpotentials führt.⁴²

^{III} LDL...Low Density Lipoprotein

Schon aufgetretene Resistenzen beruhen auf einer verminderten Aufnahme des Pentamidins in die Parasitenzelle.⁴⁴

Ist das ZNS befallen, können nur noch Melarsoprol und Eflornithin eingesetzt werden. Allerdings ist Eflornithin nur im Spätstadium der durch *T. brucei gambiense* ausgelösten Westafrikanischen Schlafkrankheit, nicht aber im Spätstadium der Ostafrikanischen Schlafkrankheit (*T. brucei rhodesiense*) wirksam.

Die dreiwertige Arsenverbindung Melarsoprol ist toxisch und 4-12 % der Patienten sterben allein an den Nebenwirkungen dieser Substanz (Arsenenzephalitis).⁴⁵ Melarsoprol ist ein Reaktionsprodukt aus Melarsenoxid und Dimercaptopropanol. Die Einführung des Dithiolalkohols ermöglicht eine verbesserte Überwindung der Blut-Hirn-Schranke. Dennoch wird in der Cerebrospinalflüssigkeit nur 1/50 der Plasmakonzentration erreicht. Melarsoprol ist eine recht instabile Substanz, die ziemlich schnell in ihre Reaktionsprodukte zersetzt wird. Das dabei entstehende Melarsenoxid wird über den Aminopurin-P2-Transporter in die Trypanosomen aufgenommen. Das noch nicht umgewandelte Melarsoprol gelangt durch Diffusion in die Parasitenzelle und wird erst dort gespalten. Das Melarsenoxid bildet mit Thiolgruppen in Proteinen stabile Komplexe und inhibiert somit zahlreiche Enzyme. Zum Beispiel bindet es das Dithiol Trypanothion, ein wichtiges Molekül zur Aufrechterhaltung des zellulären Redoxgleichgewichtes. Neben dem Abbau von reaktiven Sauerstoffspezies (wie z.B. Hydrogenperoxide) besitzt es metabolische Funktionen.^{46,47} Trypanothion (N¹,N⁸-Bis(glutathionyl)spermidin) kommt nur in Parasiten der Trypanosomatiden-Familie vor und wird aus dem Polyamin Spermidin und Glutathion gebildet (siehe unter 1.2.2.2). Mit seiner Trypanothion-Reduktase ersetzt es in Trypanosomen und auch in Leishmanien das in humanen Zellen vorkommende Glutathion/ Glutathion-Reduktase-System.

Der entstandene Komplex aus Melarsenoxid und Trypanothion, MeIT genannt, inhibiert die Trypanothion-Reduktase und der intrazelluläre Redoxstoffwechsel wird grundlegend gestört.⁴⁸ Die Parasitenzelle ist nun anfälliger für oxidativen Stress und geht zugrunde.

Melarsoprol wird intravenös in Propylenglycol appliziert, was für den Patienten sehr schmerzhaft ist. Auch gegen diesen Wirkstoff bestehen Resistenzen, die auf einen Verlust der Aminopurin-P2-Transporter-Funktion beruhen.⁴⁹

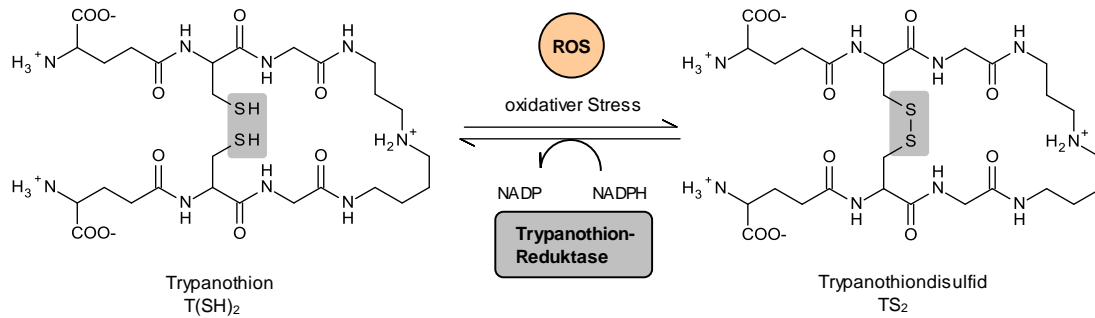


Abbildung 1-14 Trypanothion-/ Trypanothion-Reduktase-System in Trypanosomatiden

Eflornithin (auch DMFO genannt, siehe Abbildung 1-13) ist der zweite Wirkstoff, der die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann. Er wird in hohen Dosen intravenös verabreicht. Der Angriffspunkt ist ein Schlüsselenzym des parasitären Polyaminstoffwechsels, die Ornithindecaboxylase (ODC) (siehe auch unter 1.2.2). Eflornithin stellt einen Suizid-inhibitor dar, der einen katalytischen Rest im aktiven Zentrum der ODC kovalent bindet und das Enzym auf Dauer inaktiviert. Die ODC-Inhibition führt zu einem Verlust der für die Zellproliferation und -differenzierung wichtigen Polyamine Putrescin und Spermidin (siehe unter 1.2.2.1), zu einer verminderten Trypanothion-Biosynthese sowie letztendlich zur Abnahme der DNA-, RNA- und Proteinsynthese.⁴⁷ Das alles hat den zytostatischen Effekt des Eflornithins zur Folge.⁴⁴

Auch die menschliche Ornithindecaboxylase wird irreversibel gehemmt, aber die selektive therapeutische Wirksamkeit des Eflornithins gegenüber *T. brucei gambiense* lässt sich mit der unterschiedlichen *In-Vivo*-Halbwertszeit des menschlichen (wenige Minuten) und des parasitären Enzyms (18 Stunden) erklären. Die metabolische Stabilität des trypanosomal ODC-Enzyms gegenüber dem menschlichen führt zu einer längeren Hemmung (zu einem längeren Aussetzen) der ODC-Funktion. Durch die höhere Neubildungsrate der menschlichen ODC wird das inhibierte Enzym durch schnell gebildetes, neues Protein ersetzt. Diese schnelle De-Novo-Synthese des Targetproteins hebt den Effekt des Eflornithins als irreversiblen Inhibitor der ODC auf. Die Unwirksamkeit von Eflornithin bei *T. brucei rhodesiense* ist ebenso auf eine kürzere Halbwertszeit des Enzyms bei diesem Erreger zurückzuführen.⁵⁰ Obwohl Eflornithin im Vergleich zu

Alternativtherapeutika besser verträglich ist, werden hohe Dosen benötigt, die lange Infusionszeiten erfordern. Dies erschwert die Behandlung und macht sie recht teuer.⁴⁹

Man erkennt hier die limitierten therapeutischen Möglichkeiten und die Notwendigkeit, neue Wirkstoffe inklusive neuer Ansatzpunkte und Strategien gegen Trypanosomeninfektionen zu finden. Darüber hinaus sind die Aussichten auf neue Wirkstoffe sehr bescheiden. Einzig das Prodrug Pafuramidin befindet sich in fortgeschrittenen klinischen Studien (Phase III). Pafuramidin soll oral gegeben werden können. Es wird *in vivo* in den Leberzellen zu dem Diamidin Furamidin umgesetzt, ist aber aufgrund der fehlenden ZNS-Gängigkeit nur in den frühen Phasen der Trypanosomiasis einsetzbar.^{42,48}

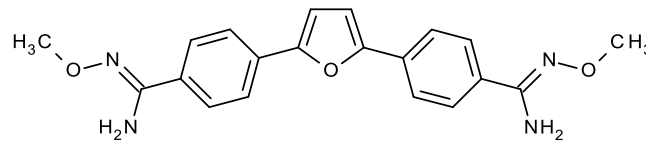


Abbildung 1-15 Das *O*-Methylamidoxim-Prodrug Pafuramidin

1.1.3 Leishmanieninfektionen

Leishmanien sind einzellige, mit Trypanosomen eng verwandte Parasiten aus der Familie der Trypanosomatiden. Die durch sie hervorgerufene Infektionserkrankung, die Leishmaniose, tragen nach Angaben der WHO bereits 12 Millionen Menschen in sich. Jedes Jahr kommen 2 Millionen Neuinfektionen hinzu. Allein dem Risiko einer Leishmanieninfektion sind 350 Millionen Menschen in 88 Ländern ausgesetzt.⁵¹

Es gibt etwa 20 humanpathogene Leishmanienarten, die durch die weibliche Sandmücke übertragen werden. Die Verbreitungsgebiete sind hauptsächlich die tropischen und subtropischen Regionen wie Afrika, Südwestasien, Latein- und Südamerika, der Mittlere Osten aber auch die südeuropäischen Mittelmeerstaaten.

Es treten 2 Parasitenformen auf: die begeißelte, promastigote und die unbegeißelte, amastigote Form. Promastigote Erregerformen entwickeln sich extrazellulär im Verdauungstrakt der Sandmücke, amastigote intrazellulär in Säugetiermakrophagen.

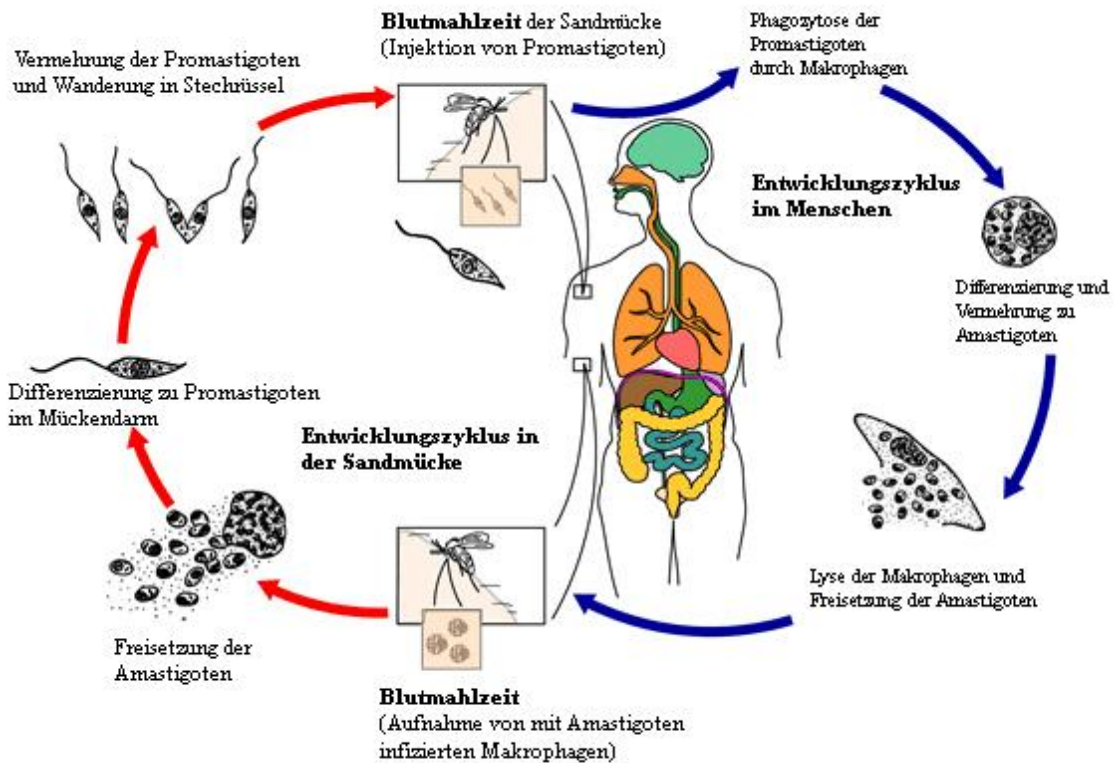


Abbildung 1-16 Entwicklungszyklus der Leishmanien (modifiziert nach⁵²)

Bei einem Stich einer infizierten Sandmücke können promastigote Parasitenformen auf den Menschen übertragen werden. Nach Injektion in die Haut werden die Promastigoten von Makrophagen aufgenommen, in denen sie sich zur amastigoten Form differenzieren und vermehren. Durch Lyse der Makrophagen werden die Amastigoten freigesetzt, die nun weitere Makrophagen befallen können. Bei einem erneuten Stich durch die Sandmücke können befallene Makrophagen von dieser aufgenommen werden. Im Mückendarm kommt es zur Freisetzung der Amastigoten, die sich zunächst in eine nicht infektiöse promastigote Form differenzieren, ehe sie sich nach einer weiteren Vermehrungsphase in hochinfektiöse, metazyklische Promastigoten umwandeln. Diese

gelangen schließlich aus dem Darm in den Stechrüssel der Sandmücke und stehen für eine erneute Übertragung auf einen Säugetierwirt bereit (siehe Abbildung 1-16).

Eine Leishmanieninfektion kann jahrelang asymptomatisch und damit unerkannt im Menschen persistieren. Durch Immunsuppression kann es plötzlich zu einem Ausbruch kommen, wobei die Leishmanieninfektion an sich schon zu einer Schwächung des Immunsystems führt. So treten gerade bei fortgeschrittener Leishmaniose häufig bakterielle Sekundärinfektionen auf, die zum Tod führen.

1.1.3.1 Erkrankungsformen

Abhängig von der Leishmanien-Art kommt es zur Ausprägung verschiedener klinischer Krankheitsbilder. Dabei gibt es drei Hauptformen: die kutane, mukokutane und viszerale Leishmaniose.

Bei der kutanen Form, auch Aleppo- oder Orientbeule genannt, ist lediglich die Haut an der Einstichstelle betroffen. Die Vermehrung der Parasiten findet nur in einem eng begrenzten Hautareal statt, so dass es hier nicht zu einer Streuung auf den gesamten menschlichen Organismus kommt. Es bildet sich an der Einstichstelle ein schmerzhaftes Geschwür, das nach der Ausheilung tiefe Narben hinterlässt.

Komplizierter stellt sich die diffuse kutane Leishmaniose dar. Bei ihr breiten sich die Parasiten und somit die Geschwüre über größere Körperbereiche aus. Kommt ein Befall der Schleimhäute des Nasen- und Rachenraumes hinzu, spricht man von einer mukokutanen Leishmaniose. Sie verursacht Hautläsionen und führt somit zur Zerstörung und damit Entstellung von Nase, Lippen und Gaumen.

Die schwerste Form ist die viszerale Leishmaniose, auch als „Kala Azar“ bekannt. Hier werden die inneren Organe befallen, wobei vor allem Leber, Milz, Lymphknoten und das Knochenmark betroffen sind. Durch ihren schleichenden, chronischen Verlauf wird sie oft nicht rechtzeitig erkannt. Es treten Darmulzera, innere Blutungen, Anämie und durch das geschwächte Immunsystem bakterielle Sekundärinfektionen auf. Unbehandelt führt die viszerale Leishmaniose innerhalb von 6 Monaten bis 2 Jahren zum Tod.

1.1.3.2 Therapiemöglichkeiten

Die Anzahl der für die Therapie der Leishmanieninfektion zur Verfügung stehenden Medikamente ist recht gering. Durch Resistenzen der Erreger werden zudem die wenigen Behandlungsmöglichkeiten weiter eingeschränkt.

Die Therapeutika der 1. Wahl sind fünfwertige, organische Antimonpräparate, wie N-Methylglucaminantimonat (Megluminantimonat) und Glucuronsäure-konjugiertes Antimon (Natrium-Stibogluconat) (siehe Abbildung 1-17). Sie müssen intravenös oder intramuskulär appliziert werden, was sich als sehr schmerzhaft erweist. In Folge der Toxizität dieser Antimonverbindungen können schwere Nebenwirkungen wie Anämien, Thrombozytopenie und Leukopenie sowie Herzrhythmusstörungen auftreten.

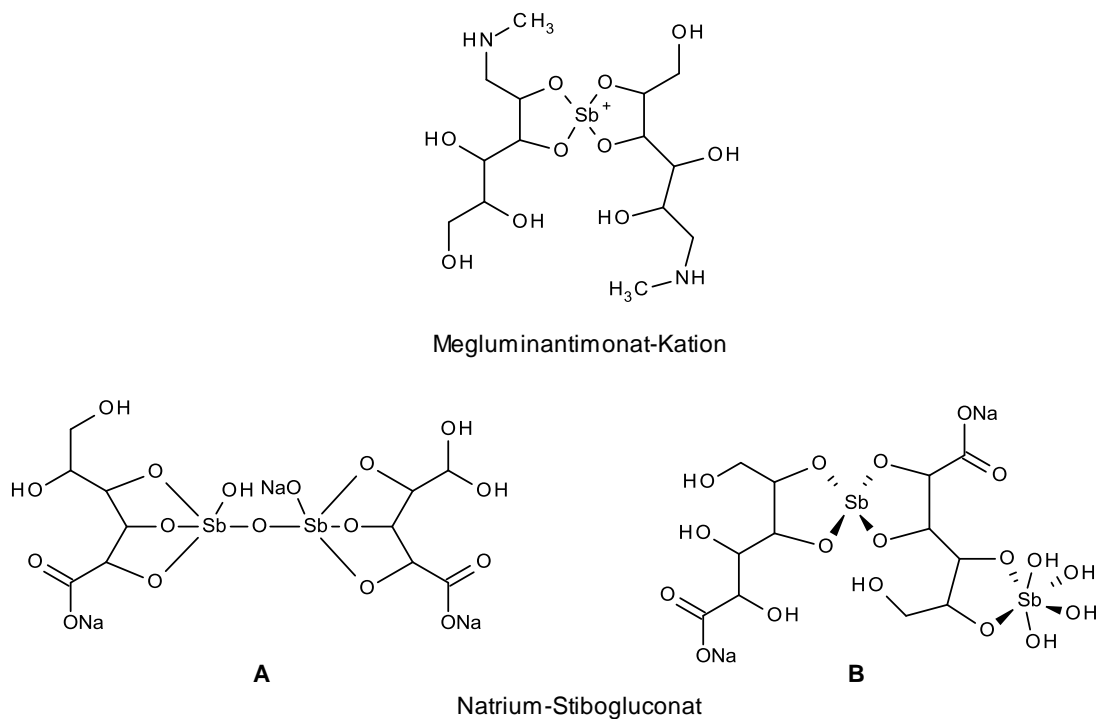


Abbildung 1-17 Antileishmanielle Antimonverbindungen (A: traditionelle Struktur für Natrium-Stibogluconat; B: nach neueren Untersuchungen angenommene Struktur des Natrium-Stibogluconat-2:2-Komplexes)⁵³

Die Sb(V)-Verbindungen sind Prodrugs, die in den Parasiten- oder Wirtszellen zur eigentlichen Wirkform Sb(III) reduziert werden. Das dreiwertige Antimon greift in den

Stoffwechsel der Thiolverbindung Trypanothion ein, indem es die Trypanothion-Reduktase und damit die Regeneration dieses Thiols hemmt.^{54,55} Trypanothion reguliert das Redoxgleichgewicht der Zellen und dient als Schutz vor reaktiven Sauerstoffspezies und somit zur Abwehr von oxidativen Stress.⁴⁶ Wenn die Thiolkonzentration in der Zelle durch die Hemmung der Trypanothion-Reduktase sinkt, führt dies zu einem Anstieg des Redoxpotentials und zu einer erhöhten Anfälligkeit für oxidativen Stress. Durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) wird die Parasitenzelle geschädigt und stirbt ab.

Wegen des Toxizitätsproblems der Antimonverbindungen müssen sie in niedrigen Dosierungen eingesetzt werden, was im Gegenzug Resistenzen fördert. Resistenzen beruhen auf dem Verlust der Fähigkeit Sb(V) zu Sb(III) zu reduzieren und auf einer verstärkten Ausschleusung von Sb(III) als Trypanothion-Glutathion-Komplex (siehe Abbildung 1-18).⁵⁶

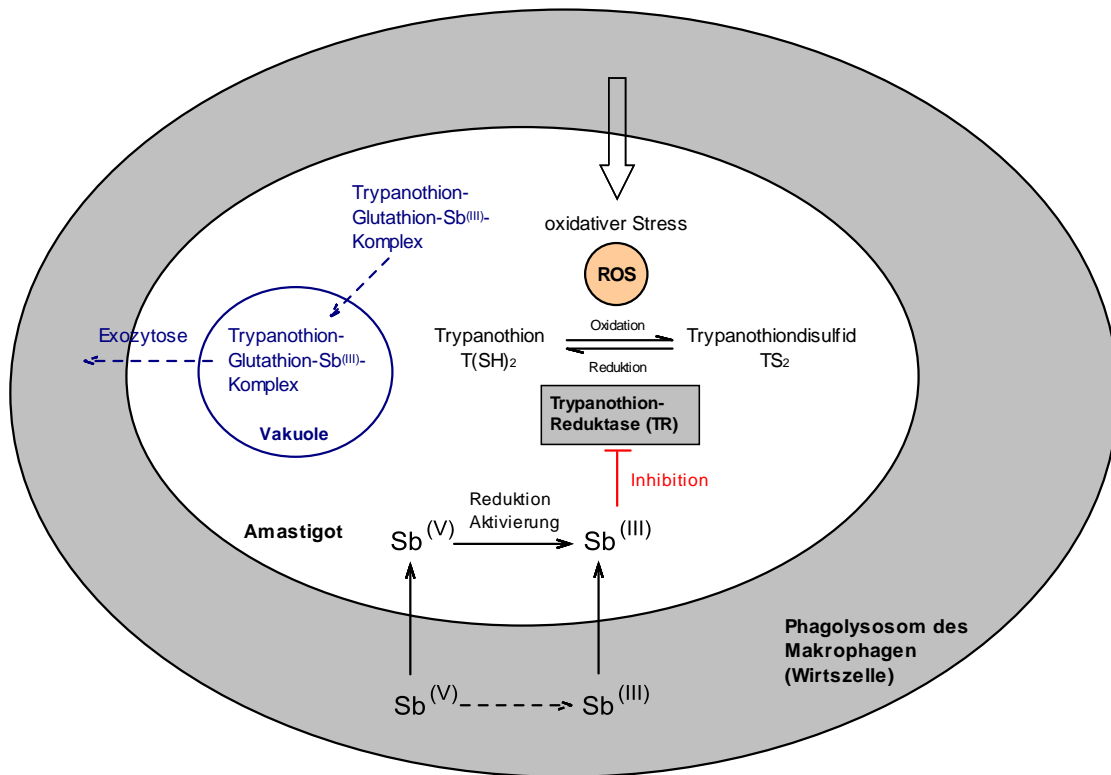


Abbildung 1-18 Wirkweise der Sb-Verbindungen und Resistenzmechanismus (blau dargestellt)^{54,56}

Als therapeutische Alternativen zu den Antimonverbindungen kommen Pentamidin und das Polyenantimykotikum Amphotericin B in Frage. Beide sind ausschließlich parenteral applizierbar.

Der Wirkmechanismus von Pentamidin, das auch gegen die Afrikanische Schlafkrankheit eingesetzt wird, ist noch nicht genau geklärt. Da es sich um einen nicht-kompetitiven Inhibitor des Spermidin- und des Putrescin-Transporters handelt, die in Promastigoten und Amastigoten von *L. mexicana* und *L. donovani* vorkommen, wird eine Hemmung der Polyaminbiosynthese diskutiert.⁵⁷ Aber auch eine Wirkung auf die Mitochondrien und damit eine Veränderung des mitochondrialen Membranpotentials kommen in Frage. In der letzten Zeit kommt es zu einer vermehrten Resistenzentwicklung gegen Pentamidin, die wahrscheinlich auf einer verminderten Aufnahme und einem erhöhten Efflux des Wirkstoffes beruht.⁵⁶

Amphotericin B bildet Komplexe mit Ergosterol, einem essenziellen Bestandteil der parasitären Zellmembran. Es bilden sich Poren in der Membran, durch die Kationen und andere wichtige Stoffe die Zelle verlassen können. Durch diese Änderung der Membranpermeabilität wird die Zelle irreversibel geschädigt. Während bei Pentamidin Resistenzbildungen das größte Problem darstellen, ist bei Amphotericin B die Nephrotoxizität nachteilig für die Anwendung. Jedoch kann diese Nebenwirkung durch den Einsatz spezieller lipidhaltiger Arzneistoffformulierungen gesenkt werden. Als Mittel der Wahl bei visceraler Leishmaniose wird zum Beispiel das liposomal formulierte Amphotericin B-Präparat AmBisome[®] eingesetzt.^{49,58} Auch der Einsatz von Amphotericin B-Nanopartikeln verringert die Nebenwirkungen bei verbesserter Wirksamkeit.⁵⁹

Der einzige oral verfügbare Arzneistoff ist das Alkylphosphocholin Miltefosin, mit guter Wirksamkeit bei visceraler Leishmaniose. Aufgrund seiner teratogenen Eigenschaften darf Miltefosin bei Schwangeren nicht angewendet werden. Der tatsächliche Wirkmechanismus ist auch hier noch nicht vollständig geklärt. Man diskutiert u.a. eine Hemmung der Cytochrom-c-Oxidase. Resistenzen gegen Miltefosin beruhen auf einer verminderten Aufnahme des Wirkstoffes durch den Erreger.⁵⁶

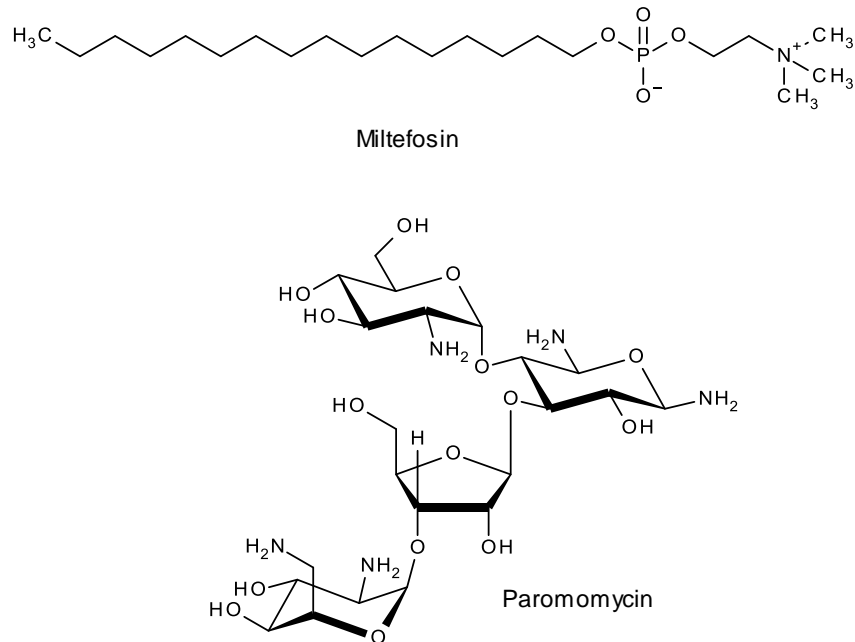


Abbildung 1-19 Die Leishmanientherapeutika Miltefosin und Paromomycin

Das Aminoglykosid-Antibiotikum Paromomycin zeigte bei topischer Anwendung eine Wirksamkeit gegen kutane Leishmaniosen sowie bei parenteraler Applikation gegen die viszerale Form. Seit 2006 ist es in Indien zur Therapie der viszeralen Leishmaniose zugelassen. Ob nun eine Interaktion mit parasitären Ribosomen oder eine Beeinflussung des mitochondrialen Membranpotentials zum Wirkmechanismus beiträgt, wurde noch nicht endgültig bewiesen.⁶⁰ Resistenzen gegen Aminoglykosid-Antibiotika entstehen in Bakterien durch eine verminderte Aufnahme des Wirkstoffes, eine Veränderung der ribosomalen Bindungsstelle sowie durch eine enzymatische Inaktivierung des Wirkstoffmoleküls. Diese enzymatische Inaktivierung geschieht durch Modifikationen der Amino- und Hydroxylgruppen wie der Acetylierung von Aminogruppen sowie der Phosphorylierung und Adenylierung von Hydroxylgruppen. Ob dies in Leishmanien genauso abläuft, ist fraglich.⁵⁶

Sitamaquin ist momentan der einzige potenzielle neue Arzneistoff gegen viszerale Leishmaniose. Das 8-Aminochinolon, das oral applizierbar ist und strukturell mit dem Antimalariamittel Primaquin verwandt ist, befindet sich zurzeit in einer Phase-IIb-Studie.⁴²

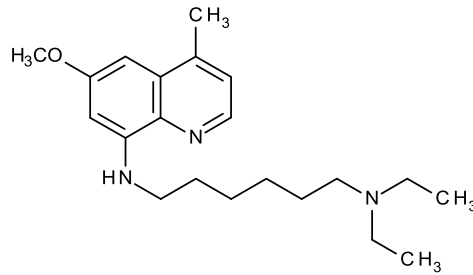


Abbildung 1-20 Sitamaquin

Resistenzen gegen die hier dargestellten Therapiemöglichkeiten machen es notwendig, alternative Behandlungsoptionen zu entwickeln. Ein Ansatz ist auch hier der parasitäre Polyaminstoffwechsel inklusive der Polyamintransporter.

1.2 Die Suche nach neuen Zielstrukturen

Aufgrund der Entstehung vermehrter Resistenzen gegen die klassischen Therapiemöglichkeiten der Malaria- sowie Trypanosomen- und Leishmanieninfektionen und den Nebenwirkungen, die diese zum Teil beinhalten, ist es ein wichtiges Anliegen, nach neuen therapeutischen Ansatzpunkten zu suchen.

Ein Weg dabei ist das „Molekulare Targeting“. Dies beinhaltet die Isolierung und gezielte Hemmung von bestimmten Enzymen und Genen, die für die Vermehrung und das Wachstum der Parasiten essenziell sind. Die Stoffwechselwege, deren Inhibition hierbei in Frage kommt, können entweder exklusiv im Parasiten oder sowohl in Säugetier- als auch in parasitären Zellen vorkommen. In letzteren Fall ist es wichtig, dass sich die Enzyme bzw. Gene der Parasitenzellen von denen im Säugetier bzw. Menschen so voneinander unterscheiden, dass ihre Hemmung keine Schädigung der menschlichen Zellen zur Folge hat und man ein sogenanntes therapeutisches Fenster schafft, in dem ausschließlich der Parasit geschädigt wird.

Ein potenzieller Angriffspunkt ist der Polyaminstoffwechsel, der in allen Organismen zu finden ist. Die Hemmung seiner regulatorisch wichtigen Enzyme stellt einen vielversprechenden therapeutischen Ansatz bei parasitären Erkrankungen dar.³¹

1.2.2 Der Polyamin-Biosynthese-Weg

1.2.2.1 Allgemeines

Polyamine sind essenzielle organische Kationen, die in allen prokaryotischen und eukaryotischen Lebewesen vorkommen, auch in parasitären Einzellern. Das Diamin Putrescin (1,4-Butandiamin), das Triamin Spermidin (N-[3-Aminopropyl]-1,4-butandiamin) und das Polyamin Spermin (N¹,N⁴-bis(3-aminopropyl)-1,4-butandiamin) sind von besonderer Bedeutung (Strukturen siehe Abbildung 1-21). Sie besitzen wichtige Zellfunktionen wie die Steuerung der Biosynthese von Makromolekülen und sind an Zellproliferations- und Zelldifferenzierungsvorgängen beteiligt. Aufgrund dieser Funktionen ist ihr Biosyntheseweg ein potenzielles Target für die Entwicklung von neuen Arzneimitteln gegen Infektionskrankheiten und hyperproliferative Erkrankungen.⁶¹

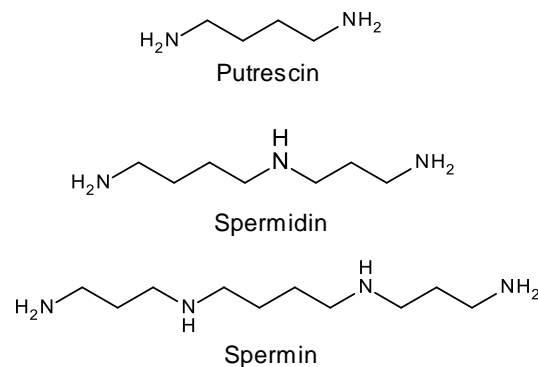


Abbildung 1-21 Struktur der Polyamine Putrescin, Spermidin sowie Spermin

Unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4) liegen die Polyamine zum größten Teil protoniert vor. Dieser polykationische Charakter befähigt sie zur Interaktion mit Proteinen, Membranstrukturen und Nukleinsäuren in DNA und RNA. Sie sind in der Lage, die Doppelhelixstruktur der DNA und RNA zu stabilisieren. Im Zellkern liegen Spermidin und Spermin in höheren Konzentrationen vor als im Zytoplasma, was auf eine Wechselwirkung mit Nukleinsäuren der DNA hinweist.⁶²

In Stadien vermehrten Zellwachstums und erhöhter Zelldifferenzierung lassen sich hohe intrazelluläre Polyaminkonzentrationen beobachten, während der Polyaminlevel in ausdifferenzierten Zellen eher niedrig ist. Niedrige Konzentrationen von Putrescin, Spermidin und Spermin gehen einher mit einer verminderten DNA-, RNA- und Proteinbiosynthese. Diese allgemeinen Betrachtungen lassen sich auch auf parasitäre Zellen von Plasmodien, Trypanosomen und Leishmanien übertragen.⁶³

Bei Plasmodien steigt gerade während der Reifung der parasitären Frühformen in Erythrozyten (Ringformen) die Konzentration der 3 Polyamine in den Zellen um das ca. 20-fache an und erreicht ihren Höhepunkt im fortgeschrittenen Trophozoitenstadium.⁷⁰ Dies ist verbunden mit einer erhöhten Transkription der wichtigen Enzyme der Polyaminbiosynthese sowie einer vermehrten Proteinbiosynthese und DNA-Replikation.⁵⁰ Es lässt sich ebenso erkennen, dass die Polyaminkonzentration in infizierten Erythrozyten gegenüber nicht-infizierten stark erhöht ist. Gerade in den Stadien, die durch eine erhöhte Proliferationsrate gekennzeichnet sind, wird eine große Menge an Polyaminen benötigt.^{63,64}

Spermidin ist während der Wachstums- und Teilungsvorgänge das Polyamin mit der höchsten Konzentration; der zelluläre Spermidin Gehalt korreliert mit der spezifischen Wachstumsrate der Zellen. Es wurde gezeigt, dass Spermidin für die Zellproliferation und das Zellwachstum von Plasmodien, Trypanosomen und Leishmanien notwendig ist.⁶²

Mit Inhibitoren der Polyaminbiosynthese erreichte man in vielfältigen Untersuchungen eine Abnahme der intrazellulären Polyaminkonzentration und eine damit verbundene Hemmung der Zellproliferation.

1.2.2.2 Die Schlüsselenzyme als neue Zielstrukturen

Ein Eingriff in die parasitäre Biosynthese der Polyamine durch die Hemmung ihrer regulatorisch wichtigen Enzyme wie der Ornithin-Decarboxylase (ODC), S-Adenosylmethionin-Decarboxylase sowie der Spermidin-Synthase (SPDS) [siehe Abbildung 1-22] hemmt das Zellwachstum sowie die Vermehrung der Protozoen und ist somit ein neuer, vielversprechender Ansatzpunkt für die Entwicklung neuer antiparasitärer Therapien.^{63,65}

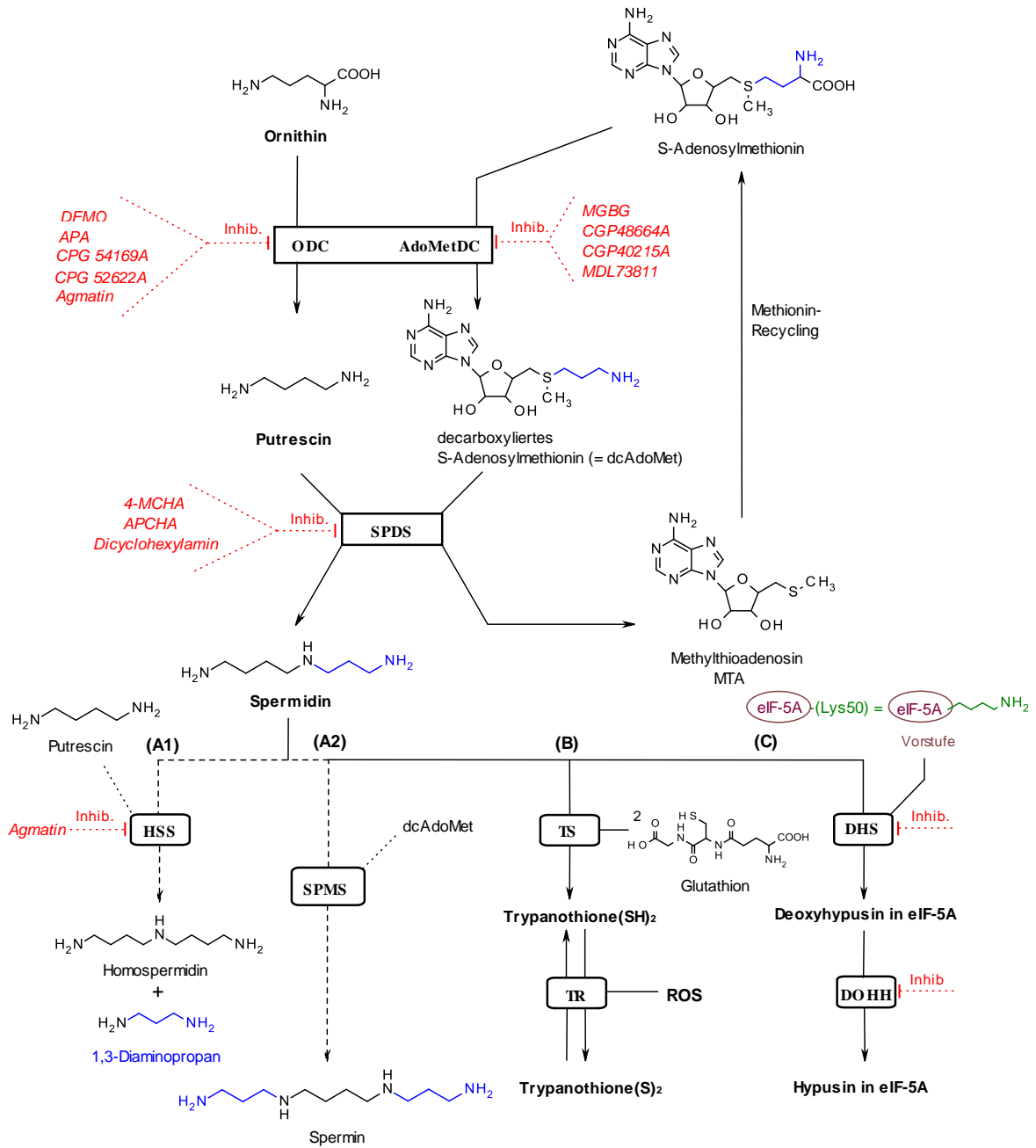


Abbildung 1-22 Die Polyaminbiosynthese in Plasmodien, Trypanosomen und Leishmanien mit Schlüsselenzymen und ihren Inhibitoren⁶⁶

Abkürzungen:

ADC = Arginin-Decarboxylase; ODC = Ornithin-Decarboxylase; AdoMetDC = S-Adenosylmethionin-Decarboxylase; SPDS = Spermidin-Synthase; HSS = Homospermidin-Synthase; SPMS = Spermin-Synthase; TS = Trypanothion-Synthase; TR = Trypanothion-Reduktase; DHS = Deoxyhypusin-Synthase; DOHH = Deoxyhypusin-Hydroxylase; ROS = reaktive Sauerstoffspezies; Lys = Lysin; eIF-5A = eukaryotischer Translationsinitiationsfaktor 5A; Inhib. = Inhibition

Durch die Unterschiede des menschlichen im Vergleich zum parasitären Polyaminstoffwechsel ist es möglich, gezielt in die parasitäre Biosynthese einzugreifen, ohne die Funktion der menschlichen Zellen zu schädigen. In Säugetierzellen ist die Konzentration der Polyamine über komplizierte Regulationsmechanismen gesteuert, die in Parasiten zu fehlen scheinen. Durch Feedbackmechanismen sowie vielfältige Synthesewege kann auf geringste extra- und intrazelluläre Konzentrationsänderungen von Putrescin, Spermidin und Spermin reagiert werden. Eine durch Inhibitoren hervorgerufene intrazelluläre Abnahme der Polyaminkonzentration wird bei Säugetierzellen durch die Aufnahme externer Polyamine ausgeglichen.⁶³ Auch ist hier eine Interkonversion (Rückwandlung) der Polyamine möglich.⁶⁷

Der Polyaminstoffwechsel der Protozoen ist im Vergleich zu dem der Säugetiere weit weniger komplex. Eine Aufnahme von exogenen Polyaminen spielt in Parasiten nur eine untergeordnete Rolle, so dass fehlende Mengen an Polyaminen nicht in ausreichenden Mengen von außen aufgenommen werden können. Darüber hinaus unterschieden sich die bislang aus Parasiten isolierten, die Polyaminbiosynthese betreffenden Gene signifikant von den menschlichen. Dadurch ist die Aminosäuresequenz-Homologie der parasitären Enzyme im Vergleich zu denen im Menschen vergleichsweise gering. Hinzu kommt, dass die Enzymproteine in Säugetierzellen von geringer Stabilität sind. Ihre Halbwertszeiten sind im Vergleich zu den stabileren parasitären Proteinen ziemlich kurz, so dass ihre Hemmung durch die viel höhere Neubildungsrate schnell wieder aufgehoben wird. Eine Hemmung der entsprechenden parasitären Enzyme hingegen hat irreversible Schädigungen zur Folge. Zum Beispiel sind die Halbwertszeiten der menschlichen Ornithin-Decarboxylase und der S-Adenosylmethionin-Decarboxylase viel kürzer (15 bzw. 35 Minuten) als die der vergleichbaren, stabileren Enzyme von *Plasmodium falciparum* und *Trypanosoma brucei* (über 2h).^{63,68,69}

Des Weiteren zeigt die Primärstruktur der trypanosomalen S-Adenosylmethionin-Decarboxylase deutliche Unterschiede zum menschlichen Enzym auf.⁶³ Eine Hemmung der Spermidin-Synthase in Säugetierzellen hat keine Auswirkung auf die Zellproliferation (bei Behandlung mit ODC-Inhibitoren blieben die Spermin-Level fast unverändert), während in *P. falciparum* das Zellwachstum *in vitro* gehemmt wird.⁷⁰ Diese Unter-

suchungen unterstreichen, dass man gezielt die parasitären Enzyme hemmen kann, ohne den Wirt zu schädigen.

Ausgangspunkt der Polyaminbiosynthese ist die Aminosäure Ornithin, die über die Ornithin-Decarboxylase (ODC) zum Diamin Putrescin umgesetzt wird. Bei Trypanosomen geht die Polyamin-Synthese teilweise von Arginin aus, das über die Arginin-Decarboxylase (ADC) zum Ornithin umgesetzt wird.⁶⁶

Durch die Übertragung eines Aminopropyl-Restes unter Katalyse der Spermidinsynthase (SPDS) wird Putrescin schließlich zum Triamin Spermidin verlängert. Die Aminopropylgruppe stammt vom decarboxylierten S-Adenosylmethionin, das als Donor des Aminopropyl-Restes dient. Vom Adenosylmethionin wurde vorher über die S-Adenosylmethionin-Decarboxylase (AdoMetDC) Kohlendioxid abgespalten.

Die ODC und die AdoMetDC bilden ein duales (bifunktionales) Enzymsystem. Die aktiven Zentren beider Enzyme sind auf einem Polypeptid lokalisiert, sie agieren aber unabhängig voneinander.^{68,71} Dies kommt so nur in Plasmodien vor. In Trypanosomen und Leishmanien sowie in Säugetierzellen agieren die ODC und AdoMetDC als separate, eigenständige Enzymproteine.

Das S-Adenosylmethionin wird aus dem durch die SPDS-Katalyse entstandenen 5-Methylthioadenosin über einen Methionin-Recycling-Weg regeneriert.

Die Existenz einer Spermidinsynthase (SPMS) in Parasiten wurde belegt, aber es gibt keinen Beweis für das Vorliegen einer Sperminsynthase. Die Sperminsynthase katalysiert in Säugetierzellen die Reaktion zu Spermin, indem eine weitere Aminopropylgruppe auf Spermidin übertragen wird (siehe Abbildung 1-22, Weg **A2**). Spermin wurde in Plasmodien-Zellen nachgewiesen, aber das Vorkommen einer Sperminsynthase ist fraglich. Die Spermidinsynthase kann in Plasmodien die Reaktion zu Spermin katalysieren und damit die Aufgabe einer möglichen SPMS übernehmen.⁶⁴

Eine mögliche Homospermidinsynthase (HSS) überträgt ein Molekül Putrescin auf Spermidin, wobei Homospermidin entsteht (siehe Abbildung 1-22, Weg **A1**). Das Vorhandensein einer Homospermidinsynthase wurde in Bakterien und Pflanzen belegt. In Parasiten gibt es noch keine Beweise für das Vorliegen einer HSS, wobei Homospermidin an sich in *P. falciparum* nachgewiesen wurde. Durch den Einsatz des in

Pflanzen moderat potenten HSS-Inhibitors Agmatin konnte die Parasitämie von *P. falciparum in vitro* reduziert werden. Dies lässt das Vorkommen einer Homospermidin-Synthase in Plasmodien vermuten. In *Leishmania major* wurden Gene gefunden, die für ein Homospermidin-Synthase-Protein kodieren.^{62,66}

Eine Besonderheit bei Trypanosomen und Leishmanien ist die direkte Verbindung des Polyaminstoffwechsels mit dem Thiol-Metabolismus. Spermidin fungiert hierbei als Vorstufe für die Biosynthese des sogenannten Trypanothions (N¹,N⁸-Bis-(glutathionyl)spermidin). Im Zuge dieser Biosynthese wird durch Katalyse der Glutathionyl-Spermidin-Synthase (GSpdS) zunächst ein Glutathion-Molekül auf Spermidin übertragen. An das dadurch entstandene Mono-Glutathionylspermidin erfolgt die Konjugation eines zweiten Glutathion-Moleküls durch die Trypanothion-Synthase (TS) unter Bildung des Trypanothions (siehe Abbildung 1-22, Weg **B**).⁷² Dieses Molekül liefert Reduktionsäquivalente für die (Deoxy-)Ribonucleotid-Synthese sowie für die Entgiftung von Hydroperoxiden (reaktive Sauerstoffspezies: ROS) durch verschiedene Peroxidasen. Es wird also für zelluläre Redoxvorgänge sowie für die Nucleotidsynthese benötigt und ist somit für die Proliferation des Trypanosomatids essenziell.⁷³ Durch die Trypanothion-Reduktase (TR) wird Trypanothion im reduzierten (Dithiol-)Zustand gehalten. Sie regeneriert das durch die zahlreichen Redoxvorgänge oxidierte Trypanothion, indem es das entstandene Trypanothion-Disulfid wieder reduziert (siehe Abbildung 1-14).

Das Trypanothion mit seiner Trypanothion-Reduktase übernimmt in Trypanosomen die Funktion des in humanen Zellen vorkommenden Glutathion/Glutathion-Reduktase-Systems. Das Trypanothion/TR-System schützt den Parasiten vor oxidativen Stress, erhält das Redoxgleichgewicht in der Zelle und stellt die Reduktionsäquivalente für die DNA/RNA-Synthese bereit.^{46,74}

Da dieser Biosyntheseweg in Säugetierzellen nicht vorkommt, sind die parasiten-spezifischen Enzyme des Trypanothion-Metabolismus wie die Trypanothion-Synthase und -Reduktase ebenso attraktive Targets.^{46,50,75}

Spermidin erfüllt eine weitere wichtige Funktion: durch die Bildung der seltenen Aminosäure Hypusin stellt die Verbindung eine Schnittstelle zwischen der Polyaminbiosynthese und der Proteinbiosynthese dar. Die Hypusinbildung, katalysiert durch die Deoxyhypusinsynthase (DHS) sowie Deoxyhypusinhydroxylase (DOOH), ist ein

wesentlicher Schritt in der Aktivierung des Wachstumsfaktors eIF-5A (eukaryotische Initiationsfaktor-5A) (siehe Abbildung 1-22, Weg C sowie Abbildung 1-26 unter 1.2.2.3). Dieser spielt wie die Polyamine selbst eine wichtige Rolle bei Zellproliferations- und Zellteilungsvorgängen.

Aus *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* sowie verschiedenen Trypanosomen-Arten und *Leishmania infantum* wurden Gene isoliert, die für DHS und eIF-5A codieren.^{62,66,76}

Da die am Polyamin-Stoffwechsel beteiligten Enzyme für das Parasitenwachstum essenziell sind, wurden verschiedene Inhibitoren entwickelt. Die wichtigsten sollen im Folgenden kurz besprochen werden.

Der irreversible ODC-Inhibitor DFMO (Eflornithin, α -Difluoromethylornithin; Struktur siehe Abbildung 1-13) ist einer von nur 2 Arzneimitteln gegen Trypanosomeninfektion im Früh- u Spätstadium. Er führt zu einer verminderten Spermidin und damit Trypanothion-Biosynthese. Der zeitliche metabolische Unterschied zwischen der ODC im Parasiten und in Säugetierzellen ermöglicht eine selektive Hemmung des parasitären Enzyms. DFMO ist nicht gegen Leishmanien und Plasmodien wirksam und gegen erythrozytäre Stadien von Plasmodien zeigte es *in vivo* nur eine geringe Wirkung.⁶⁴

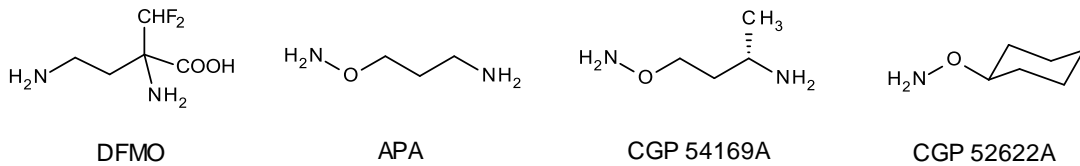


Abbildung 1-23 ODC-Inhibitoren

Neuere Inhibitoren wie das Putrescin-Analogon 3-Aminoxy-1-aminopropan (APA, engl.: *3-Aminoxy-1-propane-amine*) sowie seine Derivate CGP 54169A (4-Aminoxy-2-aminobutan) und CGP 52622A (Aminooxycyclohexan) erwiesen sich in *in vitro* *P. falciparum*-Kulturen viel wirksamer als der klassische Inhibitor DFMO. Sie zeigten einen antiproliferativen Effekt auf erythrozytäre Stadien von *P. falciparum*-Kulturen durch Abnahme der intrazellulären Polyaminkonzentration.⁶⁴

Neue, vielversprechende Inhibitoren der trypanosomalen ODC wurden kürzlich in einem Substanzscreening entdeckt.⁷⁷

Die AdoMetDC stellt ebenso ein vielversprechendes Target für die Entwicklung neuer Wirkstoffe gegen Protozoeninfektionen dar, insbesondere gegen die Schlafkrankheit.⁶⁹

Klassische Inhibitoren der AdoMetDC sind MDL 73811 (5′(Z)-[4-Amino-2-butenyl]-methylamino-5′deoxyadenosin) und die Bis-(guanylhydrazon)derivate Methylglyoxal-bis(guanyl)hydrazon (MGBG), CGP 40215A und CGP 48664A (SAM 486A, 4-Aminoindan-1-one-2′-amidinohydrazon).

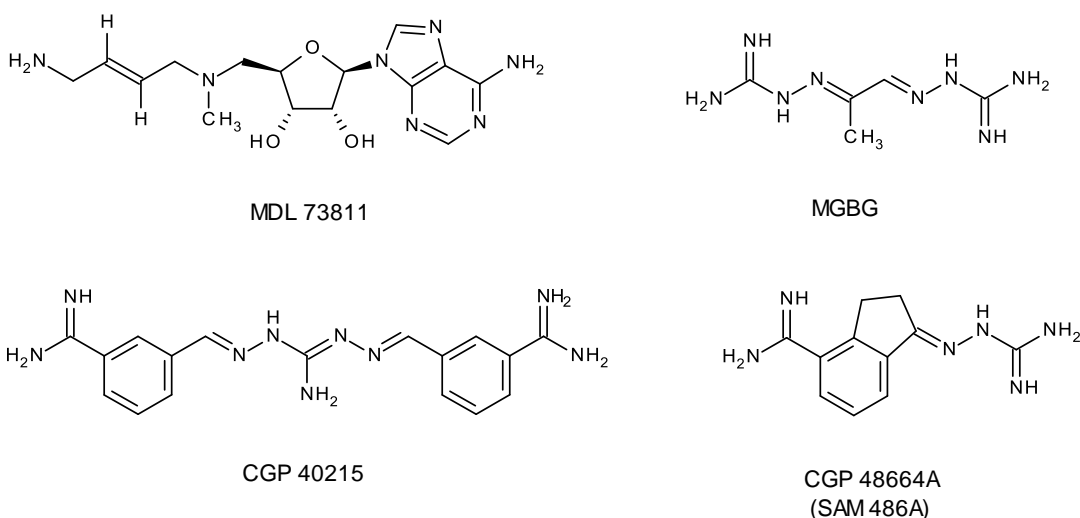


Abbildung 1-24 Inhibitoren der AdoMetDC (S-Adenosylmethionin-Decarboxylase)

MDL 73811, ein irreversibler Inhibitor der AdoMetDC, bildet mit einem Pyruvat-Rest im aktiven Zentrum des Enzyms eine Schiff'sche Base.⁷⁸ Die Substanz hemmt das Wachstum von *P. falciparum in vitro*, ist aber in *P. berghei*-infizierten Mäusen nicht wirksam.⁶⁴ Darüber hinaus besitzt sie einen antitrypanosomalen Effekt.⁶⁹ MDL 73811 reduzierte die Parasitenlast in mit *T. brucei brucei* und *T. brucei rhodesiense* infizierten Mäusen um 100% und führte damit zu einer kompletten Heilung. Neue MDL 73811-Analoga sind vielversprechende Substanzen gegen Trypanosomen-Infektionen.⁷⁹

MGBG ist ein potenter Inhibitor der menschlichen AdoMetDC, aber nur ein schwacher des Enzyms von *T. brucei*. CGP 40215A, das bicyclische Analogon von MGBG besitzt antiplasmodiale, antitrypanosomale und antileishmanielle Aktivität *in vitro*. Es ist

wirksam gegen Trypanosomeninfektion in der Maus sowie gegen *P. berghei* im Mausmodell und ist damit eine vielversprechende Substanz gegen Protozoeninfektionen.⁶³

CGP 48664A ist ein potenter Inhibitor des Zellwachstums in Säugetierzellen, aber weniger aktiv gegen *P. falciparum*.⁶⁴

Die SPDS-Hemmstoffe leiten sich vom Cyclohexylamin ab. Cyclohexylamin selbst zeigte eine Hemmung von *P. falciparum* sowie *T. evansi* *in vitro*.⁸⁰

Dicyclohexylamin, ein kompetitiver Inhibitor der SPDS in Säugetierzellen, hemmte das Wachstum von *T. brucei brucei* und *T. evansi in vitro*, jedoch nicht in *In-vivo*-Tests. Außerdem inhibierte Dicyclohexylamin das Wachstum von *P. falciparum in vitro* sowie in infizierten Erythrozyten, da es die intrazelluläre Spermidinkonzentration senkte.^{50,62,80}

Weitere Spermidin-Inhibitoren sind *trans*-4-Methylcyclohexylamin (4-MCHA) und N-(3-Aminopropyl)cyclohexylamin (APCHA). 4-MCHA, der effektivste SPDS-Hemmstoff, inhibierte das Enzym aus *P. falciparum* mit einem IC₅₀-Wert von 1.4 µM.⁷⁰

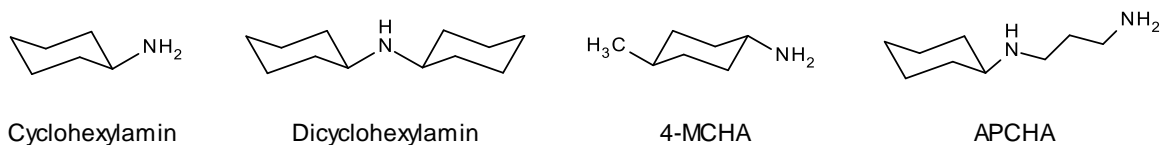


Abbildung 1-25 Spermidin-Synthase Inhibitoren

1.2.2.3 Die Hypusin-Biosynthese und ihre biologische Bedeutung

Die seltene Aminosäure Hypusin wird im Spermidinmetabolismus gebildet. Sie ist ein Bestandteil des zellulären Proteins und Wachstumsfaktors eIF-5A (eukaryotischer Initiationsfaktor-5A). Die Hypusin-Biosynthese erfolgt in 2 Schritten (siehe Abbildung 1-26). Katalysiert durch die Deoxyhypusinsynthase (DHS) wird im ersten Schritt NAD-abhängig der Aminobutyl-Rest vom Spermidin auf die ε-Aminogruppe eines spezifischen Lysin-Restes im eIF-5A-Vorläuferprotein übertragen. Dabei wird 1,3-Diaminopropan freigesetzt und es entsteht die Zwischenstufe Deoxyhypusin in eIF-5A.⁸¹ In einem zweiten Schritt erfolgt die Hydroxylierung des Deoxyhypusin-Restes zum Hypusin in

eIF-5A. Dies geschieht unter Katalyse der Deoxyhypusin-Hydroxylase (DOHH) und hat die Aktivierung des Wachstumsfaktors eIF-5A zur Folge.⁸²

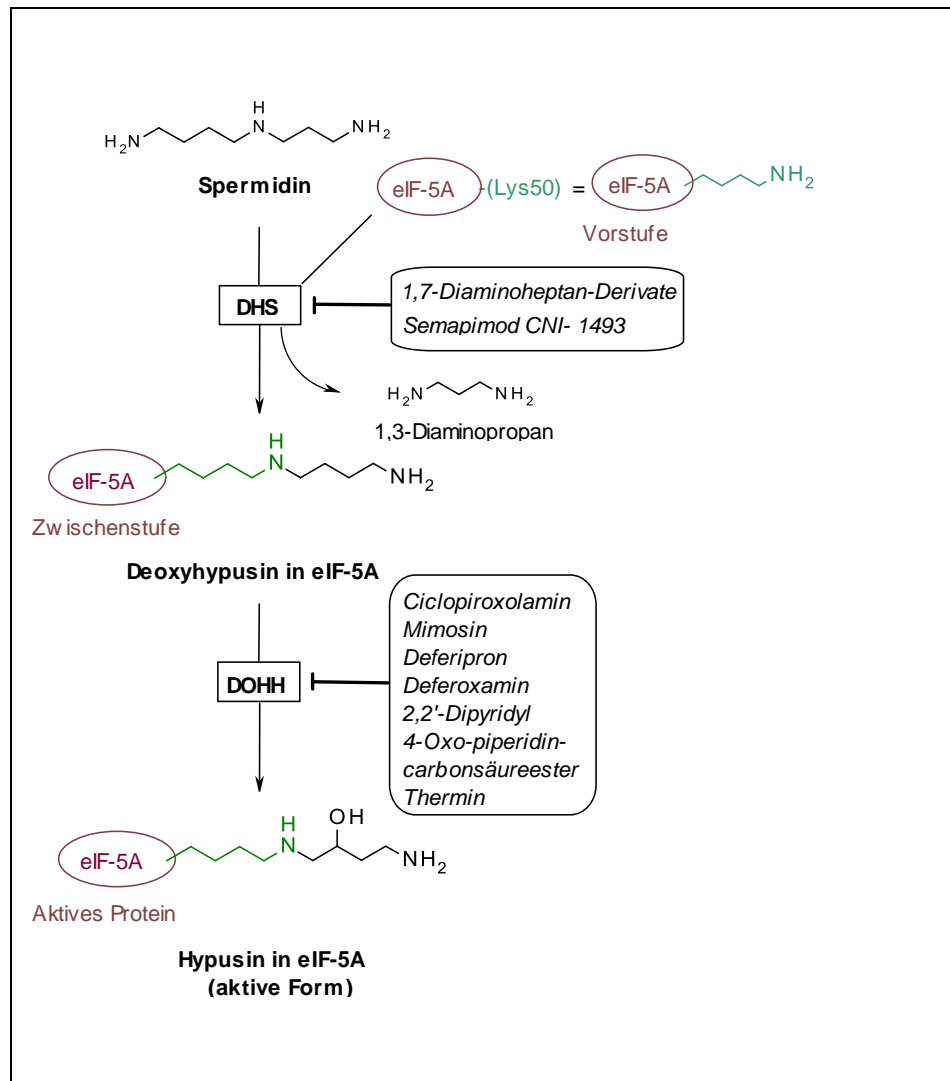


Abbildung 1-26 Aktivierung von eIF-5A und potenzielle Hemmstoffe der beteiligten Schlüsselenzyme⁵⁰

Lys = Lysin; eIF-5A = eukaryotischer Translationsinitiationsfaktor 5A; DHS = Deoxyhypusinsynthase; DOHH = Deoxyhypusinhydroxylase

Die Hypusinylierung des Lysin-Restes in der eIF-5A-Vorstufe ist eines der spezifischsten posttranslationalen Proteinmodifikationen in Eukaryoten.⁸³ Der durch diese Hypusinylierung modulierte und letztendlich aktivierte eukaryotische Initiationsfaktor-5A ist das einzige zelluläre Protein, das die Aminosäure Hypusin enthält. Das Protein kommt ubiquitär in Eukaryoten vor und ist für die Proliferation der Zellen essenziell. Es reguliert das Zellwachstum und die Zelldifferenzierung durch polyaminabhängige post-

translationale Modifikationen. Die genaue Funktion ist zwar noch unklar, aber Untersuchungen zeigten, dass es während des G1-/S-Zellzyklus-Übergangs als ein nucleocytoplasmatisches Shuttle-Protein zur Ausschleusung bestimmter RNAs aus dem Zellkern fungiert. eIF-5A ist weiterhin an der Expression von Genen beteiligt, die der Regulation des Zellzyklus dienen. Er wird für die posttranskriptionelle Modifizierung spezifischer mRNAs benötigt, die bestimmte Faktoren codieren, welche für die Zellvariabilität und -proliferation notwendig sind.⁸⁴

Neuere Erkenntnisse durch Untersuchungen an Hefen ergaben, dass der aktive eIF-5A mit dem 80S-Ribosomen und dem Elongationsfaktor 2 (eEF2) interagiert. Es wird ihm somit eine Rolle bei der Elongation, der letzten Transkriptionsphase, bei der die DNA in mRNAs kopiert wird, zugesprochen.⁸⁵

Aufgrund dieser wichtigen Funktionen ist der Wachstumsfaktor eIF-5A ein interessanter Ansatzpunkt sowohl zur Therapie parasitärer Infektionskrankheiten, als auch von der Immunschwächekrankheit HIV und von Krebserkrankungen. Eine direkte, spezifische Hemmung von eIF-5A ist bis dato noch nicht gelungen, jedoch kann man die Aktivierung des Proteins durch die Hemmung von DHS bzw. DOHH verhindern.

Inhibitoren der DHS und DOHH rufen eine Hemmung des Zellwachstums in verschiedenen Säugetierzellen hervor.^{86,87} Effektive Inhibitoren der DHS leiten sich vom Substrat Spermidin ab und interagieren aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zum Substrat mit dem aktiven Zentrum des Enzyms (kompetitive Inhibitoren).⁸⁸

Gesättigte und ungesättigte Diaminoalkane (1,7-Diaminoheptan, 1,8-Diaminooctan, 1,7-Diamino-*trans*-hept-3-en) und entsprechende Guanylderivate zeigten eine gute Inhibition der menschlichen DHS.⁸⁹ Der kompetitive DHS-Inhibitor GC₇ (N¹-Guanyl-1,7-diaminoheptan) führte fast zu einer kompletten Hemmung der Hypusinsynthese in venösen Nabelschnurendothelzellen (HUVECs = human umbilical vein endothelial cells).⁹⁰

Gesättigte und ungesättigte 1,7-Diaminoheptan-Derivate zeigten eine Hemmung von *P. falciparum*- und *P. vivax*-Kulturen sowie von *T. brucei rhodesiense* und *T. evansi* *in vitro*.^{50,62,80,91} Die ungesättigten 1,7-Diaminoheptane sowie das Guanylderivat 7-Amino-1-guanidinoctan waren dabei die effektivsten Inhibitoren in Parasiten.⁶⁶

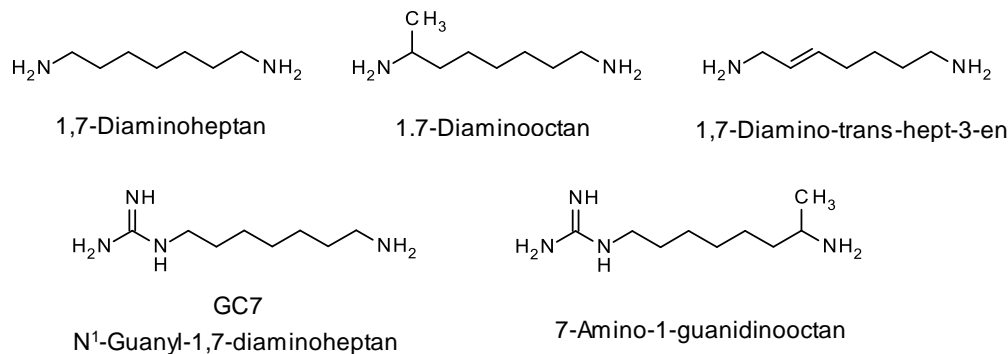


Abbildung 1-27 DHS-Inhibitoren

Die Inhibition der Hypusinbiosynthese ist nicht nur ein neuer Ansatzpunkt für die anti-parasitäre Therapie, sondern auch eine geeignete Strategie für die Behandlung der retroviralen Erkrankungen HIV-1 und HTLV. Vor allem bei der Therapie der HIV-Erkrankung treten immer wieder Resistenzen gegen die klassischen Medikationen, wie z.B. gegen die Reverse-Transkriptase- und Protease-Inhibitoren auf. Auch sind „Multi-Drug“-Resistenzen häufiger zu beobachten, so dass auch auf diesem Gebiet die Suche nach neuen Ansatzpunkten eine wichtige Rolle spielt. Gerade die Blockade der eIF-5A-Aktivierung durch gezielte Hemmung der AdoMetDC, DHS und DOHH scheint hier interessant.⁹³ Der eukaryotische Initiationsfaktor 5A (eIF-5A) ist ein essenzieller Cofaktor des HIV-Regulationsproteins Rev (mRNA-Transport-Faktor) sowie des HTLV-Proteins Rex.⁹² Diese Proteine sind wichtig für die Replikation der Retroviren und daher kann eine Hemmung der Schlüsselenzyme des Polyaminstoffwechsels und eine damit verbundene Blockade der Aktivierung von eIF-5A die Vermehrung der HI- bzw. HTLV-Viren verhindern. Der DHS-Inhibitor Semapimod (CNI-1493, siehe Abbildung 1-28) zum Beispiel hemmt antiinflammatorische Cytokine wie den TNF- α durch eine MAP-Kinase-Inhibition und scheint für eine antiretrovirale Therapie interessant zu sein. Das Guanylhydrazon befindet sich gerade in der Zulassung gegen Morbus Crohn. Aber auch die α -Hydroxypyridone L-Mimosin und Deferipron mit ihrer Hemmwirkung auf die DOHH (siehe Abbildung 1-29 unter 1.2.2.4) stellen einen interessanten Ansatzpunkt für die antiretrovirale Therapie dar.^{93,94}

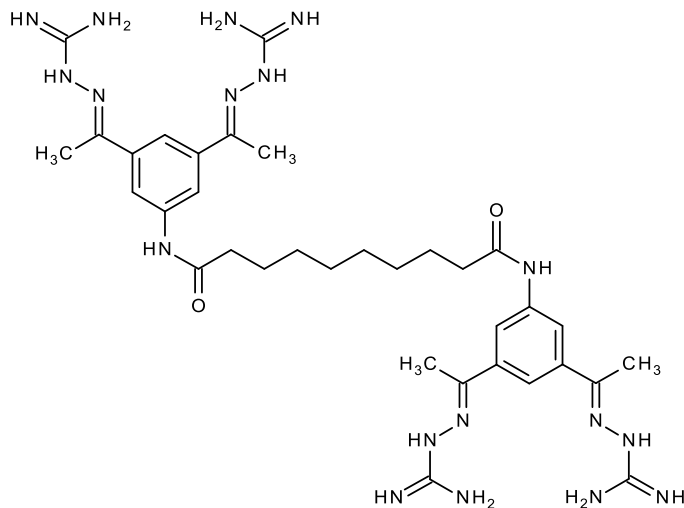


Abbildung 1-28 Der für die antiretrovirale Therapie interessante DHS-Inhibitor Semapimod

1.2.2.4 Die Deoxyhypusinhydroxylase als potenzielles neues Target

Die DOHH gehört zur Gruppe der Eisen-abhängigen Dioxygenasen sowie zur Familie der „HEAT-repeat-Proteine“, die einen spezifischen Aufbau besitzen [human huntington (**H**), Elongationsfaktor 3 (**E**), eine Untereinheit der Proteinphosphatase 2A (**A**), target of rapamycin (**TOR**)]. Ein HEAT-Motiv wird aus einem Paar α -Helices - bestehend aus 50 Aminosäuren - gebildet, das haarnadelförmig angeordnet ist. Durch wiederholte Anordnung dieses Motivs entsteht eine superhelikale Struktur aus 8 α -Helix-Paaren (HEATs), die in 2 symmetrischen Domänen angeordnet sind. Die Domänen bestehen jeweils aus 4 HEATs und sind über eine variable Region miteinander verbunden. Jede Domäne enthält 2 Histidin-Glutamat-Paare. Diese insgesamt 4 Histidin-Glutamat-Paare bilden das aktive Zentrum des Enzyms und sind gleichzeitig 2 Eisenkoordinationsstellen. Die 2 Eisenionen im aktiven Zentrum sind für die katalytische Aktivität der DOHH essenziell. Die DOHH ist somit ein Metalloenzym, das eine sehr hohe Spezifität für das Substrat Deoxyhypusin in eIF5A (eIF5A[Dhp]) besitzt.^{95,96} Deoxyhypusin wird als freie Aminosäure nicht von der DOHH umgesetzt bzw. hydroxyliert. Für die Bindung des Substrates eIF5A[Dhp] sind ionische Wechselwirkungen zwischen den Carboxylgruppen der Glutamat-Reste 57

sowie 208 der Histidin-Glutamat-Motive des Enzyms und der Aminogruppen der Deoxyhypusin-Seitenkette verantwortlich.⁹⁷

Nachdem bisher nur rekombinante Enzyme vom Menschen und Hefen erhalten und strukturell untersucht wurden, ist es kürzlich gelungen, die DOHH aus *P. falciparum* zu klonieren und zu exprimieren.^{98,99,100} Die parasitäre Deoxyhypusin-Hydroxylase ist ein interessantes Ziel, da es sich vom menschlichen Enzym unterscheidet.

Testungen an venösen Nabelschnurendothelzellen (HUVECs) ergaben, dass das Antimykotikum Ciclopirox sowie die pflanzliche Aminosäure L-Mimosin potente DOHH-Inhibitoren darstellen. Dies äußerte sich in einer starken Hemmung der Angiogenese und Proliferation dieser Endothelzellen.¹⁰¹ Die Hemmung der DOHH beruht auf einer Komplexbildung mit den Eisenionen im katalytischen Zentrum des Enzyms.¹⁰² Mit Ciclopirox, L-Mimosin und weiteren Eisenkomplexbildnern wie Deferipron, Deferoxamin sowie 2,2'-Dipyridyl konnte aufgrund ihrer Fähigkeit, durch ihre Hydroxamsäure- bzw. Hydroxy-Keton-Teilstrukturen das katalytische Eisen zu komplexieren, eine Hemmung der Zellproliferation und des Zellwachstums in verschiedenen Säugetierzellen hervorgerufen werden.^{82,87,103,104} Ciclopirox und Mimosin hemmen dabei den Zellzyklus von Säugetierzellen in der späten G1-Phase.¹⁰⁵

Die DOHH-Hemmstoffe besitzen ein gutes Toxizitätsprofil und sind zum Teil klinisch zugelassen. Deferipron (1,2-Dimethyl-3-hydroxypyridin-4-on) und Deferoxamin kommen zur Behandlung der Eisenüberladung zum Einsatz, Ciclopirox fungiert als topisches Breitspektrum-Antimykotikum. Ciclopirox besitzt eine gute Wirkung gegen Dermatophyten, Hefen, Aktinomyceten und einigen Aspergillus-Arten. Es bindet irreversibel an verschiedene Strukturen der Pilzzellen, wie Zellwand, cytoplasmatischer Membran und Mitochondrien. Der genaue Wirkmechanismus ist immer noch unklar. Es wird eine Wirkung auf den Leucin-Transport und auf die Membranbeschaffenheit der Pilzzelle vermutet. Dadurch wird die Aufnahme lebenswichtiger Bestandteile in die Pilzzelle verhindert. Des Weiteren bindet Ciclopirox Eisenionen (Fe^{2+} und Fe^{3+}) in verschiedenen Proteinen und Enzymen, was zu massiven Stoffwechselstörungen innerhalb der Pilzzelle führt.¹⁰⁶

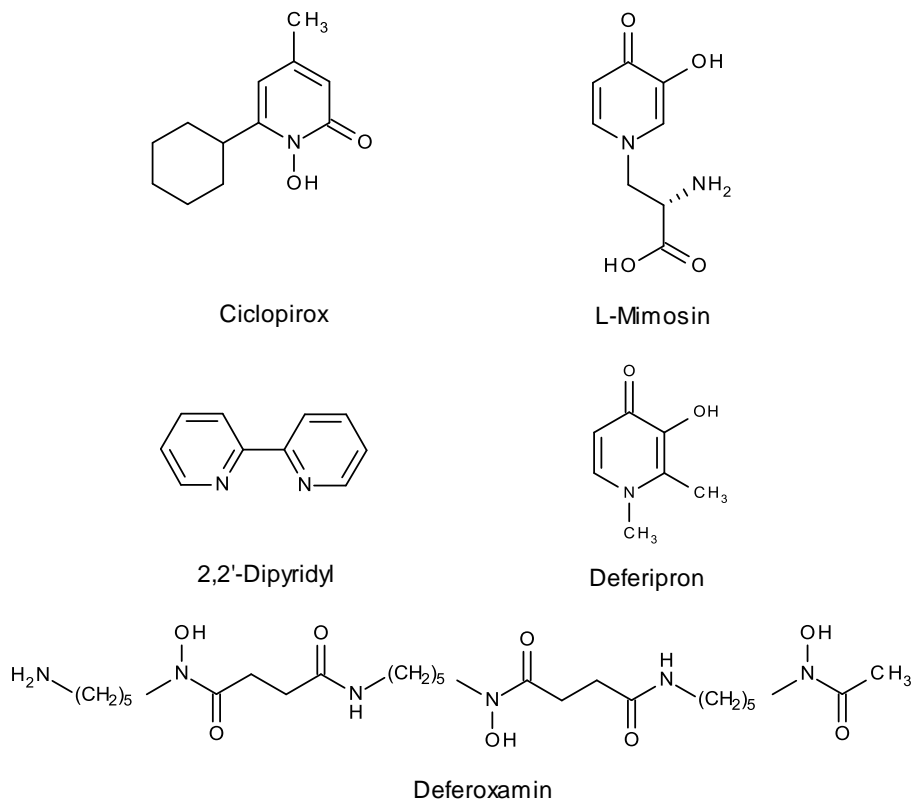


Abbildung 1-29 Inhibitoren der Deoxyhypusin-Hydroxylase (DOHH)

Die Hemmung der parasitären DOHH ist ein interessanter strategischer Ansatz bei der Suche nach wirksamen, neuen antiparasitären Behandlungsmöglichkeiten. Wie schon unter 1.2.2.3 erwähnt, stellt die Behandlung der retroviralen Erkrankungen HIV-1 und HTLV ein zusätzliches potenzielles Einsatzgebiet der Deoxyhypusin-Hydroxylase-Inhibitoren dar.

1.3 Die Entwicklung neuer DOHH-Inhibitoren

Aufgrund der vielversprechenden Wirkungen in Säugetierzellen wurden Ciclopirox und L-Mimosin an Plasmodien getestet. Dabei hemmte Ciclopirox die *In-vitro*-Proliferation des Chloroquin-sensitiven *P. falciparum*-Stammes NF54 mit einem IC_{50} von $8.2 \mu\text{M}$. Allerdings zeigte es *in vivo* in einem Malaria-Nagetiermodell keine Wirksamkeit.¹⁰⁷

L-Mimosin zeigte mit einem IC_{50} -Wert von $32 \mu\text{M}$ beim Chloroquin-sensitiven *P. falciparum*-Stamm und einem IC_{50} -Wert von $39 \mu\text{M}$ in der Chloroquin-resistenten Kultur einen guten antiplasmodialen Effekt. Jedoch war es in einem *In-vivo*-Malaria-Nagetiermodell toxisch.¹⁰⁷ Auf Basis dieser *In-vivo*-Ergebnisse bildete L-Mimosin mit seinem 4-Pyridon-Grundgerüst und der Hydroxyketonstruktur die Grundlage für die Entwicklung neuer Leitstrukturen. Verbindungen, die diese Strukturelemente enthalten, sind die gesättigten und ungesättigten 4-Oxopiperidinmono- und -diester. Diese zeigen eine Keto-Enol-Tautomerisierung. Man nahm an, dass die β -Ketocarbonsäurestruktur im Enol bessere Eisenkomplexbildungseigenschaften aufweist als die α -Hydroxyketonstruktur im Mimosin und Ciclopirox.⁶⁵

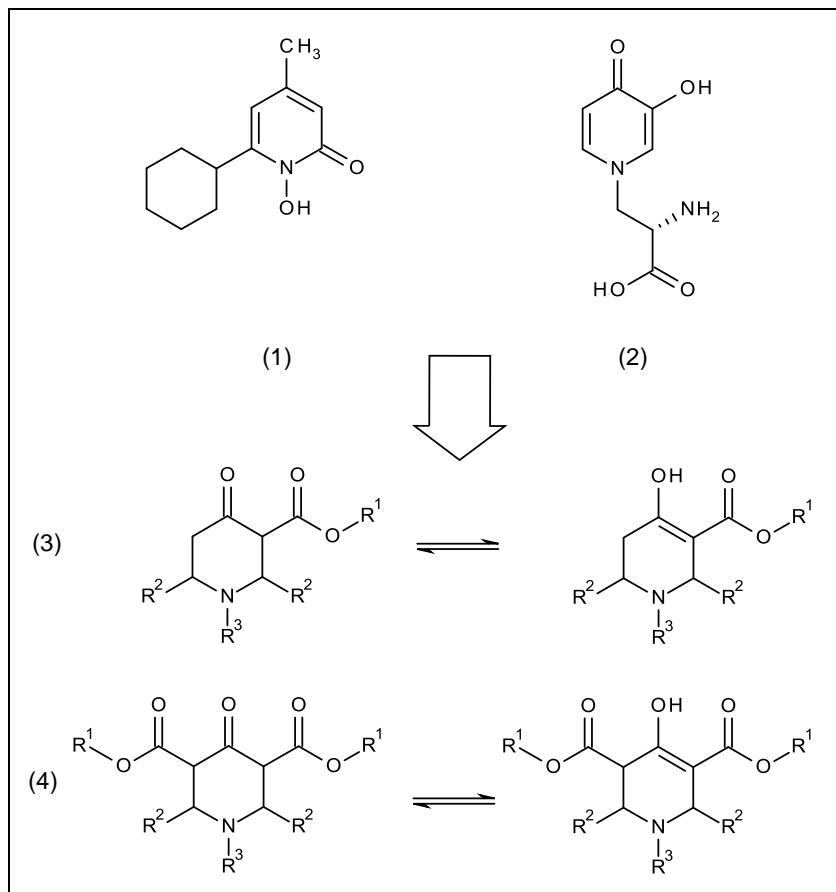


Abbildung 1-30 Ciclopirox (1) und Mimosin (2) als Leitstrukturen für die Entwicklung der 4-Oxopiperidinmono- (3) und -diester (4) mit ihrer Keto-Enol-Tautomerie

Eine Reihe von synthetisierten 4-Oxopiperidinmono- und -diestern mit 2-Pyridyl-Substituenten in Position 2 und 6 (= R²) wurde an verschiedenen *P. falciparum*-Stämmen *in vitro* sowie *in vivo* getestet. Die 4-Oxopiperidinmonoester sowie auch die Diesterderivate zeigten im gleichen Test eine bessere *In-vitro*-Wirksamkeit an Chloroquin-sensitiven und Chloroquin-resistenten Stämmen als Ciclopirox und Mimosin.¹⁰⁷ Dabei überzeugten die gesättigten Monoester mit der besten inhibitorischen Aktivität *in vitro*. Diese gute *In-vitro*-Wirksamkeit konnten die Monoester in *In-vivo*-Testungen an Mäusen allerdings nicht bestätigen, da sie aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit eine schlechtere Bioverfügbarkeit aufweisen. In dem Malaria-Nagetiermodell zeigten die 4-Oxopiperidindiester aufgrund ihrer höheren Polarität, einer besseren Wasserlöslichkeit und damit verbundener besserer Bioverfügbarkeit eine höhere Aktivität.

Auf der Grundlage dieser vielversprechenden Testungsergebnisse wurden weitere 4-Oxopiperidinmono- und -diester-Derivate synthetisiert und ihre antiparasitären Eigenschaften nicht nur an Plasmodien, sondern auch an Trypanosomen und Leishmanien bestimmt.¹⁰⁸ Darüber hinaus wurde die Zytotoxizität an Makrophagen ermittelt. Aus den Testungsergebnissen der 4-Oxopiperidine mit den verschiedensten Substitutionsmustern wurden neue Leitstrukturen für potenzielle Inhibitoren der Deoxyhypusinhydroxylase abgeleitet (siehe unter 2.1 Weiterentwicklung der Zielstrukturen).

In den pharmakologischen Untersuchungen an Plasmodien wurden mit den 2-pyridylsubstituierten Piperidonmonoestern Nr. 19 und 24 die besten inhibitorischen Ergebnisse erzielt (siehe Tabelle 1-1). Die Aktivitäten konnten im Vergleich zu den Diesterderivaten auf das 10- bis 50-fache gesteigert werden. Allerdings zeigten die Substanzen nach 72 h eine schwächere Wirksamkeit und führten in *In-vivo*-Tests zu keiner kompletten Abtötung der Erreger. Die Wirksamkeit gegen Leishmanien lag im höheren mikromolaren Bereich und war teilweise nur unwesentlich besser als die Wirksamkeit der Diesterderivate. Allerdings zeigten die Piperidinmonoester ebenfalls die höchste Aktivität gegen Trypanosomen. Mit Ausnahme von Substanz 22 zeigten sie eine Wirksamkeit, die im submikromolaren Bereich lag. Die Zytotoxizitätswerte waren teilweise 100-mal höher als die Aktivitätswerte (siehe Substanz Nr. 24), so dass diese Substanzen als Leit-

strukturen für die Synthesen weiterer antitrypanosomaler Verbindungen angesehen werden konnten.

Generell beeinflussten bei den Diesterderivaten Nitrophenyl-Reste an Position 2 und 6 die Wirksamkeit an Trypanosomen positiv. Es konnte eine Steigerung der Wirksamkeit um das 5- bis 10-fache im Vergleich zu den 2-pyridylsubstituierten Derivaten erreicht werden. Durch die Nitrogruppen könnte vermutlich eine gesteigerte Affinität am Zielenzym resultieren. Zusätzlich hat die Nitrosubstitution eine gesteigerte Wasserlöslichkeit und damit erhöhte Bioverfügbarkeit der Verbindungen zur Folge, wodurch die Wirksamkeit in *In-vivo*-Testungen verbessert werden kann. Das Problem, dass es vielen der *in vitro* wirksamen Substanzen an einer genügenden Hydrophilie und Bioverfügbarkeit mangelt, kann somit durch das Einführen der Nitroaromaten zum Teil gelöst werden. Die Position der Nitrosubstitution spielte dabei für die Wirkung keine Rolle, jedoch war die Zytotoxizität an Makrophagen bei 3-nitrophenylsubstituierten Derivaten im Gegensatz zu 4-Nitrophenyl-Derivaten um mindestens das 6-fache geringer.

Nr.	R ¹	R ²	R ³	ED ₅₀ [μM]			
				IC ₅₀ [μM] <i>P. falciparum</i>	<i>T. br. br.</i> 48h	<i>L. major</i>	Makrophagen J774.1
(a) 4-Hydroxy-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäureester							
1	CH ₃	H	2-Pyridyl	k.A.	28.09 ± 1.52	>100	>100
2	CH ₃	allyl	2-Pyridyl	k.A.	26.48 ± 7.64	>100	>100
3	CH ₃	2-hydroxyethyl	2-Pyridyl	k.A.	22.84 ± 5.57	>100	31.15 ± 0.14
4	CH ₃	3-hydroxypropyl	2-Pyridyl	k.A.	18.29 ± 2.59	>100	32.02 ± 0.63
5	CH ₃	2-(2-hydroxyethoxy)-ethyl	2-Pyridyl	k.A.	24.14 ± 4.27	65.04 ± 3.60	38.48 ± 6.17
6	CH ₃	3-carboxypropyl	2-Pyridyl	k.A.	19.29 ± 2.28	>100	46.00 ± 5.92
7	CH ₃	7-carboxypentyl	2-Pyridyl	k.A.	23.98 ± 4.48	50.34 ± 8.26	33.83 ± 2.81
8	CH ₃	2-pyridylmethyl	2-Pyridyl	k.A.	4.62 ± 1.39	>100	29.87 ± 2.32
9	CH ₃	benzyl	2-Pyridyl	10.88 (72h)	11.13 ± 1.91	55.99 ± 6.45	33.99 ± 1.56
10	CH ₃	allyl	Phenyl	k.A.	4.86 ± 0.63	n.b.	> 100
11	CH ₃	benzyl	3-Nitrophenyl	k.A.	2.49 ± 0.79	> 100	> 100
12	CH ₃	4-methylbenzyl	3-Nitrophenyl	k.A.	2.66 ± 0.49	> 100	49.78 ± 16.80
13	CH ₃	4-methoxybenzyl	3-Nitrophenyl	k.A.	3.93 ± 1.10	> 100	> 100
14	CH ₃	4-chlorbenzyl	3-Nitrophenyl	k.A.	10.57 ± 2.83	> 100	46.64 ± 9.86
15	CH ₃	allyl	4-Nitrophenyl	k.A.	2.41 ± 0.39	> 100	50.29 ± 11.70
16	CH ₃	benzyl	4-Nitrophenyl	11.91 (72h)	3.01 ± 0.27	> 100	18.39 ± 2.93
17	C ₂ H ₅	allyl	4-Nitrophenyl	11.03 (72h)	3.06 ± 0.55	n.b.	> 100
18	C ₂ H ₅	benzyl	4-Nitrophenyl	10.06 (72h)	2.72 ± 0.51	n.b.	> 100

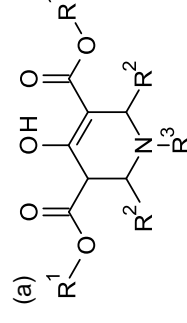


Tabelle 1-1 (Seite I von II)

Tabellenfortsetzung siehe nächste Seite

Nr.	R ¹	R ²	R ³	ED ₅₀ [µM]		
				IC ₅₀ [µM] <i>P. falciparum</i>	<i>T. br. br.</i> 48h	<i>L. major</i> Makrophagen J774.1
(b) 4-Hydroxy-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester						
19	CH ₃	allyl	2-Pyridyl	1.4 (24h)	1.08 ± 0.48	50
20	CH ₃	benzyl	2-Pyridyl	k.A.	1.37 ± 0.02	25.97 ± 6.76
21	CH ₃	4-methylbenzyl	2-Pyridyl	n.b.	0.47 ± 0.17	83.83 ± 10.38
22	CH ₃	3-methoxybenzyl	2-Pyridyl	n.b.	> 100	> 100
23	CH ₃	4-methoxybenzyl	2-Pyridyl	n.b.	0.43 ± 0.17	30
24	CH ₃	4-chlorbenzyl	2-Pyridyl	1.7 (48h) 12.03 (72h)	0.32 ± 0.09	87.93 ± 32.99
(c) 4-Oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester						
25	CH ₃	benzyl	2-Pyridyl	4.7 (24h)	> 100	n.b.
26	CH ₃	4-chlorbenzyl	2-Pyridyl	18 (24h)	n.b.	n.b.
(d) 4-Oxo-1,4-dihydropyridin-3-monocarbonsäureester						
27	CH ₃	4-methylbenzyl	2-Pyridyl	9.1 (24h) 40 (48h)	n.b.	n.b.
28	CH ₃	4-chlorbenzyl	2-Pyridyl	9.4 (36h)	> 100	> 100
(e) Oximether						
29*				11.8 (24h) 8.3 (72h)	3.86 ± 1.95	30.72 ± 3.15

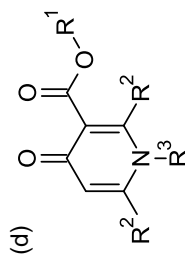
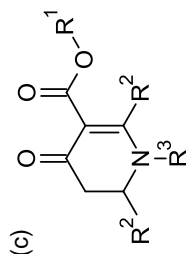
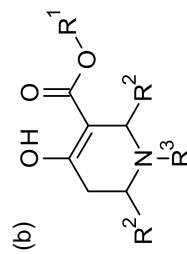


Tabelle 1-1 (Seite II von II) Testungsergebnisse bereits bekannter 4-Oxo- bzw. 4-Hydroxypyridinderivate

P. falciparum = *Plasmodium falciparum*; *Tr. br. br.* = *Trypanosoma brucei brucei*; *L. major* = *Leishmania major*
k.A. = keine Aktivität; n.b. = nicht bestimmt; *Verbindung 29 entspricht der synthetisierten Substanz **10**

Anhand der Testungsergebnisse der Diesterderivate an Plasmodien erkennt man, dass die 4-Nitrophenyl-Substitution essentiell zur Wirksamkeit beiträgt und den anderen Substitutionsvarianten überlegen ist. Die Substanzen mit 3-Nitrophenylresten zeigten überraschenderweise keine Aktivität.

Die Substitution am Piperidinstickstoff scheint für die Wirksamkeit von geringerer Bedeutung zu sein; für eine hohe Aktivität sind die Substituenten an 2- und 6-Position ausschlaggebend.

Untersuchungen an Makrophagen haben ergeben, dass Verbindungen, die einen Ethylester tragen, im Vergleich zu den Methylester-Derivaten eine geringere Zytotoxizität aufweisen. Die Ethylester waren bis zu 50-fach weniger toxisch und haben darüber hinaus keinen Wirksamkeitsnachteil gegenüber den Methylestern.

Die Di- und Tetrahydroverbindungen zeigten gegen Trypanosomen und Leishmanien keine Wirksamkeit. Dies liegt vermutlich daran, dass sie im Vergleich zu den gesättigten Derivaten nicht in der Lage sind, die für die Wirksamkeit essentielle Enolstruktur auszubilden. Aus diesem Grund und wegen ihrer erschwerten Synthese^{109,110}, die aufwändige Aufreinigungen notwendig macht, wurden die Dihydro- sowie Tetrahydroderivate im Zuge der vorliegenden Arbeit nicht weiter verfolgt.

Da die Hemmung von HI-Viren ebenfalls vom Transkriptionsinitiationsfaktor eIF-5A abhängig ist, wurden 2 Verbindungen, die in Testungen an Plasmodien und Trypanosomen erfolgversprechende Ergebnisse zeigten, hinsichtlich ihrer Inhibition an HI-Viren getestet (der Diester Nr. 17 und der Oximether 29). Dabei stellte sich heraus, dass die 2 Substanzen innerhalb von 10 h in der Lage waren, HI-1-Viren *in vitro* zu hemmen. Mit Substanz 17 konnte eine komplette Hemmung, mit Verbindung 29 eine 85%-ige Hemmung der Virusreplikation erzielt werden.¹⁰⁸

1.4 Die Eisenkomplexierungs-Theorie

Die enolische Form der 4-Oxopiperidinerster ist durch ihre β -Ketocarbonsäurestruktur in der Lage, mit Metallionen stabile Komplexe zu bilden.¹¹¹ Wie die Hydroxamsäure- bzw. Hydroxy-Keton-Teilstruktur von Ciclopirox und L-Mimosin auch, kann diese β -Keto-

carbonsäurestruktur ebenfalls Eisenionen, wie sie im katalytischen Zentrum des oben beschriebenen DOHH-Zielenzyms vorkommen, komplexieren. Schon *Petrenko-Kritschenko* und *Zoneff* beschrieben eine Rotfärbung und damit Chelatisierung von Diestern mit Eisenchlorid.¹¹² Die guten antiplasmodialen und antitrypanosomalen Wirksamkeiten der 4-Oxopiperidinester können mit den Eisen-Komplexbildungseigenschaften dieser Substanzen im Zusammenhang stehen und einen möglichen Wechselwirkungsmechanismus mit dem DOHH-Enzym erklären. Die Tatsache, dass gerade das Eisen-(III)-ion als harte Säure zur Komplexbildung harte Donoren, wie Sauerstoff in Catecholen, Hydroxamaten oder Hydroxycarbonsäure-Strukturen, benötigt, spricht für diesen Mechanismus.¹⁰⁴

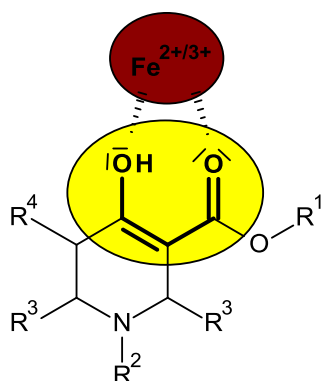


Abbildung 1-31 Eisenkomplexierung durch die α -Hydroxyketonstruktur

Die 2,6-dipyridylsubstituierten 4-Piperidoncarbonsäuremono- und -diester besitzen durch ihre Terpyridinstruktur ein zusätzliches Strukturelement, um Metallchelate zu bilden. Sie sind in der Lage, über die 3 Stickstoffatome an Position 1 und in den zwei 2-Pyridylsubstituenten Metalle, wie auch Eisen, im Verhältnis 1:1 zu komplexieren.^{113,114,115} Da jedoch auch 4-Piperidoncarbonsäurediester ohne die 2-Pyridylreste in Position 2 und 6 sehr gute Wirksamkeiten an Plasmodien und auch Trypanosomen aufweisen (siehe Tabelle 1-1), geschieht die potenzielle Komplexbildung mit dem Eisenion der DOHH vermutlich eher über die β -Ketocarbonsäurestruktur. Bisher war es noch nicht gelungen auch Monoester ohne diese Pyridylsubstitution zu erhalten, so dass hier bisher kein Vergleich möglich war.

2 ZIEL DER ARBEIT

2.1 Weiterentwicklung der Zielstrukturen

Aus den Testungsergebnissen der teilweise unterschiedlich substituierten 4-Hydroxypiperidinmono- und -diesterderivate (siehe 1.3) ergeben sich Ansätze für die Ableitung einer neuen Leitstruktur potenzieller Inhibitoren der Deoxyhypusinhydroxylase.

Die plasmodialen Testungen der Diesterderivate ließen erkennen, dass die 4-Nitrophenyl-Substitution an Position 2 und 6 im Vergleich mit anderen Substitutionsvarianten zu einer verbesserten Wirksamkeit in Verbindung mit einer niedrigeren Zytotoxizität beiträgt. Die Testungsreihen an Trypanosomen bestätigten dies, da im Vergleich zu den 2-pyridylsubstituierten Derivaten eine bis zu 10-fach höhere Wirksamkeit erreicht werden konnte. Zusätzlich kann durch die Nitrosubstitution eine gesteigerte Wasserlöslichkeit und damit erhöhte Bioverfügbarkeit erzielt werden, wodurch die Wirksamkeit in *In-vivo*-Testungen verbessert werden kann.

Desweiteren ergaben die Testungen eine geringere Zytotoxizität von Ethylestern im Vergleich zu den Monoesterderivaten. Durch das Einführen größerer Estergruppen, wie z.B. *t-Butyl*-Ester, sollte geklärt werden, ob sich die zytotoxischen Eigenschaften weiter verbessern lassen.

Die Monoesterverbindungen gehörten zu den aktivsten Substanzen. Hier konnten jedoch bislang nur pyridylsubstituierte Derivate synthetisiert werden. So sollte durch die Synthese von Derivaten mit Nitrophenylresten in Position 2 und 6 gezeigt werden, ob die oben beschriebenen Vorteile dieser Substituenten bei Diestern auch auf Monoester übertragbar sind. So könnte sich die sehr gute Wirksamkeit der Monoester weiter steigern und mit verbesserten zytotoxischen Eigenschaften sowie einer verbesserten Wasserlöslichkeit kombinieren lassen.

Da die Substitution am Piperidin-Stickstoff für die Wirksamkeit der 4-Hydroxypiperidincarbonsäureester von geringerer Bedeutung zu sein scheint, kann man an dieser Stelle durch das Einführen hydrophiler Reste die *In-vivo*-Wirksamkeit weiter steigern.

Anhand der dargestellten Überlegungen lässt sich eine neue Leitstruktur für potenzielle Inhibitoren der Deoxyhypusinhydroxylase ableiten (siehe Abbildung 2-1).

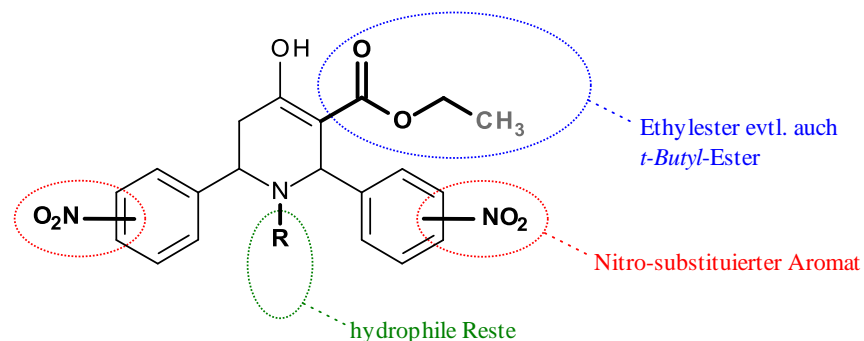


Abbildung 2-1 Die für die optimale Wirksamkeit vorgeschlagenen Verbindungen (Zielverbindungen)

Zusätzlich wurde die Synthese von 4-Hydroxypiperidincarbonsäureestern ohne aromatische Substitution an Position 2 und 6 angestrebt. Hierbei sollte durch das Einführen von Alkylresten die Bedeutung der Aromaten geklärt werden.

Desweiteren schien die Synthese von Piperidinoximen interessant, da Oxime für ihr gutes Eisenkomplexierungsvermögen bekannt sind.¹¹⁶ Durch die Synthese entsprechender Derivate sollte die Frage geklärt werden, ob man mit Piperidinoximen das Eisen besser komplexieren und demzufolge auch die Hemmwirkung erhöhen kann.

Durch die Variation der Substitutionsmuster der 4-Hydroxypiperidincarbonsäuremono- und -diester sollte eine Substanzbibliothek strukturell diverser Verbindungen geschaffen werden, um genauere Aussagen über die Bedeutung jeder einzelnen Substitutionsposition treffen zu können. Darüber hinaus sollten mit einer großen Anzahl an diversen Verbindungen QSAR^{IV}-Studien durchgeführt werden.

Da einige antiplasmodial wirksame Piperidinderivate in der Lage waren, die Vermehrung von HI- und HTLV-Viren über die Inhibition des Hypusinsyntheseweges zu hemmen, sollten einige gut wirksame Kandidaten dahingehend getestet werden.

^{IV} QSAR = quantitative structure-activity relationship (quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung)

2.2 4-Hydroxychinolonester als mögliche Alternative

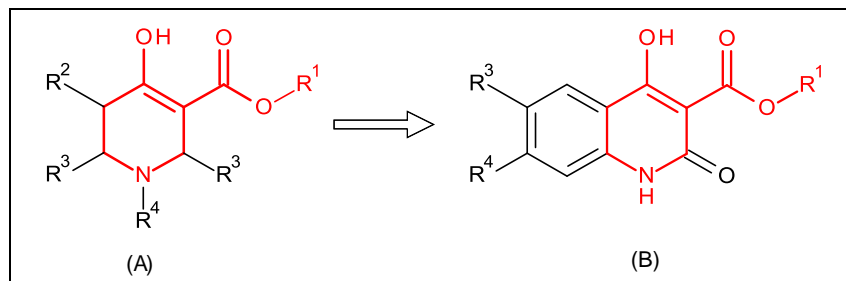


Abbildung 2-2 4-Hydroxychinoloncarbonsäureester (B) als 4-Hydroxytetrahydropyridinester- (A) enthaltende Strukturen

Die Chinolonstruktur ist charakteristisch für verschiedenste Naturprodukte und synthetische Chinolonderivate sind eine sehr interessante Substanzgruppe mit vielfältigen biologischen Wirkungen. Hier soll die Struktur der 4-Hydroxy-2-oxochinolin-carbonsäureester als Alternative zu den eigentlichen Zielverbindungen dieser Arbeit, den 4-Hydroxytetrahydropyridin-carbonsäuremono- und -diestern, dargestellt werden.

Wie in Abbildung 2-2 ersichtlich, enthalten die 4-Hydroxychinolonester (B) die Zielstruktur der 4-Hydroxytetrahydropyridin-carbonsäureester. Durch die β -Hydroxyketon-Teilstruktur könnten die 4-Hydroxychinolonester ebenfalls in der Lage sein, das Eisen im katalytischen Zentrum der DOHH zu komplexieren und diese dadurch zu hemmen. Allerdings wird das Molekül durch das 2-fache Ringsystem starr und liegt nicht mehr, wie die 4-Hydroxytetrahydropyridin-carbonsäureester, in der Sesselkonformation vor. Durch diese Unterschiede in der räumlichen Anordnung könnten sich essenzielle Wirksamkeitsunterschiede am Zielenzym ergeben. Es ist aber auch möglich, dass eine ähnliche Wirkung hervorgerufen wird. Um dies zu untersuchen, sollten verschiedene Hydroxychinolinester vom Typ B synthetisiert und die Wirksamkeit an Plasmodien- und Trypanosomenkulturen getestet werden.

Die Hydroxychinolonderivate zeigen im Gegensatz zu den 4-Hydroxytetrahydropyridinestern eine viel bessere Wasserlöslichkeit. Falls sich in Testungen eine Wirksamkeit zeigen würde, könnte man mit den Hydroxychinolonestern das Problem der verminderten Bioverfügbarkeit der 4-Hydroxytetrahydropyridinester umgehen und somit neue Leitstrukturen schaffen.

3 ALLGEMEINER TEIL

3.1 Die Mannich-Reaktion

Die Mannich-Reaktion ist eine klassische und sehr bedeutende Grundreaktion zum Erhalt von stickstoffhaltigen Verbindungen. Aus einem Äquivalent einer CH-aciden Verbindung (als CH-acide Verbindung dienen hauptsächlich enolisierbare Aldehyde und Ketone), einem Äquivalent eines Aldehyds und einem Äquivalent eines primären oder sekundärenamins bzw. Ammoniak entstehen im Zuge der Mannich-Reaktion α -aminoalkylierte Verbindungen, β -Aminoketone bzw. -aldehyde. Diese sogenannten Mannich-Basen sind vielfältige Synthesebausteine, die man leicht in wertvolle Derivate, wie Michael-Akzeptoren (durch Eliminierung des Amins), 1,3-Aminoalkohole (durch Reduktion oder Addition metallorganischer Verbindungen) oder funktionalisierte Carbonylverbindungen (durch nucleophile Substitution) überführen kann. Die Mannich-Reaktion ist ein Schlüsselschritt in zahlreichen Wirk- und Naturstoffsynthesen und zählt zu den bedeutendsten C-C-Verknüpfungsreaktionen in der Organischen Chemie. Die Popularität dieser Reaktion ist begründet in der hohen Anzahl an N-haltigen Naturstoffen, biologisch aktiven Verbindungen und Arzneimitteln, die durch Mannich-Reaktionen zugänglich sind (z.B. Alkaloidsynthesen).

Kommen 1,3-Dicarbonylsysteme als CH-acide Komponente in Kombination mit 2 Äquivalenten Aldehyd und einem Äquivalent Amin zum Einsatz, können durch Ablauf einer Doppel-Mannich-Reaktion stickstoffhaltige Piperidinringsysteme aufgebaut werden.

3.1.1 Die Synthese der 4-Piperidonester durch die Einstufen-3-Komponenten-Doppel-Mannichreaktion

Die Synthese des substituierten Piperidonrings durch die Reaktion von Acetondicarbonsäureestern mit Benzaldehyd und Ammoniak bzw. primären Aminen wurde erstmals von *Petrenko-Kritschenko* und *Zoneff* beschrieben.^{112,117,118} *Mannich* synthetisierte Piperidonmono- und diesterderivate aus aliphatischen Aldehyden mit und ohne Substitution am

Stickstoff.¹¹⁹ Die ersten 2,6-pyridyl-substituierten Derivate wurden von *Merz* und *Räuchle* hergestellt.¹²⁰

Die Reaktionen wurden unter milden Bedingungen in alkoholisch-wässrigen Lösungen unter Zutropfen der wässrigen Ammoniaklösung bzw. der Lösung desamins zur Lösung des Aldehyds und des Acetondicarbonsäureesters durchgeführt. Auch andere Zutropfkombinationen kamen zur Anwendung.¹²¹

Damals fiel schon die hohe Säureempfindlichkeit der isolierten Produkte auf. Bei Behandlung mit Säuren trat in der Kälte eine starke Verharzung auf.¹²¹ Auch die Entstehung verschiedener Nebenprodukte wurde beschrieben.^{120,121}

2,6-disubstituierte Piperidonmonocarbonsäureester wurden durch die Reaktion von freien Acetondicarbonsäuremonoalkylestern mit aliphatischen oder heteroaromatischen Aldehyden und Benzylamin erhalten.^{114,122} *Baliah et al.* beschrieb eine von Acetessigester ausgehende Methode: hierbei wurde dieser mit Aldehyden und Aminen in Eisessig bei erhöhten Temperaturen zu den entsprechenden Monoesterderivaten umgesetzt.¹²³ Eine Möglichkeit, über die Diesterderivate durch einseitige Esterspaltung und Decarboxylierung zu den Monoestern zu gelangen, wie es auch schon *Mannich* beschrieb,¹¹⁷ scheiterte an der hohen Säure- und Alkalilabilität pyridylsubstituierter Dicarbonsäureester. Schon unter milden Reaktionsbedingungen kam es leicht zu Ringspaltungen.^{119,120}

In Anlehnung an diese schon früher beschriebenen Synthesemethoden zum Erhalt von 4-Piperidondi- und -monoester-Derivaten wurde versucht, unter Reaktionsmodifikationen die beschriebenen Zielverbindungen zu erhalten.

3.1.2 Allgemeine stereochemische Betrachtungen der 4-Piperidonester: Keto-Enol-Tautomere und Rotamere

Die 4-Piperidoncarbonsäureester-Verbindungen zeigen eine Keto-Enol-Tautomerie.^{118,120,124,125} Darüber hinaus kann jedes Tautomer in jeweils 2 isomeren Formen,

und zwar in *cis*- bzw. *trans*-Konfiguration bezüglich der Substituenten in Position 2 und 6 vorliegen. Man erhält somit 4 mögliche Isomere (siehe Abbildung 3-1).

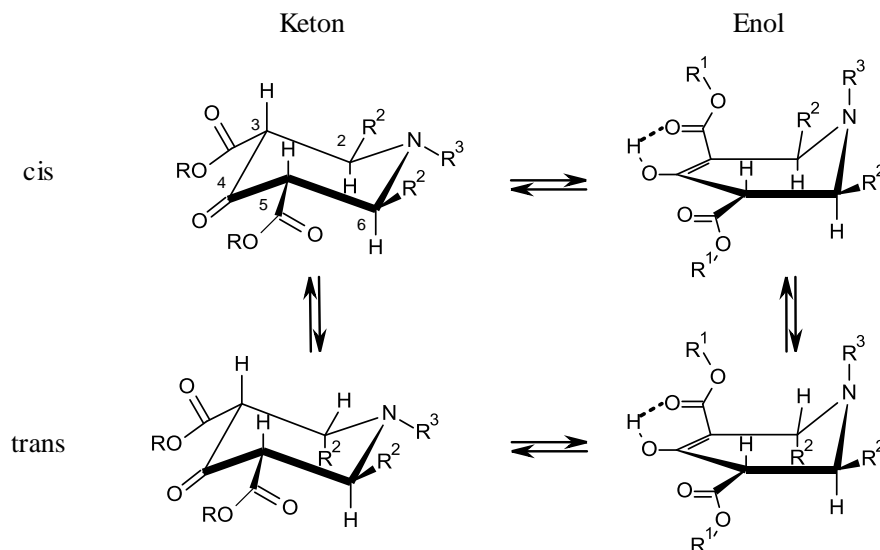


Abbildung 3-1 Die 4 möglichen Isomere bei der Piperidonsynthese

Die Ketoisomere liegen in einer Sessel-, die Enole in einer Halbsesselkonformation vor. Die Carboxylgruppen in Position 3 und 5 nehmen in beiden Isomeren eine (quasi)-equatoriale Stellung ein, da die möglichen Wechselwirkungen mit anderen Substituenten in dieser Stellung am geringsten sind. Der Substituent am Kohlenstoff C6 und bei den *cis*-Isomeren an C2 ist ebenso equatorial angeordnet. R^2 nimmt bei den *trans*-Derivaten demgegenüber am Kohlenstoff C2 eine axiale Position ein. Die β -Ketoester-Struktur der Enole kann eine intramolekulare Wasserstoffbrücke ausbilden (wie in Abbildung 3-1 beim *trans*-Enol angedeutet).

Die Stellung der Substituenten lässt sich indirekt über die Kopplungskonstanten der entsprechenden vicinalen H-Atome aus dem ^1H -Spektrum ableiten. Die Größe der Kopplungskonstanten zwischen benachbarten H-Atomen in Cyclohexanderivaten lässt primär Rückschlüsse auf deren Stellung zueinander zu. Eine Kopplungskonstante von 2 – 4 Hz entspricht einer equatorial-equatorial-(e,e)-Kopplung zwischen den vicinalen Protonen, eine Kopplungskonstante von 2 – 6 Hz einer axial-equatorial-(a,e)-Kopplung und eine Kopplungskonstante von 9 – 13 Hz einer axial-axial-(a,a)-Kopplung.^{126,127}

Im *cis*-Keton betragen die Kopplungskonstanten ${}^3J_{2,3}$ sowie ${}^3J_{5,6}$ 10.5 – 11.5 Hz, woraus eine axiale Stellung der vicinalen Ringprotonen und eine bisequatoriale Stellung der Substituenten resultieren. Die benachbarten Substituenten (an C2 und C3 sowie an C5 und C6) nehmen somit eine *trans*-Konfiguration ein. Außerdem sprechen hier im Allgemeinen die chemische Äquivalenz der Protonen an C2/C6, an C3/C5 sowie die der Substituenten R² und der Alkoxygruppen und damit der halbe Signalsatz für eine symmetrische Struktur und damit eine *cis*-Konfiguration des Ketons.

Bei den Enolen erhält man sowohl in den ¹H- als auch in den ¹³C-Spektrum wegen der unsymmetrischen Molekülstruktur für jedes Proton und C-Atom ein separates Signal. Die Kopplungskonstante der vicinalen Protonen an Position 5 und 6 liegt bei den Enolen ebenfalls zwischen 9 und 10 Hz. Sie nehmen demnach eine *trans*-diaxiale Lage ein, die entsprechenden Substituenten eine equatoriale.

Da aus den NMR-Spektren die genaue Stellung des Protons an C2 in den Enolen aufgrund eines fehlenden Protons und damit Kopplungspartners an C3 nicht ermittelt werden konnte, wurde mittels Röntgenstrukturanalysen von verschiedenen 2,6-dialkyl- sowie 2,6-diarylsubstituierten 4-Hydroxypiperidinderivaten die genaue Konfiguration aufgeklärt.^{128,129} Anders als noch von *Hänsel* und *Haller* postuliert^{125,130} nahmen die Substituenten am Kohlenstoff C2 in diesen N-substituierten Enolen statt einer equatorialen eine axiale Position ein. Aufgrund des equatorial-ständigen Substituenten an C6 wurde hier durch die Röntgenstrukturanalysen für diese Derivate das Vorliegen des *trans*-Enols bewiesen. Durch den Vergleich der chemischen Verschiebungen von H2, H5 und H6 im ¹H- sowie von C2, C3, C4, C5, C6 im ¹³C-Spektrum konnte die Erkenntnis der *trans*-Substitution auf vielfältige Derivate übertragen werden. Die Stickstoffsubstituenten nahmen meist eine axiale Lage ein.^{128,129} Im Allgemeinen erhöht sich die Tendenz dieser Substituenten, in die axiale Stellung überzugehen, mit steigender Raumerfüllung der Reste an C2 und C6, um sterischen Wechselwirkungen auszuweichen.¹³¹

Bei der Synthese der Diesterverbindungen werden nun prinzipiell Isomerengemische aus *cis-trans*-Enolen und -Ketonen erhalten, wobei *trans*-Ketone nie beobachtet wurden.^{128,129,132} Je nach Substitutionsmuster der Piperidondiester und Lösungsmittel

stellen sich zwischen diesen tautomeren und konfigurationsisomeren Formen unterschiedliche Gleichgewichte ein.

Bei 2,6-diarylsubstituierten Piperidondiestern mit einer Substitution am Stickstoff tautomerisiert das *cis*-Keton z.B. im unpolaren Chloroform zum *cis*-Enol, bis sich ein Gleichgewicht zwischen *cis*-Keton und *cis*-Enol von 70:30 einstellt. In polarem Methanol jedoch liegen im Endeffekt 45 % *cis*-Keton und 55 % *trans*-Enol im Gleichgewicht vor, wobei es hier zusätzlich zur Tautomerisierung zu einer Epimerisierung am Kohlenstoffatom C2 gekommen ist. Durch Ringöffnung zwischen dem Stickstoff und dem Kohlenstoffatom C2 bildet sich durch eine retro-Michael-Addition aus dem *cis*-Enol das *trans*-Enol.^{132,133}

Kristallisiert man die Substanzen aus polarem Methanol oder Ethanol, erhält man zu fast 100 % das bei N-substituierten Piperidonen thermodynamisch stabilste Isomer, das *trans*-Enol. Gewinnt man die Produkte aus Ether, erhält man Isomerengemische aus *cis*-Keton, *cis*-Enol und *trans*-Enol.¹³²

Bei N-unsubstituierten Diesterderivaten hingegen erhält man aufgrund der fehlenden sterischen Wechselwirkungen zwischen dem Stickstoffsubstituenten und denen an C2 und C6 ausschließlich *cis*-Isomere. Allgemein lässt sich feststellen, dass die thermodynamische Stabilität der Piperidondiester mit steigendem Substitutionsgrad und Substituentengröße vom *cis*-Keton zum *trans*-Enol zunimmt.^{128,129}

Im Fall der am Stickstoff substituierten 2,6-Dialkyl-Derivate wurden immer die Enole isoliert und man beobachtete in Lösung keine Isomerisierung.^{129,134}

Die in dieser Arbeit synthetisierten Diester-Derivate liegen aufgrund ihrer N-Substitution sowie ihrer Substituenten in Position 2 und 6 überwiegend als reine *trans*-Enole vor. Bei einigen wenigen Derivaten wurde aber auch das reine *cis*-Enol isoliert. Selten ergaben die Synthesen Gemische aus *cis*-Keton/ *trans*-Enol, *cis*-Enol/ *trans*-Enol oder aus allen drei möglichen Isomeren, wobei der Anteil an *trans*-Enol stets überwog (Genauerer siehe unter 3.2.1.3).

Rein theoretisch ist es auch möglich, 2 Konformere des *trans*-Enols zu isolieren. Hierbei kommt es nach 5 bis 6 h in CDCl_3 zu einer Inversion des Stickstoffs (siehe Abbildung

3-2). Dies hat zur Folge, dass der axial-ständige Substituent an C2 in die equatoriale und der equatoriale Substituent an C6 in eine axiale Lage übergehen. Dieses entstandene *trans*-Enol-Isomer (B) zeichnet sich im NMR-Spektrum durch eine *gauche*-Kopplung zwischen dem axialen H5 und dem nun equatorialen H6 von mit einer Kopplungskonstante von 4 bis 5 Hz aus. Aber aufgrund von sterischen Wechselwirkungen zwischen der equatorialen Esterfunktion am Kohlenstoffatom C3 und dem equatorialen Substituenten an C2 ist dieses Isomer thermodynamisch nicht bevorzugt.¹²⁸ Keine in dieser Arbeit erhaltenen Verbindung zeigte eine Umwandlung in dieses energetisch eher ungünstigere *trans*-Enol (B).

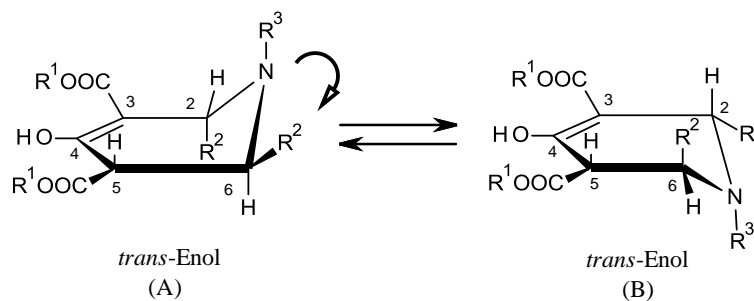


Abbildung 3-2 Die 2 Isomere des *trans*-Enols

Bei der Synthese von bereits bekannten Monoestern erhält man hauptsächlich *trans*-Enole, teilweise neben geringen Mengen des entsprechenden *trans*-Ketons.^{114,122} Die *trans*-Enole stellen das thermodynamisch kontrollierte Produkt dar.¹²⁸ Auch hier wurde die Konfiguration mittels Röntgenstrukturanalyse bewiesen. In den *trans*-Enolen und *trans*-Ketonen nahmen die Substituenten an C6 eine equatoriale, die an C2 eine axiale Lage ein. Der aromatische Substituent am Stickstoff war ebenso axial angeordnet, um sterische Wechselwirkungen mit den Resten an C2 und C6 zu verhindern.¹²⁸

Die im Zuge der vorliegenden Arbeit synthetisierten Monoester wurden bis auf eine literaturbekannte Verbindung allesamt als reine Enole isoliert. Dabei traten entweder reine *trans*-Enole oder reine *cis*-Enole auf (Genaueres unter 3.2.2.2).

3.2 Synthese

3.2.1 Synthese der 4-Hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbon-säurediesterderivate

Prinzipiell können Piperidondicarbonsäureester aus einem Äquivalent Aceton-1,3-dicarbon-säureester, einem Äquivalent Amin R^2-NH_2 und 2 Äquivalenten Aldehyd R^3-CHO im Sinne einer Mannich-Reaktion hergestellt werden. Dies wurde schon von unterschiedlichen Autoren beschrieben (siehe unter 3.1.1). Jedoch versagen die klassischen Synthesestrategien häufig. Im Folgenden sind deshalb 5 verschiedene, modifizierte Synthesestrategien beschrieben, mit denen die Piperidondicarbonsäureester hergestellt werden sollten.

Allgemeine Synthesevorschrift (modifiziert nach^{119,120}):

Bei den verschiedenen Synthesestrategien werden bestimmte Komponenten alleine oder in Kombination vorgelegt und die jeweils fehlenden Edukte über einen Zeitraum von 30 min bis 1 h separat, aber simultan zugetropft (siehe Tabelle 3-1).

Strategie	Vorlage / LM (Schutzgas)	Zutropfen von / LM	Temp. [°C]
1	Acetondicarbonsäurediester + Aldehyd / MeOH	Amin / MeOH/H ₂ O (1:1)	-5 bis -20
2	Aldehyd / THF (Argon)	Acetondicarbonsäurediester + Amin / MeOH bzw. EtOH	-5 bis -20
3	Acetondicarbonsäurediester / MeOH (Argon)	Aldehyd + Amin / (THF)*, MeOH	-5 bis -20
4	Amin + Aldehyd / MeOH	Acetondicarbonsäurediester / MeOH	-5 bis -20
5	Acetondicarbonsäurediester + Aldehyd / MeOH	Amin / MeOH/H ₂ O (1:1)	RT

Tabelle 3-1 Einsatz der verschiedenen Komponenten bei den Synthesestrategien 1 – 4 mit Angabe des verwendeten Lösungsmittels (LM) und der Temperatur (Temp.); RT = Raumtemperatur;

* bei Verwendung von Nitro- und Brombenzaldehyden werden diese in THF gelöst

Bei **Strategie 3** gibt es 4 Aufarbeitungsmöglichkeiten **A – D**, die kurz beschrieben werden sollen:

- (A) Während der Lagerung des Reaktionsansatzes fällt bei 5 °C ein Feststoff aus.
- (B) Es bildet sich kein Niederschlag. Das Lösungsmittel wird im Vakuum fast vollständig entfernt und der Reaktionsansatz für mehrere Tage bei 5 °C gelagert bis eine Kristallbildung einsetzt.
- (C) Es bildet sich ein öliger Rückstand. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, der Ansatz mit Aceton und Diethylether versetzt und bei 5 °C gelagert, bis sich ein Niederschlag absetzt.
- (D) Wird mit den oben beschriebenen Methoden **A – C** kein Feststoff erhalten, versetzt man den Reaktionsansatz bzw. das erhaltene Öl mit propanolischer HCl, um das gewünschte Produkt als Hydrochlorid zu isolieren.

Bei vielfältigen früheren Synthesemethoden wurden die Aceton-1,3-dicarbonsäurediester entsprechend ihrer Veresterung in dem jeweiligen Alkohol gelöst. Der Ethylester wurde somit immer in EtOH gelöst. Es hat sich jedoch als vorteilhaft herausgestellt, beim Einsatz von Aceton-1,3-dicarbonsäurediethylester diesen nicht in Ethanol sondern in Methanol zu lösen, da die 4-Hydroxytetrahydropyridindiethylester-Derivate aus Methanol besser auskristallisieren. Eine Umesterung zum Methylester wurde dabei nicht beobachtet.

Mit den Synthesestrategien 1 – 3 konnten verschiedene 2,6-Dialkyl- und 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäureester hergestellt werden (siehe unter 3.2.1.1 und 3.2.1.2).

Mit den Strategien 4 und 5 wurden die gewünschten Produkte nie erhalten. Teilweise wurden mit ihnen u.a. definierte Nebenprodukte (siehe unter 3.2.1.4) oder undefinierte Öle und Harze isoliert. Deshalb kamen sie bei späteren Syntheseversuchen nicht mehr zur Anwendung und finden im Experimentellen Teil dieser Arbeit auch keine Erwähnung. Der Vollständigkeit halber, sollen sie an dieser Stelle kurz beschrieben werden:

Strategie 4: 10 mmol des primärenamins sowie 20 mmol des aromatischen Aldehyds werden in 20 ml Methanol gelöst. 10 mmol des Aceton-1,3-dicarbonyldiesters, in 10 ml Methanol gelöst, tropft man dem Reaktionsansatz unter Eiskühlung (-5 bis -15 °C) über einen Zeitraum von 30 min langsam zu. Danach wird der Reaktionsansatz 1 h unter Eiskühlung bei ca. -5 °C sowie 6 - 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird das übrig gebliebene Öl mit Diethylether versetzt. Nach mehrtägiger Lagerung bei -5 °C sollte es zur Kristallisation eines Feststoffes kommen.

Strategie 5: 10 mmol des Aceton-1,3-dicarbonyldiesters und 20 mmol des aromatischen Aldehyds werden bei RT vorgelegt. 10 mmol des primärenamins werden in 5 – 10 ml eines Methanol-Wasser-Gemisches (1:1) gelöst und innerhalb von 30 min bei Raumtemperatur dem Ansatz zugetropft. Nach 3 h Rühren entfernt man das Lösungsmittel im Vakuum und überschichtet den öligen Rückstand mit wenig MeOH. Nach 4- bis 6-tägiger Lagerung bei ca. 4 °C sollte ein Feststoff isoliert werden.

Bei einigen Reaktionsversuchen wurden unter Verwendung der Strategien 1 – 3 die unter 3.2.1.4 beschriebenen N-freien Tetraalkoxycarbonylcyclohexanone und nie die gewünschten 4-Hydroxytetrahydropyridindiestere erhalten. Außer diesen definierten Nebenprodukten entstanden oft kristallisationshemmende, schmierige Nebenprodukte (Öle und Harze), die die Isolierung der gewünschten Verbindungen erschwerten oder unmöglich machten. Diese fehlgeschlagenen Syntheseveruche sind bei den jeweiligen Synthesebeschreibungen unter 3.2.1.1 sowie 3.2.1.2 tabellarisch zusammengefasst.

3.2.1.1 Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon- säurediester 1 – 3

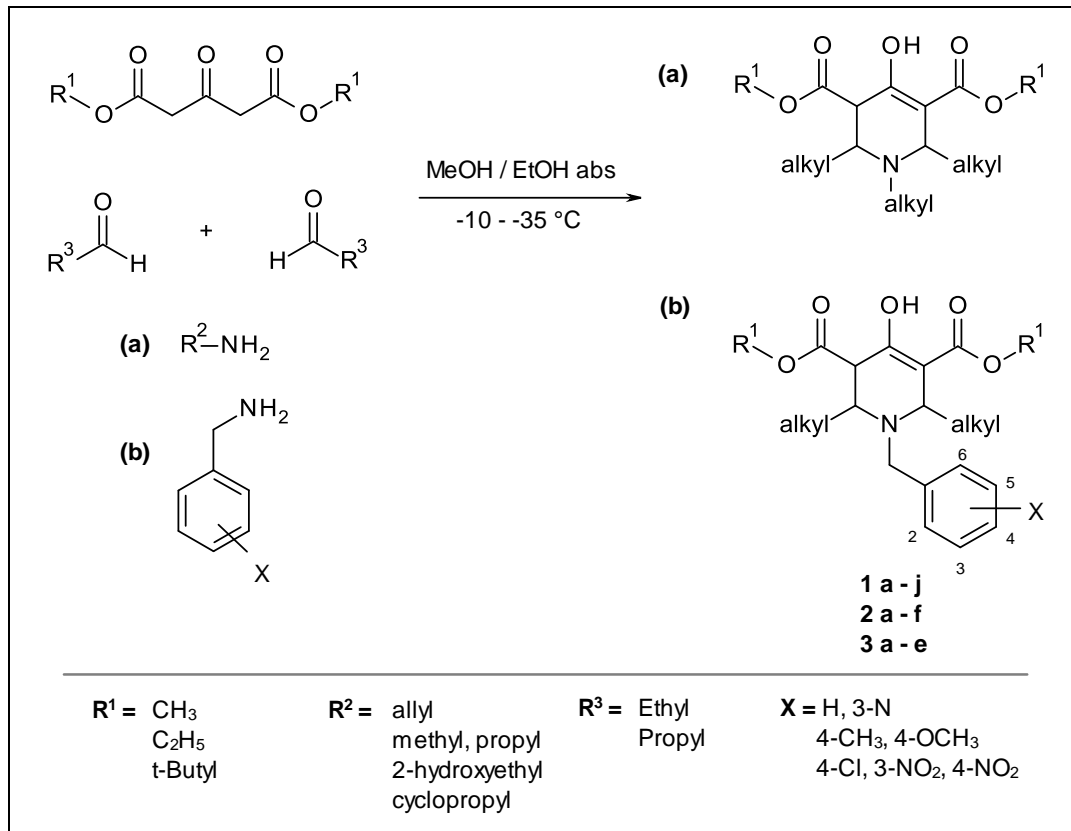
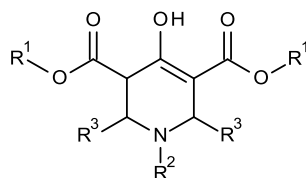


Abbildung 3-3 Syntheschema der 2,6-dialkylsubstituierten 4-Piperidondiesterderivate

Bei der Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säurediester kamen neben verschiedenen Aceton-1,3-dicarbon säureestern aliphatische Aldehyde und aliphatische sowie aromatische Amine zum Einsatz. Die Substanzen 1 – 3 wurden allesamt mit Synthesestrategie 3 hergestellt. Alle anderen Strategien versagten hier und kamen später nicht mehr zur Anwendung. Einen Überblick über die gescheiterten Syntheseversuche der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säurediester gibt Tabelle 3-3.

Da hier die eingesetzten Aldehyde in flüssiger Form vorliegen, kann man generell in einem geringeren Lösungsmittelvolumen arbeiten. Die eingesetzten Komponenten werden in 5 - 7 ml Lösungsmittel gelöst. Beim simultanen Zutropfen der Amin- und

Aldehydkomponente hat es sich als günstig erwiesen, das Amin mit etwas „Vorlauf“- also etwas schneller als das Aldehyd- zuzutropfen.



Substanz (Nr.)	R ¹	R ²	R ³	Synthese- strategie	Isomer
(a) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester					
1a	CH ₃	allyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
1b	CH ₃	3-methylpyridyl	Ethyl	3-B	<i>trans</i> -Enol
1c	CH ₃	benzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
1d	CH ₃	4-methylbenzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
1e	CH ₃	4-methoxybenzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
1f	CH ₃	4-chlorbenzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
1g	CH ₃	benzyl	Propyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
1h	CH ₃	4-methoxybenzyl	Propyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
1i	CH ₃	3-nitrobenzyl	Propyl	3-B	<i>trans</i> -Enol
1j	CH ₃	4-nitrobenzyl	Propyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
(b) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester					
2a	C ₂ H ₅	benzyl	Ethyl	3-B	<i>trans</i> -Enol
2b	C ₂ H ₅	4-methoxybenzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
2c	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
2d	C ₂ H ₅	3-nitrobenzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
2e	C ₂ H ₅	4-nitrobenzyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
2f	C ₂ H ₅	benzyl	Propyl	3-B	<i>trans</i> -Enol
(c) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredi-<i>t</i>-butyl-ester					
3a	<i>t</i> -Butyl	methyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
3b	<i>t</i> -Butyl	propyl	Ethyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
3c	<i>t</i> -Butyl	3-hydroxypropyl	Ethyl	3-B	<i>trans</i> -Enol
3d	<i>t</i> -Butyl	propyl	Propyl	3-B	<i>trans</i> -Enol
3e	<i>t</i> -Butyl	allyl	Propyl	3-A	<i>trans</i> -Enol

Tabelle 3-2 Synthetisierte 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediester

Tabelle 3-2 zeigt die synthetisierten 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säurediester unter Angabe der Synthesestrategie und dem isolierten Isomer. Eine genauere Betrachtung der stereochemischen Eigenschaften wird unter 3.2.1.3 vorgenommen. Es konnten 4-Hydroxytetrahydropyridindiester mit verschiedenen Veresterungen (Methyl, Ethyl und *t*-Butyl), unterschiedlich langen Alkylseitenketten in Position 2 und 6 sowie unterschiedlich substituierten Benzylresten am Stickstoff gewonnen werden. Die folgende Tabelle zeigt die fehlgeschlagenen Syntheseveruche. In einigen Fällen wurde ein Cyclohexanon-Nebenprodukt isoliert (Genaueres dazu siehe unter 3.2.1.4). Oft erhielt man zähe Öle, die eine weitere Aufarbeitung unmöglich machten.

R ¹	R ²	R ³	Synthese- strategie	Reaktionsergebnis (Synthesestrategie)
(a) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säuredimethylester				
CH ₃	propyl	Methyl	1/3/5	Nebenprodukt (5)
CH ₃	benzyl	Methyl	3	Nebenprodukt
CH ₃	propyl	Ethyl	1/3/5	Öl
CH ₃	2-hydroxyethyl	Ethyl	1/3	Nebenprodukt (3)
CH ₃	2-hydroxypropyl	Ethyl	3	Edukte, Öl
CH ₃	2-dimethylaminoethyl	Ethyl	1/3	Nebenprodukt (3)
CH ₃	3-dimethylaminopropyl	Ethyl	3	Nebenprodukt
CH ₃	4-methylbenzyl	Ethyl	3	Nebenprodukt
CH ₃	Methyl	Propyl	3	Öl
CH ₃	propyl	Propyl	1/3/5	Öl
CH ₃	2-dimethylaminoethyl	Propyl	3	Öl
CH ₃	3-hydroxyphenyl	Propyl	2/6	Öl
(b) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säurediethylester				
C ₂ H ₅	propyl	Methyl	1/2/3/5	Nebenprodukt (3/5)
C ₂ H ₅	propyl	Ethyl	1/3/5	Nebenprodukt (3)
C ₂ H ₅	allyl	Ethyl	1/2/3/5	Nebenprodukt (3)
C ₂ H ₅	2-dimethylaminoethyl	Ethyl	2/3	Öl
(c) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säuredi-<i>t</i>-butyl-ester				
<i>t</i> -Butyl	propyl	Methyl	3	Öl

Tabelle 3-3 Gescheiterte Syntheseveruche der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säurediester

3.2.1.2 Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon- säurediester 4 - 6

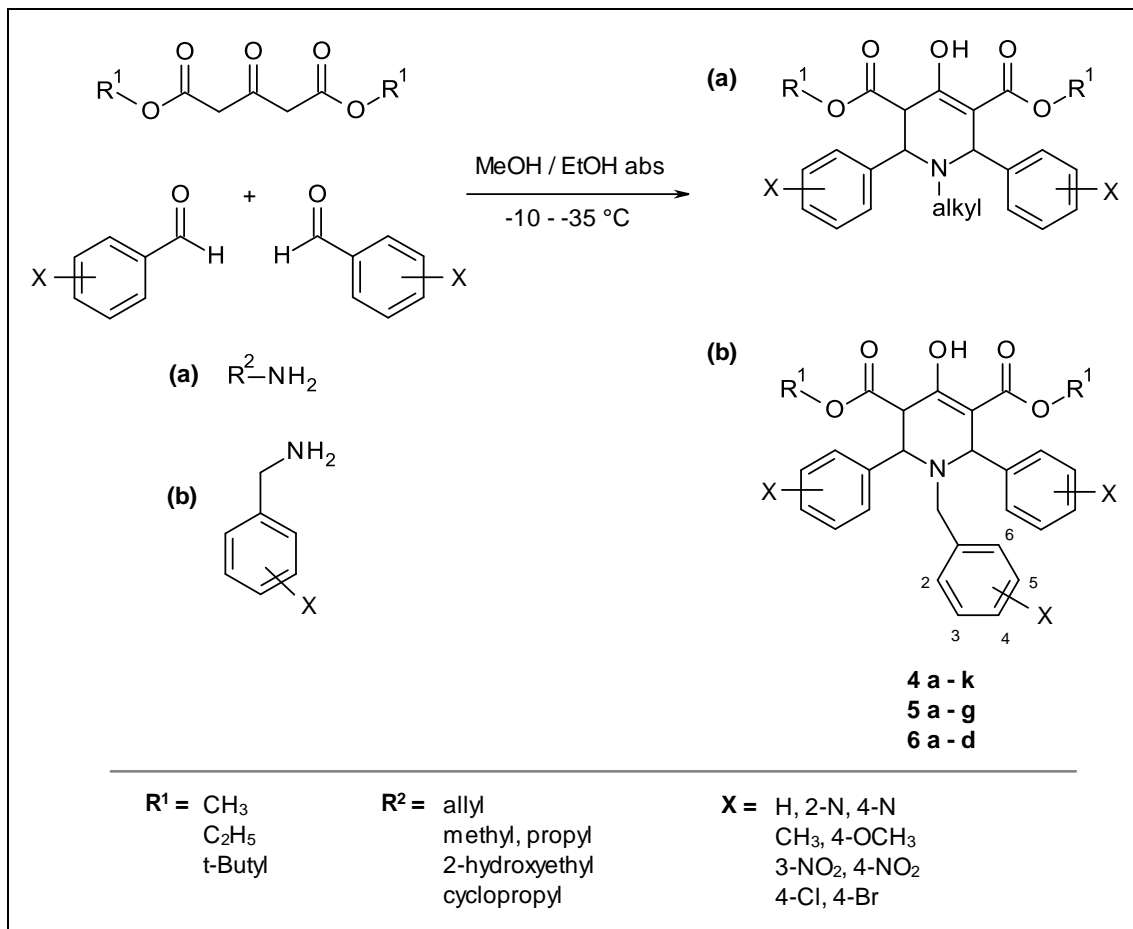
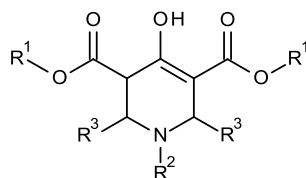


Abbildung 3-4 Syntheschema der 2,6-diarylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridin-diesterderivate

Bei der Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon-
säurediester reagierten 1 Mol Aceton-1,3-dicarbon-
säureester mit 2 Mol aromatischen Aldehyd sowie
1 Mol aliphatischen bzw. aromatischen primären Amin.

Tabelle 3-4 zeigt die erfolgreich hergestellten 2,6-Diaryl-4-hydroxypyridin-3,5-dicarbon-
säurediester mit Angabe der Synthesestrategie und dem isolierten Isomer. Eine genauere
Betrachtung der stereochemischen Eigenschaften wird nachfolgend unter 3.2.1.3 vor-
genommen.



Substanz	R ¹	R ²	R ³	Synthese- strategie	Isomer
(a) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester					
4a ¹³⁵	CH ₃	propyl	2-Pyridyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
4b ¹²¹	CH ₃	allyl	2-Pyridyl	2 und 3-C	<i>trans</i> -Enol
4c ¹³⁵	CH ₃	2-hydroxyethyl	2-Pyridyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
4d	CH ₃	3-methylpyridyl	2-Pyridyl	1	<i>trans</i> -Enol
4e	CH ₃	3-methylpyridyl	4-Pyridyl	3-C	<i>trans</i> -Enol
4f	CH ₃	methyl	3-Nitrophenyl	2	<i>trans</i> -Enol
4g	CH ₃	4-nitrobenzyl	3-Nitrophenyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
4h	CH ₃	methyl	4-Nitrophenyl	2	<i>trans</i> -Enol
4i	CH ₃	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	2	<i>trans</i> -Enol
4j	CH ₃	benzyl	4-Bromphenyl	2	<i>trans</i> -Enol
4k	CH ₃	4-chlorbenzyl	4-Bromphenyl	3-A	<i>trans</i> -Enol
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester					
5a	C ₂ H ₅	allyl	4-Pyridyl	2	<i>trans</i> -Enol
5b	C ₂ H ₅	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	2	<i>trans</i> -Enol
5c	C ₂ H ₅	4-nitrobenzyl	3-Nitrophenyl	3-A	<i>trans</i> -Enol <i>cis</i> -Enol
5d	C ₂ H ₅	3-hydroxypropyl	4-Nitrophenyl	3-D	<i>trans</i> -Enol
5e	C ₂ H ₅	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	2	<i>trans</i> -Enol
5f	C ₂ H ₅	4-methoxybenzyl	4-Nitrophenyl	2	<i>cis</i> -Enol
5g	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	4-Nitrophenyl	3-B	<i>cis</i> -Enol
(c) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredi-<i>t</i>-butyl-ester					
6a	<i>t</i> -Butyl	propyl	Phenyl	3-A	<i>trans</i> -Enol <i>cis</i> -Keton
6b	<i>t</i> -Butyl	allyl	3-Nitrophenyl	2	<i>trans</i> -Enol
6c	<i>t</i> -Butyl	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	2	<i>trans</i> -Enol
6d	<i>t</i> -Butyl	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	3-A	<i>trans</i> -Enol <i>cis</i> -Enol <i>cis</i> -Keton

Tabelle 3-4 Synthetisierte 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediester

Die Verbindungen **4a** – **c** sind bereits literaturbekannt.

Die folgende Tabelle zeigt die Syntheseveruche, bei denen entweder nur ein harziges Öl, die eingesetzten Edukte oder das schon erwähnte Cyclohexanon-Nebenprodukt (siehe unter 3.2.1.4) isoliert wurden.

R ¹	R ²	R ³	Synthese- strategie	Reaktionsergebnis (Synthesestrategie)
(a) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester				
H	Benzyl	2-Pyridyl	2	Öl
H	OH	4-Chlorphenyl	3	Öl
CH ₃	3-methylpyridyl	2-Pyridyl	1/2	Öl
CH ₃	benzyl	2-Pyridyl	2	Öl
CH ₃	3-dimethylaminopropyl	2-Pyridyl	1/2/4/5	Öl
CH ₃	4-phenylbutyl	2-Pyridyl	1/3/5	Öl
CH ₃	3-hydroxypropyl	2-Pyridyl	3	Öl
CH ₃	2-hydroxymethylphenyl	2-Pyridyl	3/6	Öl
CH ₃	3-bromopropyl	2-Pyridyl	3/6	Öl
CH ₃	methyl	4-Pyridyl	5	Nebenprodukt
CH ₃	3-dimethylaminopropyl	4-Pyridyl	1/2/4/5	Öl/ Nebenprodukt (4)
CH ₃	H (aus NH ₄ Br)	3-Nitrophenyl	3-A / 3-D	Nebenprodukt / Öl, Edukt
CH ₃	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	2/3	Nebenprodukt (2)
CH ₃	2-hydroxyethyl	3-Nitrophenyl	3-A	Nebenprodukt
CH ₃	2-dimethylaminoethyl	3-Nitrophenyl	2/3	Öl
CH ₃	6-hexylmethylcarboxylat	3-Nitrophenyl	3-A	Edukte
CH ₃	3-methylpyridyl	3-Nitrophenyl	2/3	Nebenprodukt (2)
CH ₃	4-nitrobenzyl	3-Nitrophenyl	3-A	Edukt
CH ₃	propyl	4-Nitrophenyl	2	Amin
CH ₃	2-hydroxyethyl	4-Nitrophenyl	2/3	Nebenprodukt (2)
CH ₃	3-hydroxypropyl	4-Nitrophenyl	3-A	Nebenprodukt
CH ₃	benzyl	4-Carboxyphenyl	2/3	Öl
CH ₃	4-chlorbenzyl	2,4-Dichlorphenyl	3-C	Öl
CH ₃	benzyl	4-Bromphenyl	4	Ausgangsstoffe
CH ₃	methyl	4-Bromphenyl	4	Nebenprodukt
CH ₃	3-dimethylaminopropyl	4-Bromphenyl	4	Nebenprodukt
CH ₃	4-chlorbenzyl	4-Bromphenyl	3	Nebenprodukt*

Tabelle 3-5 (Teil I von II)

R ¹	R ²	R ³	Synthese- strategie	Reaktionsergebnis
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester				
C ₂ H ₅	3-hydroxypropyl	2-Pyridyl	3	Öl
C ₂ H ₅	3-bromopropyl	2-Pyridyl	3/6	Öl
C ₂ H ₅	3-dimethylaminopropyl	2-Pyridyl	1/3/5	Öl
C ₂ H ₅	3-methylpyridyl	2-Pyridyl	1/3/5	Öl
C ₂ H ₅	methyl	4-Pyridyl	1/3/5	Edukte
C ₂ H ₅	3-dimethylaminopropyl	4-Pyridyl	1/2/3/4/5	Öle
C ₂ H ₅	2-hydroxymethylphenyl	4-Pyridin	3/6	Öl
C ₂ H ₅	3-methylpyridyl	4-Pyridyl	3	Öl
C ₂ H ₅	propargyl	3-Nitrophenyl	3	Öl/ Edukt
C ₂ H ₅	4-nitrobenzyl	4-Nitrophenyl	2/3	Azomethin
C ₂ H ₅	2-hydroxyethyl	4-Nitrophenyl	2/3	Öl
C ₂ H ₅	benzyl	4-Bromphenyl	4	Nebenprodukt
C ₂ H ₅	methyl	4-Bromphenyl	4	Nebenprodukt
(c) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredi-<i>t</i>-butyl-ester				
<i>t</i> -Butyl	3-dimethylaminopropyl	Phenyl	3	Edukt
<i>t</i> -Butyl	2-dimethylaminoethyl	4-Nitrophenyl	2/3	Öl/ Edukt

Tabelle 3-5 (Teil II von II) Gescheiterte Synthesversuche der 2,6-Diaryl-4-hydroxypyridin-3,5-dicarbonsäurediester; * hier konnte aus dem Filtrat noch das gewünschte Produkt isoliert werden

In einem Fall wurde ein Azomethin isoliert, das durch die Reaktion der beiden Amin- bzw. Aldehydkomponenten entstand. Dieses eigentlich typische Zwischenprodukt bei Mannich-Reaktionen ist in Abbildung 3-5 dargestellt.

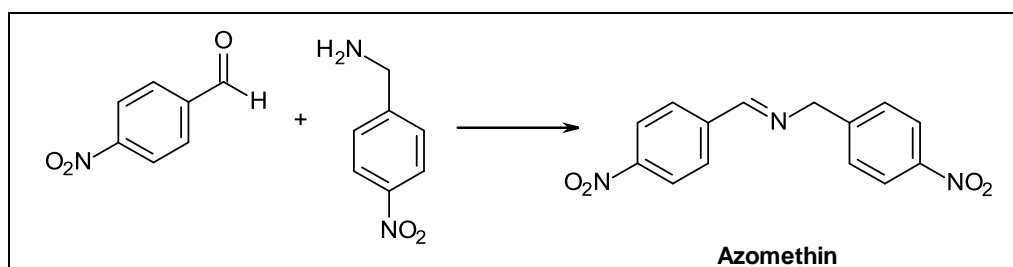


Abbildung 3-5 isoliertes Nebenprodukt (Azomethin)

3.2.1.3 Stereochemische Betrachtungen der 4-Hydroxy-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonyldiesterderivate

Die synthetisierten Verbindungen **1** – **6** liegen aufgrund ihres hohen Substitutionsgrades überwiegend als reine, thermodynamisch stabile *trans*-Enole vor. Die Stellung der verschiedenen Substituenten wurde bereits unter 3.1.2 beschrieben. Als Beispielspektren werden hier die des 2,6-dialkylierten Diesters **1d** und des 2,6-diarylsubstituierten Diesters **4f** gezeigt (siehe Abbildung 3-6).

In den ^1H -Spektren erkennt man deutlich die unterschiedlichen Signallagen der Protonen H2, H5 und H6. Während sie beim Dialkyldiester zwischen 3.1 und 3.4 ppm zu finden sind, liegen sie beim Diaryldiester aufgrund der aromatischen Substituenten tieffeldverschoben zwischen 3.9 und 4.8 ppm. Die entsprechenden Kopplungskonstanten von H2 mit den Protonen der Seitenkette betragen bei den Dialkyldiestern immer 9 bis 11 und 3 bis 6 Hz. Dies lässt darauf schließen, dass die 2 benachbarten Protonen der Seitenkette nicht äquivalent sind, da eine Behinderung der freien Drehbarkeit der Alkylketten an C2 und C6 auftritt. H2 und H6 bilden durch die zusätzliche Kopplung mit den benachbarten Protonen der Alkylseitenkette ein doppeltes Dublett bzw. doppeltes Triplett. Bei den 2,6-Diaryldiestern ergibt H2 aufgrund seiner isolierten Stellung ein Singulett und H6 durch die vicinale Kopplung mit H5 ein Dublett. Das Signal des Protons der enolischen Hydroxygruppe erscheint bei den 2,6-dialkylierten Verbindungen zwischen 12.1 und 12.2 ppm, bei den 2,6-Diarylverbindungen leicht zu tiefem Feld verschoben bei $\delta = 12.4 - 12.7$ ppm. Die auffälligsten Unterschiede zwischen den 2,6-dialkylierten und 2,6-diarylsubstituierten Diestern im ^{13}C -Spektrum sind die Signalverschiebungen der Kohlenstoffatome C2 und C6. Sie sind bei den Substanzen mit den aromatischen Resten in Position 2 und 6 im Gegensatz zu denen mit Alkylseitenketten um $\Delta\delta \approx 5$ ppm tieffeldverschoben.

Die Verbindungen **5f** und **5g** wurden als reine *cis*-Enole isoliert, **5c** als Isomerengemisch aus *cis*- und *trans*-Enol. Bei den literaturbekannten Substanzen **4a** und **4b** sowie bei der Verbindung **6a** wurden Isomerengemische aus *trans*-Enol mit einem geringen Anteil an *cis*-Keton. **6d** wurde sogar als 3-Komponentengemisch bestehend aus *cis*- und *trans*-Enol

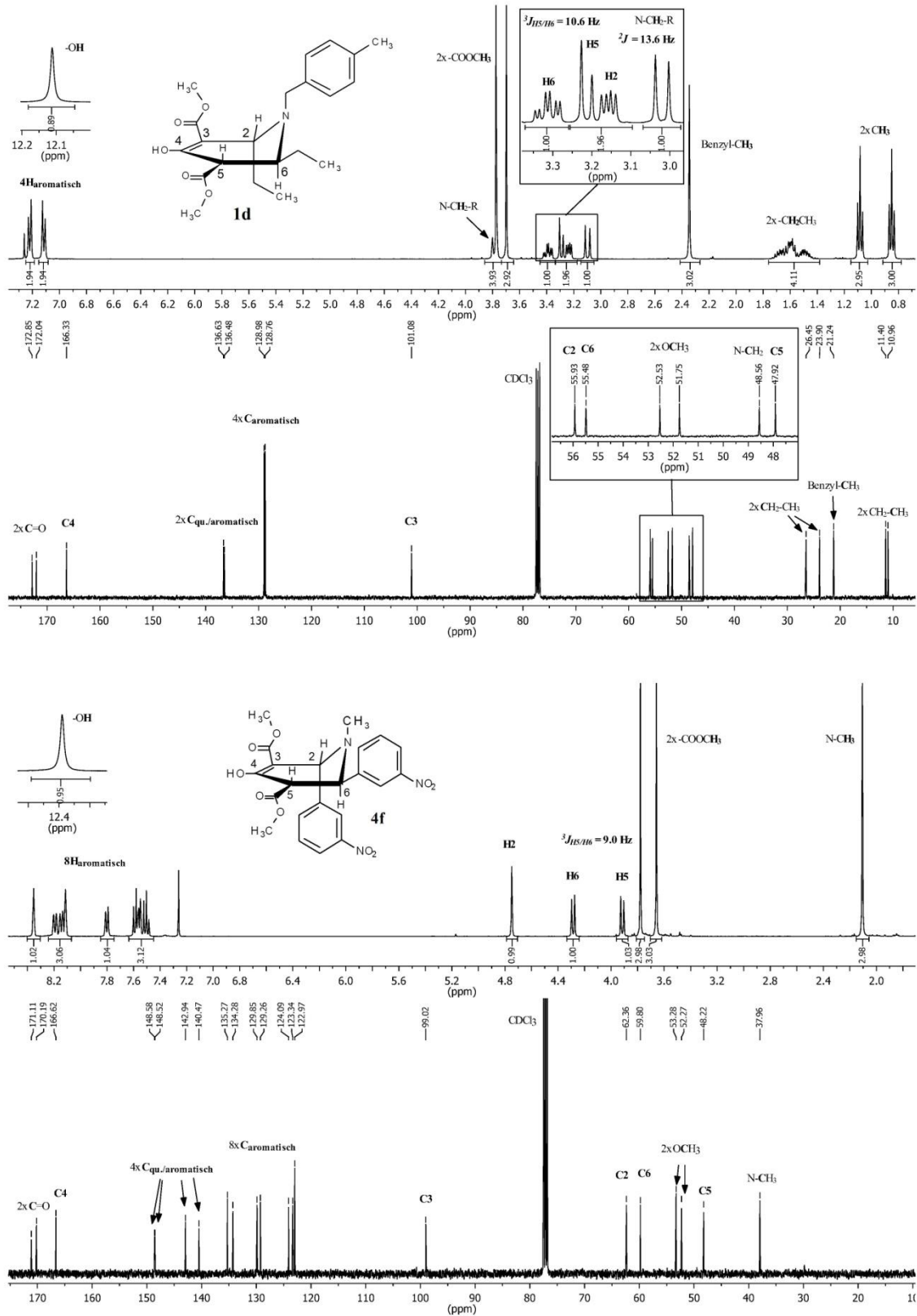


Abbildung 3-6 ¹H und ¹³C-Spektrum von Verbindung **1d** und **4f** als Beispiele für reine *trans*-Enole

sowie *cis*-Keton isoliert. Bei der Synthese der 2,6-dialkylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridindiestere **1** - **3** traten in keinem Fall *cis*-Ketone oder -Enole auf.

In Tabelle 3-6 und Tabelle 3-7 sind die chemischen Verschiebungen der wichtigsten Signale verschiedener Isomere zusammengefasst. Zum direkten Vergleich des Ketons mit dem Enolisomer wird das Spektrum von **6a** herangezogen. Zur anschaulichen Darstellung der NMR-spektroskopischen Unterschiede zwischen *cis*- und *trans*-Enol dient schließlich das ^1H - und ^{13}C -Spektrum von Verbindung **5c**.

	H2	H3	H5	H6
(a) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridindiestere				
<i>trans</i> -Enol				
1d	3.24 (dd, 9.5/5.1)	-	3.29 (d, 10.6)	3.39 (dt, 10.6/ 4.3)
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridindiestere				
<i>cis</i> -Keton				
6a	4.30 (d, 10.9)	3.75 (d, 10.9)	3.75 (d, 10.9)	4.30 (d, 10.9)
6d	4.41 (d, 11.2)	3.85 (d, verdeckt)	3.85 (d, verdeckt)	4.41 (d, 11.2)
<i>cis</i> -Enol				
5c	4.78 (d, 1.6)	-	~ 4.1 (verdeckt)	4.46 (d, 9.6)
5f	4.84 (d, 1.8)	-	3.90 (dd, 9.6/ 1.8)	4.44 (d, 9.6)
5g	4.82 (d, 1.5)	-	3.95 (dd, 9.9/ 1.5)	4.47 (d, 9.9)
6d	4.76 (d, 1.3)	-	3.85 (dd, 7.5/1.3)	4.45 (d, 7.5)
<i>trans</i> -Enol				
5c	4.65 (s)	-	4.00 (d, 9.0)	4.51 (d, 9.0)
6a	4.73 (s)	-	3.82 (d, 10.4)	4.38 (d, 10.4)
6d	4.70 (s)	-	3.96 (d, 9.0)	4.37 (d, 9.0)

Tabelle 3-6 ^1H -NMR-Daten verschiedener Isomere ausgewählter 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridindiestere

Der Unterschied zwischen Keton- und Enolisomer ist anhand der Signallagen recht deutlich zu erkennen (siehe Tabelle 3-6, Tabelle 3-7 sowie Spektren in Abbildung 3-7).

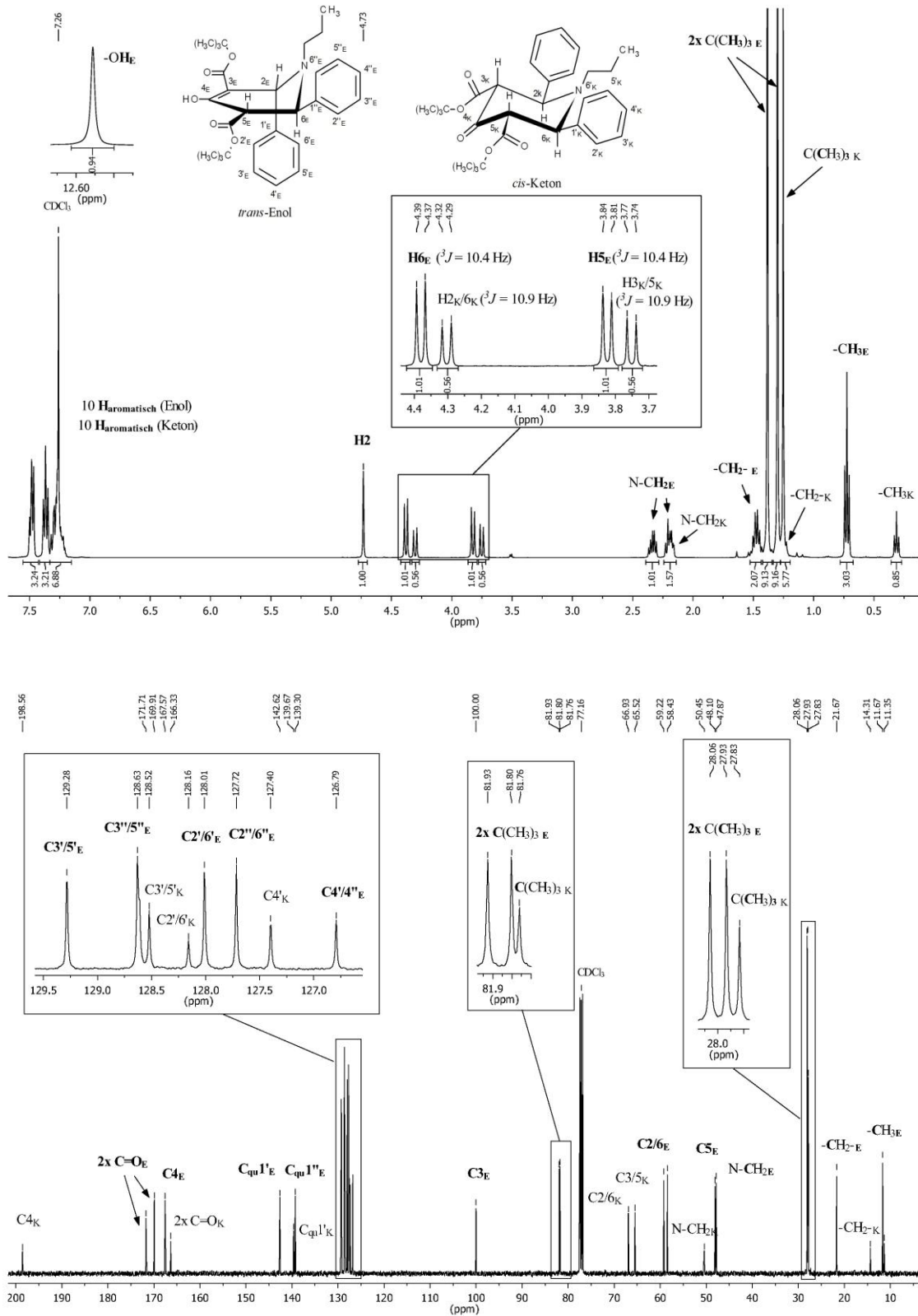


Abbildung 3-7 Struktur, ¹H- und ¹³C-Spektrum von Verbindung 6a

Im ^1H - und ^{13}C -Spektrum von **6a** sieht man deutlich den einfachen Signalsatz des Enols im Vergleich zum halben Signalsatz des symmetrischen Ketons. Jedes Proton und C-Atom (bis auf die äquivalenten Protonen bzw. C-Atome der Benzylringe) ergibt 1 separates Signal. Signifikant für das Enol ist das Signal der enolischen OH-Gruppe im ^1H -Spektrum zwischen $\delta = 12 - 13$ ppm sowie das isolierte Singulett für das Proton H2 zwischen $\delta = 4.5 - 5.0$ ppm. Wie dem ^1H -Spektrum von **6a** zu entnehmen ist, liegen die Signale des Enols im Vergleich zu den Signallagen des Ketons leicht tieffeldverschoben. Während das Keto-Tautomer im ^{13}C -Spektrum durch die typische Resonanz der $\text{C}_4=\text{O}$ -Gruppe bei $\delta \approx 200$ ppm und ein Signal bei $\delta \approx 66$ ppm für C3 und C5 gekennzeichnet ist, findet man für das Enol die Signale für C4 bei $\delta \approx 167$ ppm und C3 bei $\delta \approx 100$ ppm (siehe Abbildung 3-7). Der Vergleich der Signallagen zwischen den jeweiligen *cis*- und *trans*-Enolen der 2,6-diarylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridinester **5c** und **6d** lässt im ^1H -Spektrum keine großen Unterschiede in den chemischen Verschiebungen erkennen (siehe Tabelle 3-6 und Spektrum in Abbildung 3-8), obgleich das Proton H2 im *cis*-Enol eine equatoriale und im *trans*-Enol eine axiale Stellung einnimmt. Dies steht im Gegensatz zu früheren Beobachtungen, bei denen das Signal des Protons H2 im *trans*-Enol im Vergleich zur *cis*-Verbindung um ca. 0.5 ppm tieffeldverschoben war.¹³² Hier hingegen ist die Lage des Protons H2 bei den *trans*-Enolen leicht hochfeldverschoben. Das Signal des Protons der enolischen Hydroxylgruppe ist im *cis*-Enol gegenüber dem *trans*-Enol um ca. 0.2 ppm hochfeldverschoben, genauso wie das doppelte Dublett der benzyllischen CH_2 -Gruppe (siehe ^1H -Spektrum von **5c** in Abbildung 3-8). Die Signale der 2 Methyl-estersubstituenten liegen beim *trans*-Enol um ca. 0.2 ppm voneinander getrennt, während sie beim *cis*-Enol bei der gleichen chemischen Verschiebung zu finden sind. Bei allen *cis*-Enolen fällt eine Kopplung des Protons H2 mit H5 von 1.5 bis 1.8 Hz auf (siehe Tabelle 3-6). H2 erscheint als Dublett und H5 als doppeltes Dublett. Diese Kopplung wurde schon bei einigen literaturbekannten *cis*-Enolen festgestellt.¹³² Die entsprechenden Kopplungskonstanten $^5J_{\text{H2/H5}}$ lagen bei diesen zwischen 2 und 2.5 Hz. Bei den *trans*-Enolen wurde diese Kopplung nur in sehr wenigen Fällen beobachtet. Die Kopplungskonstante war dann jedoch kleiner als bei den *cis*-Enolen und betrug ca. 0.6 Hz.¹³² Bei dem hier synthetisierten *trans*-Enol **6b** trat eine Kopplung des Protons H2 mit H5 auf ($J_{\text{H2/H5}} = 0.7$ Hz).

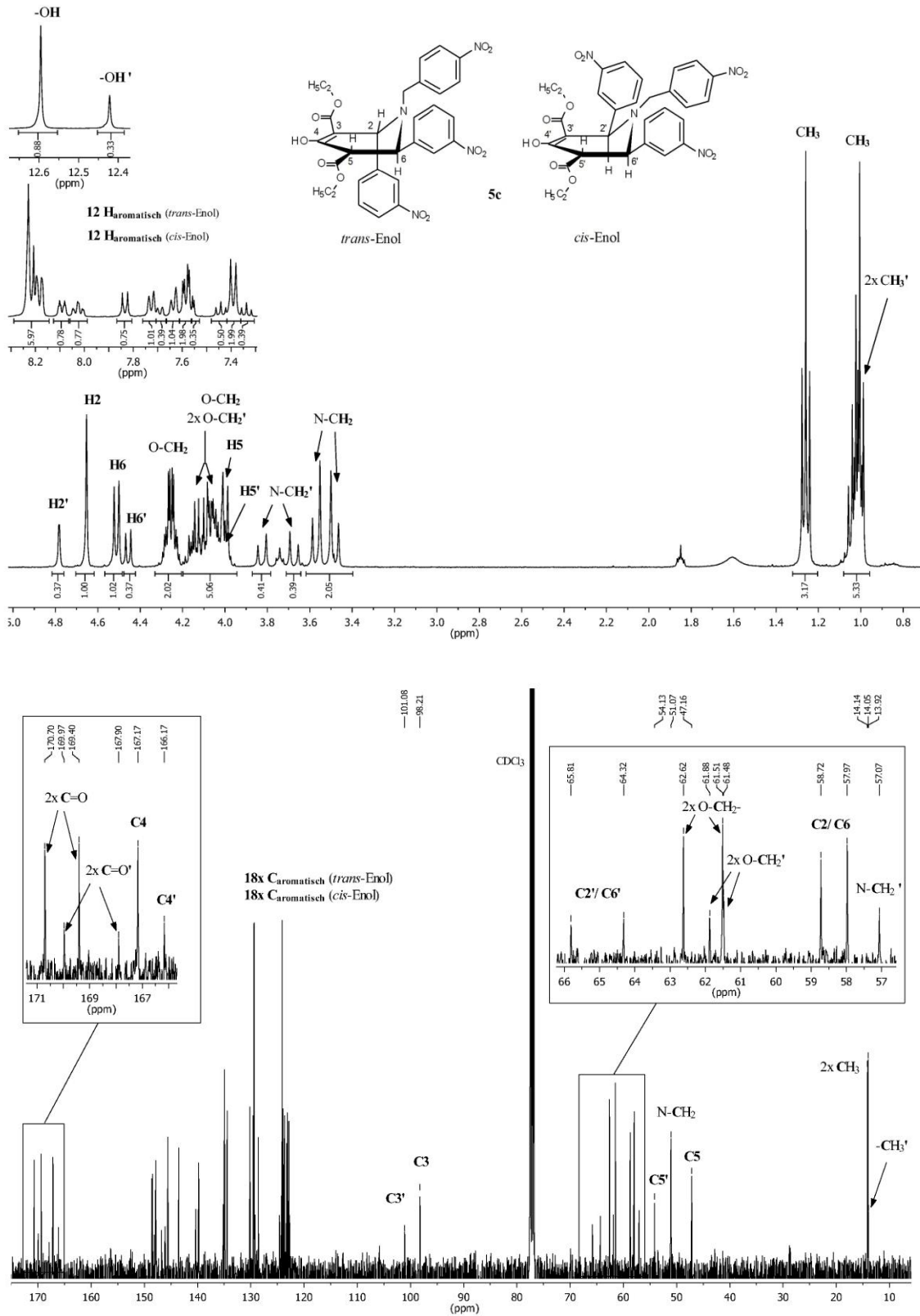


Abbildung 3-8 ¹H- und ¹³C-Spektrum von Verbindung 5c (*cis*-/*trans*-Enol-Gemisch)

Auch wenn die Unterschiede der Signallagen der 2 verschiedenen Enole im ^1H -Spektrum im Vergleich zu den Literaturangaben nicht auf eine *cis-trans*-Isomere hindeuten, lassen sich die *cis*-Enole anhand der Verschiebungen im ^{13}C -Spektrum jedoch recht gut von den *trans*-Enolen unterscheiden (siehe Tabelle 3-7). Die *cis*-Enole zeichnen sich durch deutlich tieffeldverschobene Signale ($\Delta\delta \approx 3\text{-}7$ ppm) für die Kohlenstoffatome C2, C5 und C6 im Vergleich zu den *trans*-Enolen aus (siehe Tabelle 3-7 und Spektrum in Abbildung 3-8). Dies steht im Einklang mit früheren Beobachtungen.¹³² Zusätzlich ist C3 leicht zu tieferen Feld verschoben. Anhand des ^{13}C -Spektrums des Isomerengemisches **5c** als Beispiel für den Unterschied zwischen *cis*- und *trans*-Enol lässt sich dies sehr gut erkennen (siehe Abbildung 3-8).

	C2	C3	C4	C5	C6	C=O
(a) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridindiestere						
<i>trans</i> -Enol						
1d	55.9	101.1	166.3	47.9	55.5	172.0/172.9
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridindiestere						
<i>cis</i> -Keton						
6a	66.9	65.5	198.6	65.5	66.9	166.3
6d	70.4	62.9	n.b.	62.9	70.4	166.7
<i>cis</i> -Enol						
5c	64.3	101.1	166.2	54.1	65.8	167.9/170.0
5f	61.7	101.2	166.0	54.7	64.6	169.1/170.1
5g	62.1	101.1	166.0	54.6	64.9	167.9/170.0
6d	65.5	101.7	167.4	52.2	64.2	167.7/167.9
<i>trans</i> -Enol						
5c	58.7	98.2	167.2	47.0	58.0	169.4/170.1
6a	59.2	100.0	167.6	48.1	58.4	169.9/171.7
6d	62.5	100.4	167.1	48.7	60.4	168.8/170.6

Tabelle 3-7 ^{13}C -NMR-Daten der verschiedenen Isomere ausgewählter 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridindiestere; n.b. = nicht bestimmbar, da Signal zu schwach

3.2.1.4 Nebenprodukte der Piperidonsynthese

Bei bestimmten Reaktionsbedingungen der Doppel-Mannich-Reaktion entstanden nicht die gewünschten 4-Hydroxytetrahydropyridin-Derivate, sondern stickstofffreie Neben-

produkte, die sich nach genauerer spektroskopischer Untersuchung als Tetraalkoxy-carbonylcyclohexanon-Verbindungen identifizieren ließen (siehe Abbildung 3-9). Diese kristallisierten schneller aus den Reaktionsansätzen als die 4-Hydroxytetrahydropyridin-carbonsäureester und waren somit, sofern sie entstanden, viel einfacher zugänglich als das gewünschte Produkt.

Die Cyclohexanone wurden schon mehrfach als Nebenprodukte der Piperidonsynthese beschrieben.^{136,137} Sie entstehen durch eine basenkatalysierte intramolekulare Aldolkondensation zweier Moleküle des Acetondicarbonsäuredialkylesters mit einem Molekül des jeweils eingesetzten Aldehyds. Das bei den Reaktionen eingesetzte primäre Amin reagierte dabei nicht.

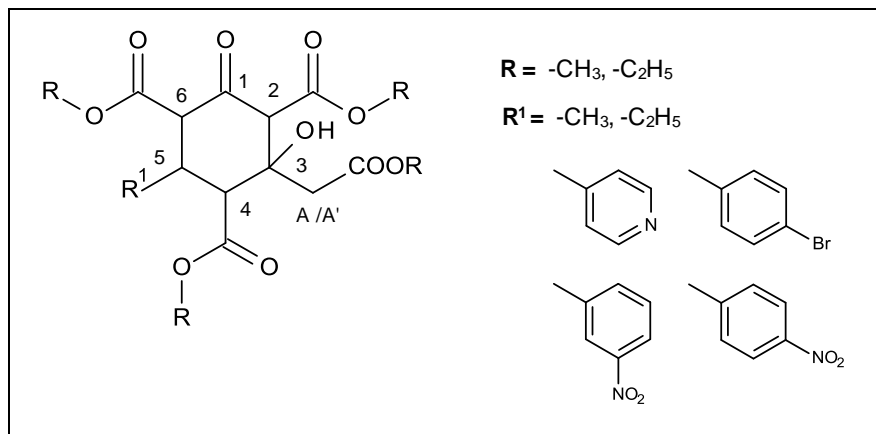


Abbildung 3-9 isolierte Nebenprodukte

Im Vergleich dazu erhielten *Kuhl et al.* beim Syntheseversuch eines 4-Piperidonderivats aus 1,5-Diphenylpentantrion, 4-Chlorbenzaldehyd und Methylamin in einem Aceton/Methanol-Gemisch ebenfalls ein N-freies Nebenprodukt, das den hier beschriebenen Nebenprodukten sehr ähnlich ist und sich als 2,6-Dibenzoyl-5-(4-chlorphenyl)-3-methyl-cyclohex-2-en-1-on herausstellte.¹³⁸ Hierbei reagierte 1 Mol Aceton aus dem Lösungsmittel mit 1 Mol 1,5-Diphenylpentan-1,3,5-trion durch eine Knoevenagel-Kondensation. Das entstandene Zwischenprodukt reagierte im Sinne einer Aldolkondensation mit 1 Mol 4-Chlorbenzaldehyd, ehe es durch eine intramolekulare Michael-Addition zur Bildung des Cyclohexenons (siehe Abbildung 3-10) kam.

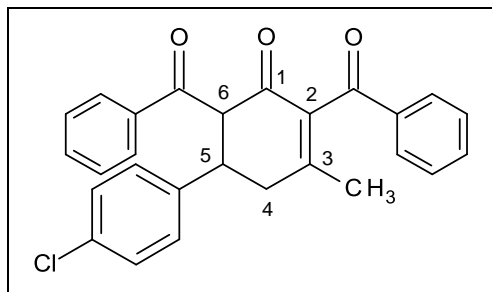


Abbildung 3-10 Struktur des Cyclohexenons

Bei einigen Reaktionen konnten selbst nach mehrmaliger Wiederholung mit Variation der Reaktionsbedingungen (Zutropfgeschwindigkeit, Reihenfolge des Zutropfens, Temperatur) nur die Cyclohexanon-Nebenprodukte isoliert werden. Wahrscheinlich begünstigt ein zu langsames Zutropfen des Amins zum Reaktionsansatz im Vergleich zur Zutropfgeschwindigkeit des Aldehyds das Entstehen dieser unerwünschten Verbindungen. Eventuell sind einige der eingesetzten Aminkomponenten zu inaktiv, d.h. zu wenig nucleophil um reagieren zu können. Gerade beim Einsatz der Dimethylaminoalkylamine kam es auffällig oft zur Bildung der Cyclohexanone. Diese Amine scheinen für die Mannich-Reaktion nicht geeignet. Jedoch ließ sich die Doppel-Mannichreaktion mit den anderen hier eingesetzten Aminen in anderen Kombinationen erfolgreich durchführen. Generell sollte für das Gelingen der Mannich-Reaktion das Amin eine höhere Nucleophilie aufweisen als die eingesetzte CH-acide Verbindung, da ansonsten die Aldolreaktion zwischen der Aldehydkomponente und der CH-aciden Verbindung bevorzugt ist. Das Arbeiten bei höheren Temperaturen begünstigt ebenfalls die Bildung der Nebenprodukte.

Teilweise fiel das Nebenprodukt schon beim bzw. kurz nach dem Zugeben der einzelnen Reaktionskomponenten aus. In diesem Fall wurde der erhaltene, großvolumige Niederschlag abfiltriert und mit dem Filtrat nach den unter 3.2.1 beschriebenen Methoden weiterverarbeitet. Dadurch konnte in einigen wenigen Fällen der gewünschte 4-Hydroxytetrahydropyridinester doch noch in geringer Ausbeute erhalten werden.

Als Beispiel soll nachfolgend im Vergleich zu dem von *Kuhl et al.* isolierten Cyclohex-2-en-1-on das 2,4,6-Tri(methoxy-carbonyl)-3-methoxycarbonylmethyl-3-hydroxy-5-(3-nitrophenyl)cyclohexan-1-on besprochen werden. Dieses entstand als Nebenprodukt bei

dem Syntheseversuch des 1-Cyclopropyl-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-dimethylesters, der durch die Reaktion von einem Äquivalent Acetondicarbonsäuredimethylester und Cyclopropylamin mit zwei Äquivalenten 3-Nitrobenzaldehyd erhalten werden sollte.

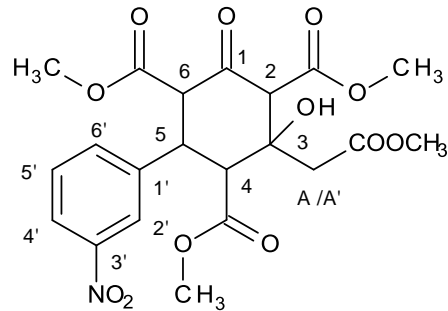


Abbildung 3-11 Struktur des Nebenprodukts 2,4,6-Tri(methoxycarbonyl)-3-methoxycarbonylmethyl-3-hydroxy-5-(3-nitrophenyl)cyclohexan-1-on

Die Auswertung des ^1H -Spektrums spricht für eine cyclische Struktur, die auch schon von *Hänsel* und *Haller* beschrieben wurde.¹³⁶ Beleg dafür sind die 4 einzelnen Signale der Methoxygruppen bei 3.33, 3.46, 3.63 und 3.67 ppm, die die Nichtäquivalenz dieser und damit eine asymmetrische Struktur des Cyclohexanons widerspiegeln. Dies widerspricht den ersten Annahmen über die Struktur des Nebenproduktes, die von einer symmetrischen Alkylden-*bis*-Verbindung ausgingen.¹³⁹

Wie dem Spektrum zu entnehmen ist, erscheint das nicht-koppelnde Proton an C2 als isoliertes Singulett bei 4.77 ppm, H5 als Triplett bei 4.13 ppm und die jeweils benachbarten Protonen H4 (teilweise verdeckt durch das Signal einer Methoxygruppe) und H6 als Dublett bei 3.69 bzw. 4.60 ppm. Die vicinalen Kopplungskonstanten $^3J_{4,5}$ und $^3J_{5,6}$ betragen 12.1 und 12.4 Hz. Diese Kopplungskonstanten weisen auf eine diaxiale Stellung der Protonen hin.¹⁴⁰ Daher ist eine Sesselkonformation des Nebenproduktes anzunehmen (siehe Abbildung 3-13).

In dem Cyclohex-2-en-1-on-Derivat ist aufgrund der Doppelbindung kein Proton an C2 und in Position 3 nur eine Methylgruppe vorhanden. Diese ergibt im ^1H -Spektrum ein Singulett bei $\delta = 1.93$ ppm. Logischerweise findet man hier kein Signal für H2 sowie die Hydroxylgruppe. Position 4 trägt keinen Substituenten, sondern nur zwei Protonen, die

zwischen $\delta = 2.8 - 3.1$ ppm erscheinen. Das Proton H5 zeigt eine ähnliche chemische Verschiebung wie das in dem Cyclohexanon-Nebenprodukt ($\delta = 4.18$ ppm), ergibt jedoch aufgrund der höheren Anzahl an Protonen in der direkten Nachbarschaft ein doppeltes Triplet. H6 ist wegen des Ringstromeffektes der benachbarten Benzoylgruppe mehr tief-feldverschoben ($\delta = 5.47$ ppm) als das Proton H6 des Cyclohexanons.

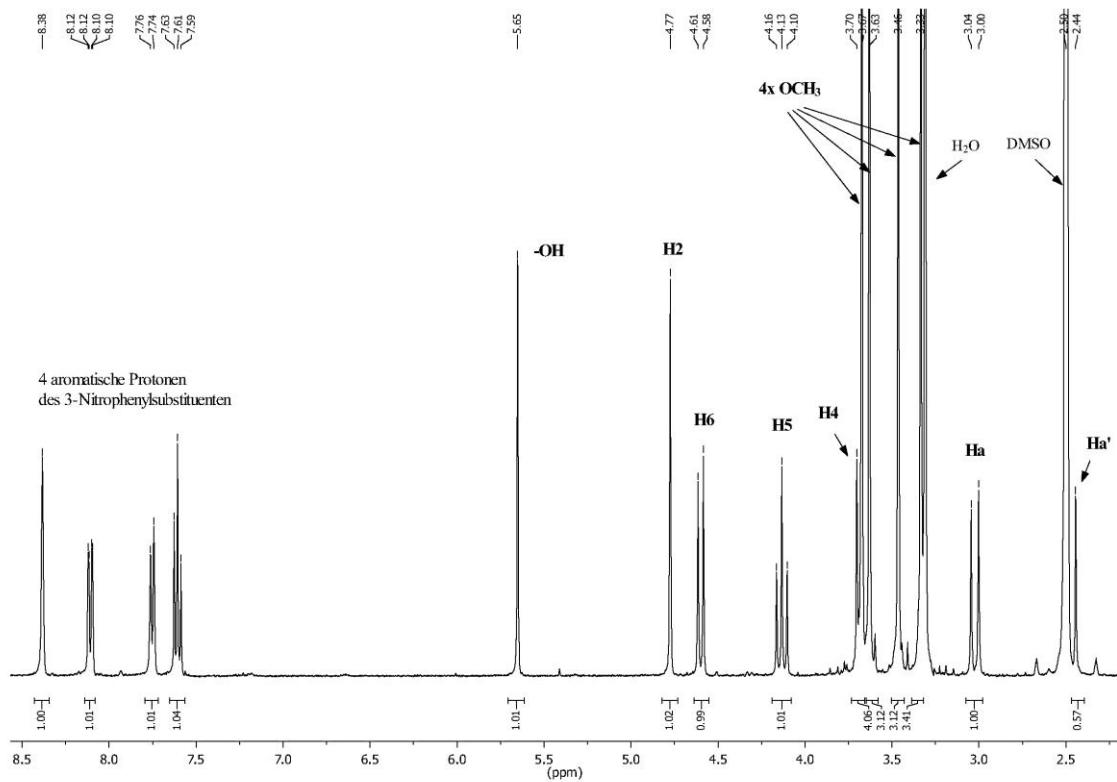


Abbildung 3-12 ¹H-Spektrum des Nebenproduktes 2,4,6-Tri(methoxycarbonyl)-3-methoxycarbonylmethyl-3-hydroxy-5-(3-nitrophenyl)cyclohexan-1-on

Eine Enolisierung, wie bei den 4-Hydroxytetrahydropyridinestern, tritt bei den Cyclohexanon-Nebenprodukten nicht auf. Die intensive ν -OH-Bande im IR-Spektrum zwischen 3500 und 3400 cm^{-1} stammt von der Hydroxylgruppe an C2 und nicht von einem Enol. Im NMR-Spektrum erscheint das Signal des OH-Protons in DMSO zwischen 5.4 und 5.7 ppm, in CDCl_3 bei ca. 4.7 ppm. Das Signal eines enolischen Protons würde bei weit über 10 ppm zu finden sein (siehe 4-Hydroxytetrahydropyridinester).

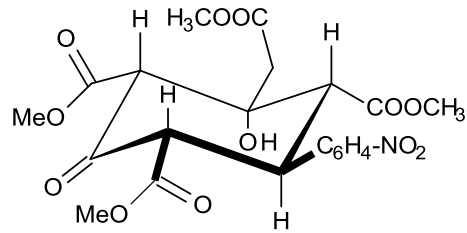
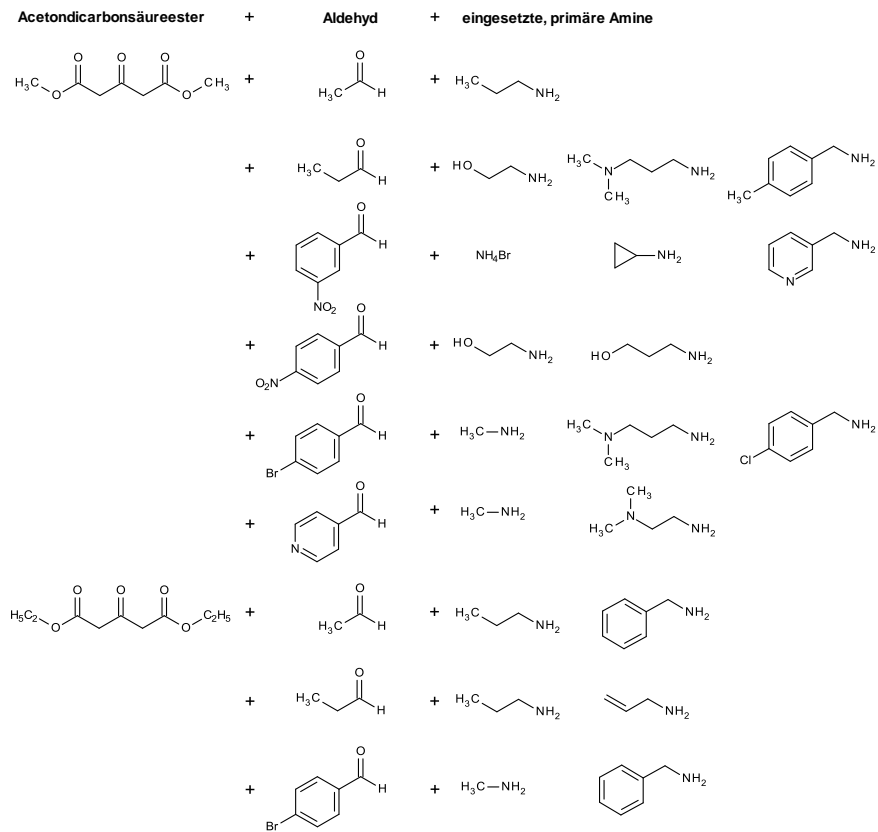


Abbildung 3-13 Sesselkonformation des Cyclohexanon-Derivates

Bei folgenden Syntheseversuchen konnten jeweils nur die beschriebenen Nebenprodukte isoliert werden:



Nicht nur beim Einsatz von aromatischen Aldehyden, sondern auch bei Verwendung von aliphatischen Aldehyden als Ausgangsstoffe, entstanden bei einigen Syntheseversuchen die Nebenprodukte.

3.2.2 Versuche zur Synthese der 2,6-Dialkyl-/aryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester 7 - 10

3.2.2.1 Synthesestrategie zum Erhalt der Verbindungen 7 und 8

Synthesestrategie 1 (modifiziert nach^{114,122}): Bei der Synthese der Monoester geht man von 2,4,6-Trioxotetrahydropyran aus, das man durch die Umsetzung von Acetondicarbonsäure mit Acetanhydrid in Eisessig erhält.¹⁴¹ Das 2,4,6-Trioxotetrahydropyran wird mit dem entsprechenden Alkohol (Methanol oder Ethanol abs.) zum Acetondicarbonsäuremonoester umgesetzt. Durch anschließendes paralleles Zutropfen des entsprechenden primären Amins und der Aldehydkomponente bei -20 bis -35 °C entsteht unter Decarboxylierung der 4-Hydroxytetrahydropyridinmonoester.

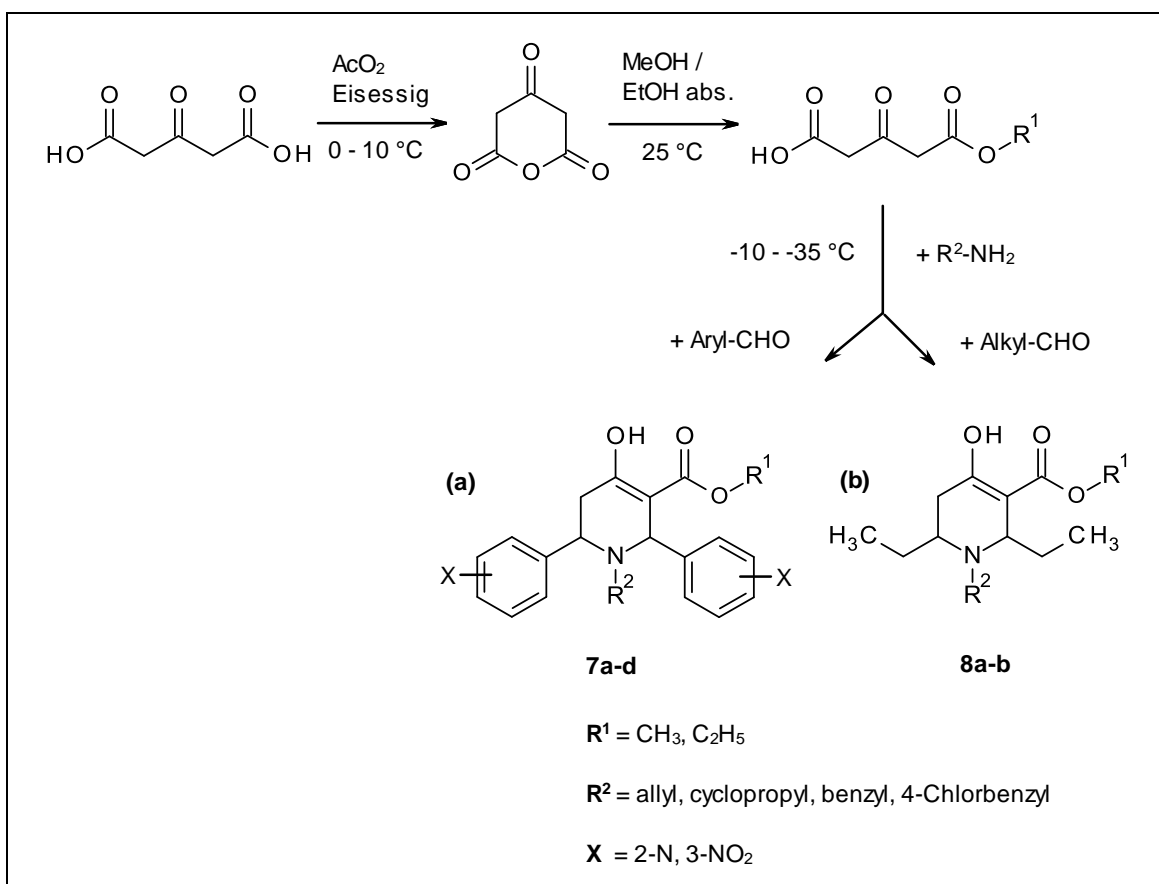


Abbildung 3-14 Syntheschema der (a) 2,6-Diaryl- und (b) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester

Substanz	R ¹	R ²	R ³	isoliertes Isomer
(a) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäuremethylester				
7a	CH ₃	benzyl	2-Pyridyl	<i>trans</i> -Enol/-Keton
7b	CH ₃	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	<i>cis</i> -Enol
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureethylester				
7c	C ₂ H ₅	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	<i>cis</i> -Enol
7d	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	3-Nitrophenyl	<i>trans</i> -Enol
(c) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäuremethylester				
8a	CH ₃	4-chlorbenzyl	Ethyl	<i>trans</i> -Enol
8b	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	Ethyl	<i>trans</i> -Enol

Tabelle 3-8 Nach Strategie 1 synthetisierte 2,6-Diaryl/-alkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester mit Angabe des isolierten Isomers

Mit dieser Synthesestrategie ließen sich zum ersten Mal 4-Hydroxytetrahydropyridin-monoester mit Nitrophenylsubstitution erhalten. Einige tragen die gewünschte Ethylesterfunktion, so dass eine Zielverbindung erhalten werden konnte (siehe unter Ziele der Arbeit). Neben Monoesterderivaten mit aromatischen Substituenten in den Positionen 2 und 6 konnten auch Verbindungen mit aliphatischen Resten in den genannten Positionen erfolgreich synthetisiert werden.

Diese Methode führte aber trotz vielfältiger Variationen der Reaktionsbedingungen (Temperatur, Geschwindigkeit und Reihenfolge des Zutropfens) nur in wenigen Fällen zum gewünschten Produkt. Teilweise wurden die Nitrobenzaldehyde nicht simultan mit dem Amin dem Reaktionsansatz zugegeben, sondern selbst in THF abs. vorgelegt. Anschließend wurden die anderen Komponenten (Monoester und Amin) zugetropft, was jedoch nicht zum Erfolg führte. Wie bei den Diesterderivaten entstanden in den meisten Fällen ölige, harzige Mehrkomponentengemische, aus denen sich die gewünschten Monoester nicht isolieren ließen. Tabelle 3-9 gibt eine Übersicht über die erfolglosen Syntheseveruche verschiedener 4-Hydroxytetrahydropyridinmonocarbonsäureester.

Da Ethylester mit Nitrophenylsubstituenten eine bessere Bioverfügbarkeit mit einer erhöhten Wirksamkeit kombinieren, war es weiterhin ein Ziel, durch alternative Synthesestrategien entsprechende 4-Hydroxytetrahydropyridinmonoester zu erhalten. Des Weiteren schien es interessant, neben der Nitrosubstitution auch andere aromatische Substitutionsmuster einzusetzen. Diese Strategien werden unter 3.2.2.3 beschrieben.

R¹	R²	R³
(a) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäuremethylester		
CH ₃	3-dimethylaminopropyl	2-Pyridyl
CH ₃	3-hydroxypropyl	2-Pyridyl
CH ₃	3-methylpyridyl	2-Pyridyl
CH ₃	allyl	4-Pyridyl
CH ₃	isopentyl	4-Pyridyl
CH ₃	benzyl	4-Pyridyl
CH ₃	isopropyl	4-Pyridyl
CH ₃	3-dimethylaminoethyl	4-Pyridyl
CH ₃	3-dimethylaminopropyl	4-Pyridyl
CH ₃	3-methylpyridyl	4-Pyridyl
CH ₃	methyl	2-Nitrophenyl
CH ₃	methyl	3-Nitrophenyl
CH ₃	3-methylpyridyl	3-Nitrophenyl
CH ₃	3-hydroxypropyl	4-Nitrophenyl
CH ₃	4-methoxybenzyl	4-Nitrophenyl
CH ₃	3-hydroxypropyl	4-Nitrophenyl
CH ₃	Ethyl	4-Flourphenyl
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureethylester		
C ₂ H ₅	2-hydroxyethyl	Phenyl
C ₂ H ₅	2-dimethylaminoethyl	Phenyl
C ₂ H ₅	allyl	4-Pyridyl
C ₂ H ₅	propyl	3-Nitrophenyl
C ₂ H ₅	cyclopropylmethyl	3-Nitrophenyl
C ₂ H ₅	propargyl	3-Nitrophenyl
C ₂ H ₅	allyl	4-Nitrophenyl
(c) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäuremethylester		
CH ₃	4-methoxybenzyl	H
CH ₃	3-hydroxypropyl	Methyl
CH ₃	methyl	Ethyl
CH ₃	Propyl	Ethyl
CH ₃	3-hydroxypropyl	Ethyl
CH ₃	benzyl	Ethyl
CH ₃	4-nitrobenzyl	Ethyl
CH ₃	3-hydroxypropyl	Propyl
CH ₃	methyl	Propyl

Tabelle 3-9 Fehlgeschlagene Syntheseversuche der 4-Hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester

3.2.2.2 Stereochemische Betrachtungen der synthetisierten Monoester-derivate 7 und 8

Die im Zuge dieser Arbeit synthetisierten Monoester wurden bis auf die literaturbekannte Verbindung **7a** allesamt als reine Enole isoliert. Bei **7a** wurde zusätzlich noch ein geringer Ketonanteil erhalten. Das Keto-Enolverhältnis betrug hier 1:3.

Bei dem 2,6-diarylsubstituierten Monoester **7d** mit einem Benzylrest am Stickstoff ließ der Vergleich der chemischen Verschiebungen im ^1H - und ^{13}C -Spektrum mit bekannten Verbindungen die Annahme zu, dass hier das *trans*-Enol isoliert wurde.¹²⁸

Im Folgenden soll durch die Darstellung ausgewählter Spektren auf die strukturellen Besonderheiten der synthetisierten Monoester eingegangen werden.

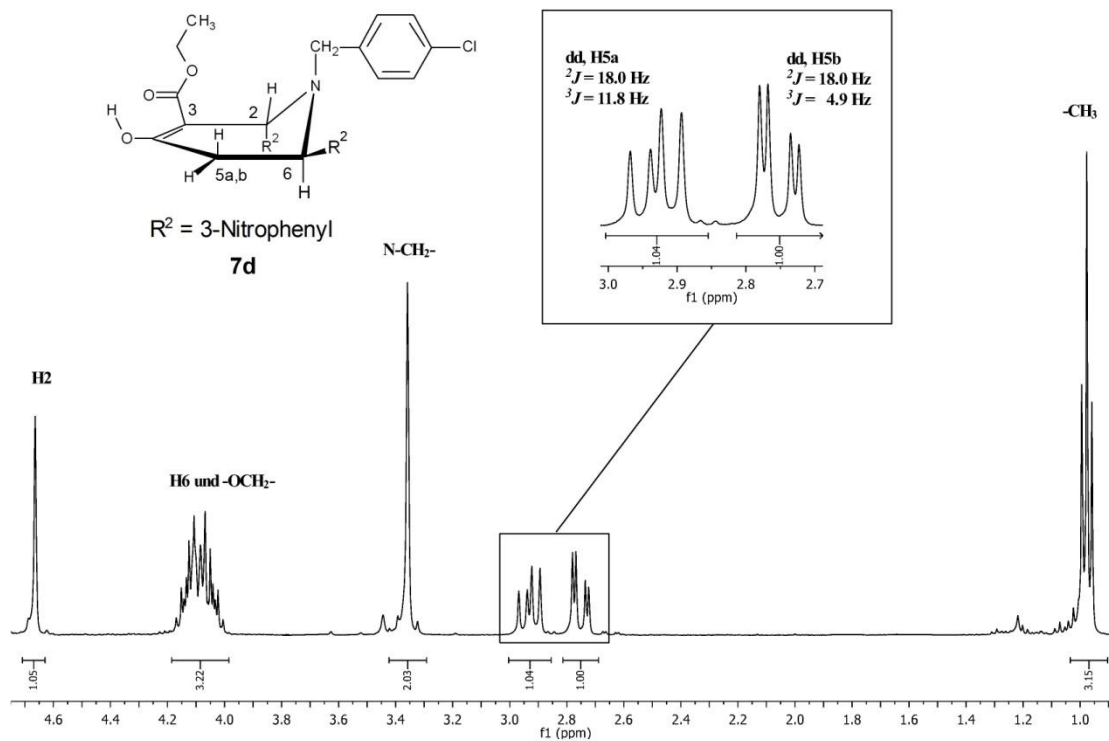


Abbildung 3-15 Struktur und Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung **7d**

Im ^1H -Spektrum von **7d** (siehe Spektrum in Abbildung 3-15) erscheint H2 aufgrund seiner isolierten Stellung als Singulett bei ca. 4.7 ppm, H6 bei ca. 3.2 ppm und die 2 Protonen an C5 bei 2.75 bzw. 2.95 ppm. Die 2 benzylichen Protonen sind äquivalent und

zeigen daher ein Singulett bei ca. 3.4 ppm. Die Kopplungskonstante zwischen dem axialen Proton an C5 und dem axialen Proton an C6 beträgt ca. 11 Hz und die des equatorial-ständigen H5 mit dem axialen Proton H6 ca. 5 Hz.

Die 2,6-dialkylsubstituierten Monoester **8a** und **8b** liegen vermutlich ebenfalls als reine *trans*-Enole vor. Beispielhaft ist hier das ^1H -Spektrum von Verbindung **8a** dargestellt (siehe Abbildung 3-16). Die vicinalen Kopplungskonstanten zwischen H5a/b und H6 lassen auf eine axiale Stellung des Protons H6 und folglich auf eine equatoriale Lage des Ethylsubstituenten an C6 schließen ($^3J_{\text{H5a/6}}$ in Höhe von 11.6 Hz steht für eine axial-axial-Kopplung, $^3J_{\text{H5b/6}}$ in Höhe von 5.1 Hz für eine equatorial-axial-Kopplung). Im Gegensatz zu den 2,6-diarylsubstituierten Monoestern **7a** und **7d** bilden die 2 benzylichen Protonen aufgrund ihrer magnetischen Nichtäquivalenz in Folge der eingeschränkten freien Drehbarkeit des Benzylrestes ein AB-Spinsystem mit einer Kopplungskonstante von ca. 14 Hz.

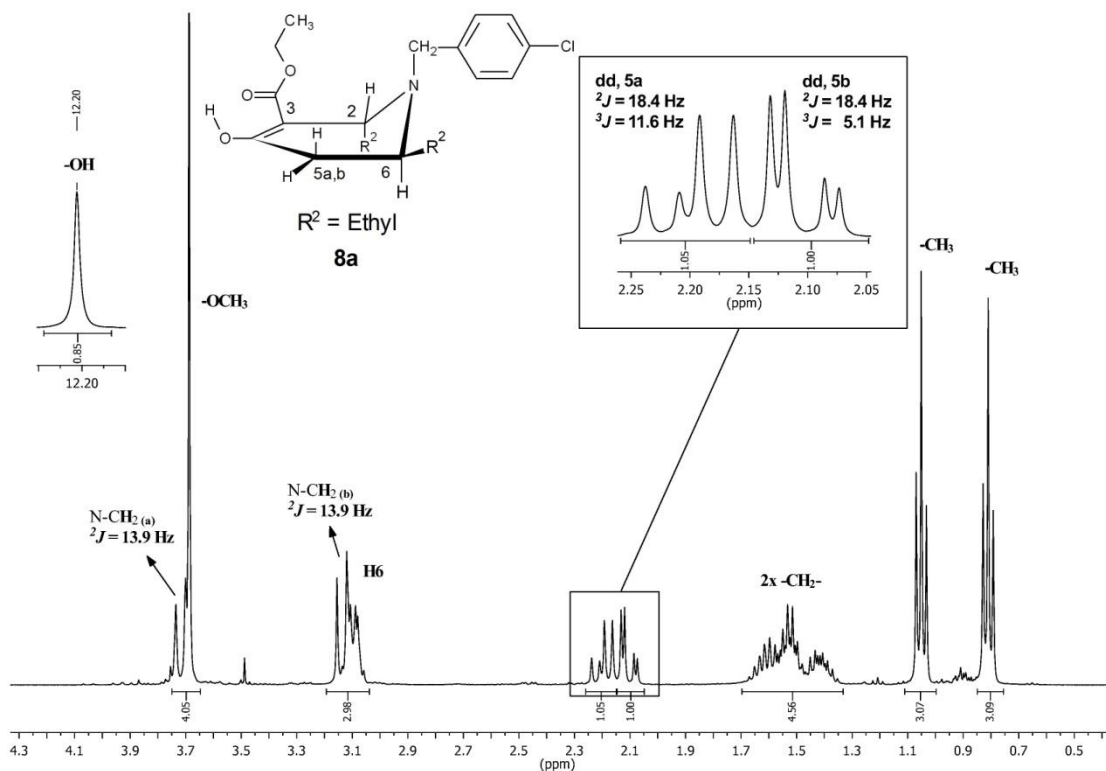


Abbildung 3-16 Struktur und Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung **8a**

Bei den Monoestern **7b** und **7c** wurden Enole erhalten, bei denen der Substituent an C6 nicht equatorial- sondern axial-ständig ist. Die vicinalen Kopplungskonstanten der beiden Protonen H5a und b mit H6 zeigen mit 4.3 sowie 5.8 Hz typische Werte für eine axial-equatorial-Kopplung sowie eine equatorial-equatorial-Kopplung (siehe Spektrum in Abbildung 3-17, für **7b** analog). Somit steht das Proton bei beiden Verbindungen an C6 equatorial und der 3-Nitrophenylrest axial.

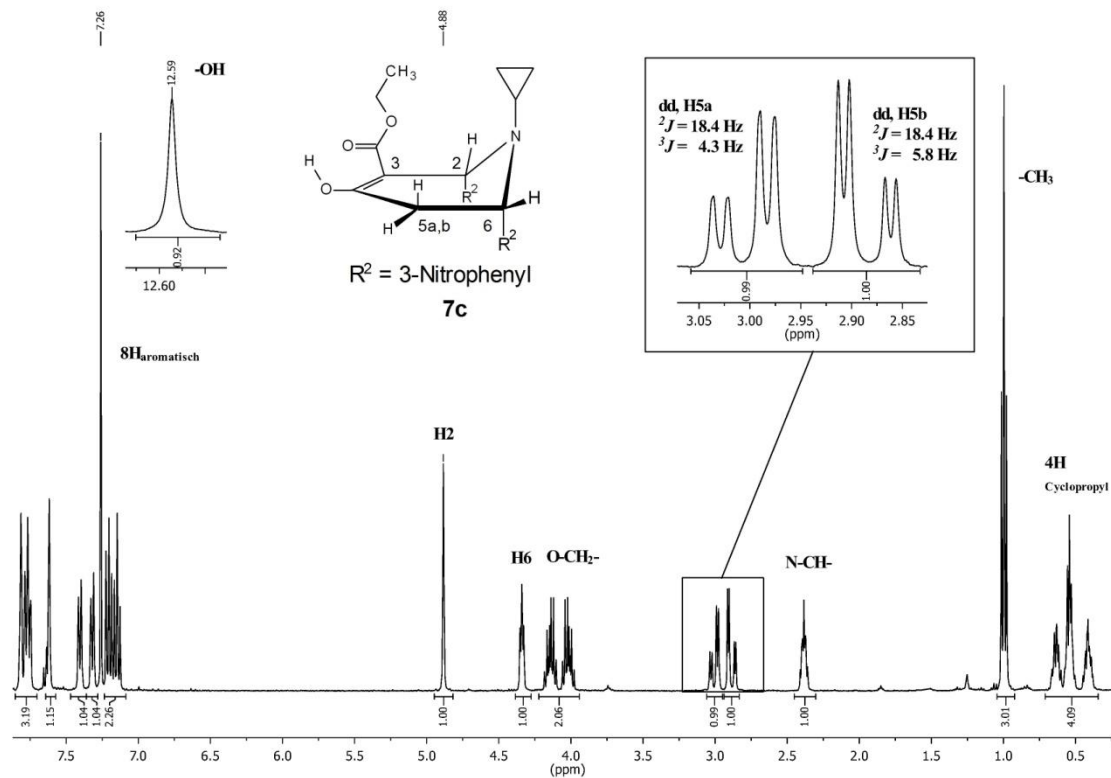


Abbildung 3-17 Struktur und $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **7c**

Im Folgenden sollen die chemischen Verschiebungen der Signale im ^1H - bzw. ^{13}C -Spektrum der verschiedenen Isomere nochmal tabellarisch verglichen werden. Natürlich ergeben sich in den Spektren allein schon durch die unterschiedlichen aromatischen Substituenten an Position 2 und 6 auch unterschiedliche Verschiebungen der Signale, besonders derer von H2 und C2 und C6. Da aber diese Substitutionen bei **7b**, **c** und **d** gleich sind, kann man die Signallagen der verschiedenen Isomere gut miteinander vergleichen.

	H2	H3	H5	H6
<i>trans</i> -Keton				
7a	4.71 (d, 5.5)	3.83 (d, 5.5)	3.03 (d, 6.0)	4.34 (t, 6.0)
<i>trans</i> -Enol				
7a	4.76 (s)	-	2.78 (dd) 3.22 (dd)	4.46 (d, 9.6)
7d	4.66 (s)	-	2.75 (dd, 11.8) 2.93 (dd, 4.9)	~ 4.0 (verdeckt)
<i>cis</i> -Enol				
7b	4.92 (s)	-	2.86 (dd, 5.9) 3.04 (dd, 4.0)	4.36 (dd, 5.8/ 4.1)
7c	4.88 (s)	-	2.90 (dd, 5.8) 3.02 (dd, 4.3)	4.34 (t)

Tabelle 3-10 ¹H-NMR-Daten der verschiedenen Isomere ausgewählter 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydro-pyridinmonoester

Während die Protonen H2 und H5 des *trans*-Ketons **7a** jeweils ein Dublett bilden, erscheint H2 bei den *trans*-Enolen als isoliertes Singulett und H5 als doppeltes Dublett. Das Signal für das Proton H2 ist bei den *cis*-Enolen im Vergleich zu dem an den Positionen 2 und 6 gleich-substituierten *trans*-Isomer **7d** um $\Delta\delta = 0.2 - 0.3$ ppm, das Proton H5 um $\Delta\delta = 0.1$ ppm tieffeldverschoben. Das equatorial-ständige H6 des *cis*-Enols ist im Vergleich zu dem axialen Proton H6 des *trans*-Isomers um ca. 0.3 bis 0.4 ppm paramagnetisch verschoben.

Die Signallage von C6 im ¹³C-Spektrum ist bei den *cis*-Enolen im Vergleich zu den *trans*-Enolen um ca. 3 ppm (ca. 60 ppm bei **7b** und **7c**, ca. 57 ppm bei **7a** und **7d**; siehe Tabelle 3-11), die von C3 um $\Delta\delta = 2$ ppm tieffeldverschoben. Da sich die chemischen Verschiebungen von C2 im ¹³C-Spektrum nicht signifikant von denen der *trans*-Enole unterscheiden, kann man von der gleichen Konfiguration an C2 und damit von einer axialen Lage des 3-Nitrophenylrestes ausgehen. **7b** und **7c** wurden daher als *cis*-Enole mit diaxialer Lage der Substituenten an C2 und C6 isoliert. Diese Isomere wurden bei 4-Hydroxytetrahydro-pyridinmonoestern vorher noch nie beschrieben.

Die Signallagen des *trans*-Ketons sind wie auch bei den Diesterderivaten sehr verschieden. C4 und C5 sind deutlich, C2 und C6 nur wenig tieffeldverschoben, C3 ist weit zu hohem Feld verschoben.

	C2	C3	C4	C5	C6	C=O
<i>trans</i> -Keton						
7a	62.6	58.7	202.3	43.7	62.1	169.7
<i>trans</i> -Enol						
7a	60.2	96.6	172.4	27.5	56.2	171.7
7d	61.0	96.2	169.1	28.1	57.5	171.5
<i>cis</i> -Enol						
7b	61.3	98.0	170.9	28.7	59.6	171.3
7c	61.5	98.5	170.7	29.2	59.7	170.9

Tabelle 3-11 ^{13}C -NMR-Daten der verschiedenen Isomere ausgewählter 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydro-pyridinmonoester

3.2.2.3 Weitere Synthesestrategien zum Erhalt der Monoester 9 und 10

Synthesestrategie 2: Es wurde schon mehrfach beschrieben, dass man 4-Hydroxytetrahydro-pyridinesterderivate mit Acetessigsäureethylester, einem Aldehyd und Ammoniumacetat aufbauen kann.^{123,142,143} Analog dieser Beschreibungen sollte versucht werden, durch verschiedene Modifikationen dieser Synthesewege, die gewünschten Monoester zu erhalten.

Äquimolare Mengen Acetessigsäureethylester, Ammoniumacetat bzw. Ammoniumbromid und der entsprechende aromatische Aldehyd (3- bzw. 4-Nitrobenzaldehyd) wurden in ca. 15 ml Eisessig suspendiert und unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsansätze färbten sich zunächst orange, dann rot. Aus den klaren Lösungen fiel schließlich ein Feststoff aus. Nach dem Abkühlen wurde der Feststoff abfiltriert und das Filtrat in 200 ml kaltes Wasser gegeben, wodurch sich wieder ein Niederschlag bildete. Der Niederschlag wurde abfiltriert. Das Filtrat enthielt nur das Edukt, den Nitrobenzaldehyd. Der Feststoff zeigte auf der DC (Kieselgel, Cyclohexan / EtOAc 2:1) viele, ineinander übergehende Flecken. Eine Extraktion der wässrigen Phase mit Chloroform bzw. Cyclohexan blieb genauso ohne Erfolg wie der Versuch einer säulenchromatographischen Trennung (Kieselgel, Cyclohexan / EtOAc 2:1). Oft entstand eine pastöse Masse (Mehrkompontengemisch), aus der mit Diethylether und Salzsäure kein einheitlicher Feststoff gefällt werden konnte.

Während bei den Syntheseversuchen der 4-Hydroxytetrahydropyridindiestere- und monoester-Derivaten (siehe **Synthesestrategie 1**) bei niedrigen Temperaturen gearbeitet wurde, um die Bildung von Nebenprodukten weitestgehend zu unterbinden, wurde auch hier die Reaktionstemperatur variiert. Die oben beschriebene Reaktion wurde somit bei Raumtemperatur sowie bei ca. -5 °C durchgeführt. Dafür wurden die Nitrobenzaldehyde vorher in wenig THF gelöst und dem Ansatz (Acetessigsäureethylester mit Ammoniumacetat bzw. Ammoniumbromid) über einen Zeitraum von 30 Minuten tropfenweise zugegeben und für 6 bis 12 h weitergerührt. Im Fall des Arbeitens bei -5 °C wurde nach ca. 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Diese Methode führte jedoch nie zum gewünschten Produkt **9a** bzw. **9b**. Es wurde meist Edukt isoliert.

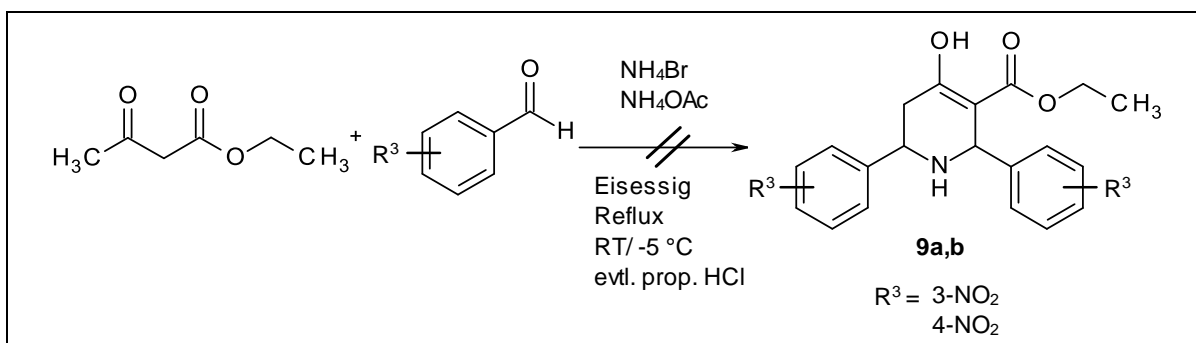


Abbildung 3-18 Strategie 2 zum Aufbau der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidinmonoester

Synthesestrategie 3 (modifiziert nach¹⁴⁴): Ausgehend vom Acetessigsäureethylester wurde versucht, unter Katalyse von L-Prolin mit aromatischen Aldehyden und Ammoniak 2,6-diarylsubstituierte 4-Hydroxytetrahydropyridinmonoethylester zu synthetisieren. L-Prolin sollte dabei als enantioselektiver Katalysator dienen, der die Ausbeute erhöht und die Entstehung bicyclischer Nebenprodukte verhindert. Es wird beschrieben, dass ein chirales Enamin-Zwischenprodukt involviert ist, das sich im Laufe der Reaktion aus dem Keton und L-Prolin bildet.^{145,146}

1.4 mmol L-Prolin und 4.8 mmol 25-prozentiger Ammoniak wurden in Ethanol gelöst und 4.8 mmol Acetessigsäureethylester sowie 9.6 mmol des entsprechenden aromatischen Aldehyds hinzugefügt. Als Aldehydkomponente kamen 2- und 4-Pyridinaldehyd, 3-Fluorbenzaldehyd sowie 2-, 3- und 4-Nitrobenzaldehyd zum Einsatz. Da die Nitrobenz-

aldehyde in Ethanol nur schwer in Lösung zu bringen waren, wurden sie z.T. vorher in THF gelöst. Bei Raumtemperatur bzw. bei einigen Reaktionsführungen auch unter Eiskühlung wurde der Reaktionsansatz 12-18 h gerührt bis die DC-Kontrolle (Kieselgel, Petrolether / EtOAc 1:1) eine Umsetzung zeigte. Es entstand in allen Fällen eine orange-rote, ölige Lösung. Aus dieser Lösung konnte teilweise durch Zugabe von 10 ml Diethylether und 10 – 20 ml 20%-iger Salzsäure ein Feststoff gefällt werden, der im Anschluss filtriert und mit Diethylether gewaschen wurde. Der Feststoff entsprach nicht dem gewünschten Produkt und keinem definierten Nebenprodukt, sondern nur den Edukten (Acetessigester, Nitrobenzaldehyd). Nach dem Einengen der Filtrate im Vakuum, konnten nur rotbraune Öle gewonnen werden, die sich stets als nicht zu trennende Mehrkomponentengemische herausstellten. Auch durch eine erneute Zugabe von Diethylether und Salzsäure ließ sich kein weiterer Feststoff isolieren. Mit dieser Synthesestrategie konnten die gewünschten Produkte **9a – f** nicht erhalten werden.

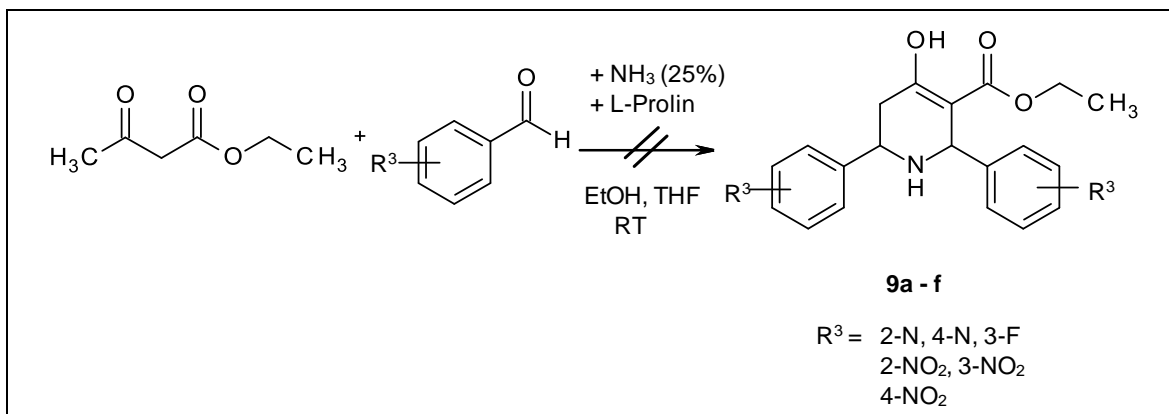


Abbildung 3-19 Strategie 3a: Syntheseversuche mit Ammoniak und L-Prolin

Da diese Reaktion nicht zum Erfolg führte, wurde sie ohne L-Prolin, mit teilweise anderen Aminkomponenten und analog zu Strategie 2 unter Anwendung von Wärme durchgeführt. Die Umsetzung von Acetessigsäureethylester mit Methylamin und Pyridin-2-aldehyd (frisch destilliert) bzw. 3- und 4-Nitrobenzaldehyd führte allerdings ebenso nicht zum Ziel. Hierbei wurden 10 mmol Methylamin in Ethanol suspendiert und äquimolare Mengen Acetessigsäureethylester sowie 20 mmol des entsprechenden aromatischen Aldehyds zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 2 h auf ca. 80 bis 100 °C erhitzt und danach 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei den Reaktionen mit (A) 3- bzw.

(B) 4-Nitrobenzaldehyd wurden gelborange Lösungen erhalten. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurden die so erhaltenen öligen Suspensionen mit Diethylether versetzt und für 12 h bei -5 °C aufbewahrt. Da so keine Kristallisation eintrat, wurde 10 %-ige Salzsäure zugegeben, um die Hydrochloride zu fällen. Auch hier kam es nach mehrtägiger Aufbewahrung bei -5 °C nicht zur Kristallisation. Das Lösungsmittel wurde daher im Vakuum entfernt und der Reaktionsansatz mit Cyclohexan überschichtet. Nach 12-tägiger Lagerung bei -5 °C kristallisierte bei Reaktion (A) ein Feststoff, der filtriert und mit Ethanol und Diethylether gewaschen wurde. NMR-spektroskopische Untersuchungen zeigten, dass es sich bei dem erhaltenen weißen Pulver jedoch nicht um die Zielverbindung, sondern nur um das Edukt (verunreinigtes aromatisches Aldehyd) handelte. Bei Reaktion (B) trat auch nach mehrwöchiger Lagerung bei -5 °C keine Kristallisation ein. Eine weitere Aufarbeitung war hier nicht möglich.

Im Fall der Reaktion mit Methylamin und Pyridin-2-aldehyd entstand ein dunkelbraunes, zähes Öl, aus dem nach Überschichtung mit Diethylether und Zugabe von Salzsäure (10%) kein Feststoff isoliert werden konnte. Die DC (Kieselgel, Petrolether / EtOAc 1:1 und basisches Al₂O₃, Petrolether / EtOAc 1:1 + 1% NH₃) zeigte eine breite, fluoreszierende Bande. Der Reaktionsansatz wurde verworfen, da sich keine definierten Verbindungen isolieren ließen.

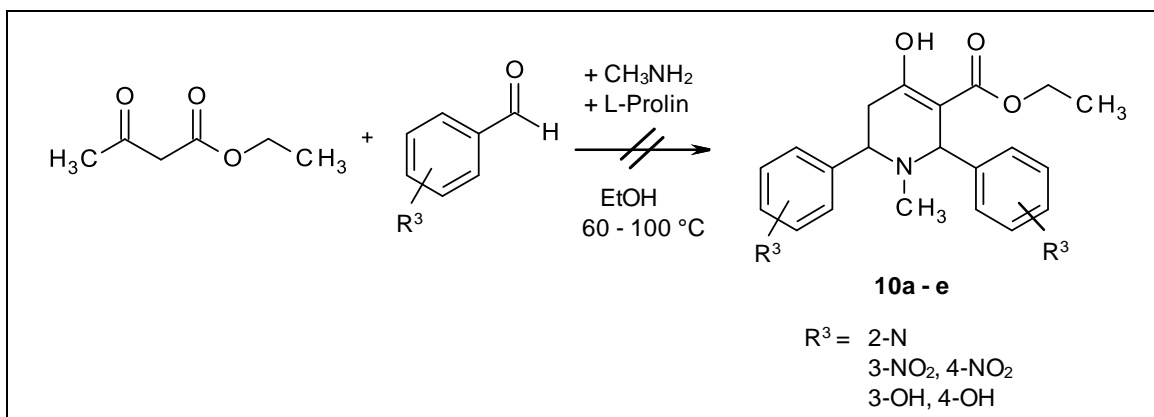


Abbildung 3-20 Strategie 3b: Syntheseversuche mit Methylamin und L-Prolin

Auch der Einsatz von 3- und 4-Aminophenol als Aminkomponente führte mit der gleichen Vorgehensweise nicht zum gewünschten Monoesterderivat. Bei Verwendung von 3-Aminophenol wurde nur ein zähes, rotes Öl erhalten, das eine weitere Auf-

arbeitung unmöglich machte. Mit 4-Aminophenol wurde ausschließlich die Schiff'sche Base (Azomethin) als Nebenprodukt isoliert (siehe Abbildung 3-21). Hier reagierte das 4-Aminophenol mit dem 3-Nitrobenzaldehyd. Das entstandene Imin reagierte allerdings nicht mehr mit dem Acetessigsäureethylester zum eigentlich gewünschten Produkt weiter.

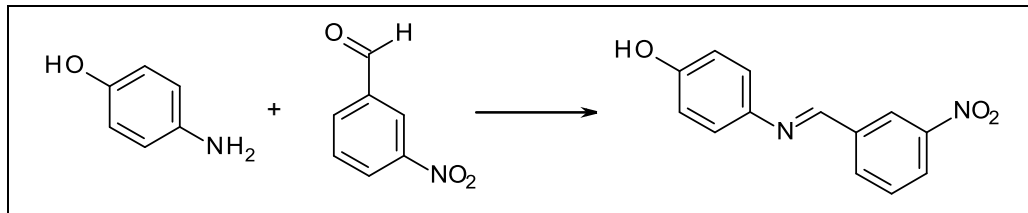


Abbildung 3-21 isoliertes Nebenprodukt

Strategie 4: Da eine selektive Esterhydrolyse der Diester zu den Monoesterderivaten nicht möglich war, wurde eine einseitige Hydrolyse der Diesterverbindungen mit Schweineleberesterasen versucht (siehe Abbildung 3-22). Die Esterspaltung stoppt nach der Hydrolyse einer Esterfunktion. Unter milden Bedingungen sollten einige Diesterverbindungen so zu den entsprechenden Monoesterderivaten hydrolysiert werden.¹⁴⁷

Verbindung **4i** wurde in 5 ml DMSO^V suspendiert und mit 100 ml Phosphatpuffer (pH 7.5) versetzt. Unter Rühren bei 30 °C in der pH-Stat-Apparatur (Metrohm, Titrand) wurde die Schweineleberesterase hinzugefügt und der pH-Wert überwacht. Beim Eintreten der Reaktion sollte durch die Freisetzung der gespaltenen Säurefunktion der pH-Wert absinken. Mit 1 M NaOH sollte der pH-Wert während des Reaktionsverlaufes konstant auf 7.5 gehalten werden. Nach 6 Stunden wurde der Versuch abgebrochen, da kein Umsatz erkennbar war. Die schlechte Löslichkeit der Diesterverbindung stellte dabei das Hauptproblem dar.

^V Der DMSO-Zusatz sollte die Löslichkeit der Verbindung verbessern, durfte aber 5% (V/V) nicht übersteigen, um die Funktionsfähigkeit des Enzyms nicht zu beeinträchtigen.

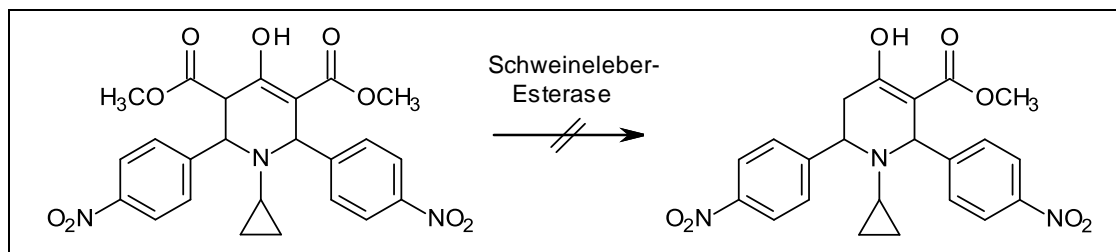


Abbildung 3-22 Strategie 4: Versuch einer einseitigen Veresterung mit der Schweineleberesterase

3.2.3 Versuch zur Synthese von 2,6-Diaryl-3-(arylthio)-4-piperidonen 11

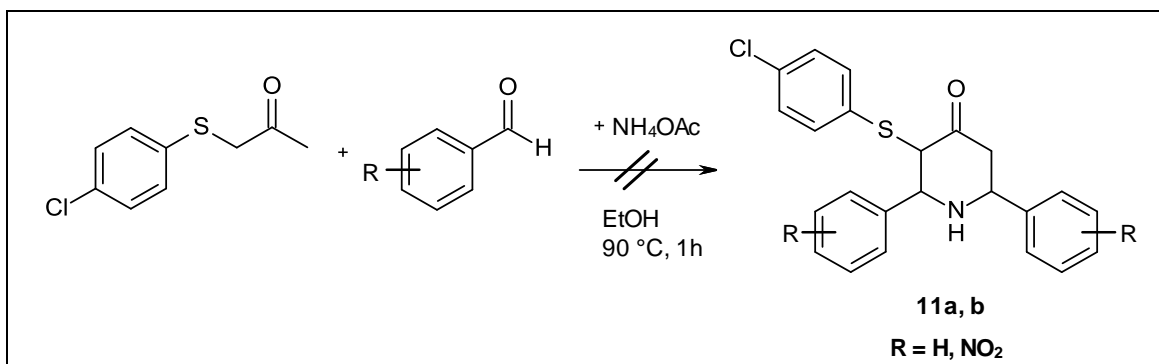


Abbildung 3-23 Syntheseveruche der 2,6-Diaryl-3-(arylthio)-4-piperidone

Alternativ zu den 2,6-Dialkyl/aryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureestern wurde die Synthese von 2,6-Diaryl-3-(arylthio)-4-piperidonen versucht. Dafür wurden 4-Chlorphenylthioacetone mit Benzaldehyd bzw. 3- und 4-Nitrobenzaldehyd sowie Ammoniumacetat nach *Srinivasan et al.* umgesetzt.¹⁴⁸

4.8 mmol Ammoniumacetat wurden in Ethanol bei 60 °C gelöst und äquimolare Mengen 4-Chlorphenylthioacetone sowie 9.6 mmol des entsprechenden aromatischen Aldehyds hinzugefügt. Der Reaktionsansatz wurde 1 h bei 80 °C gerührt (DC-Kontrolle: Kieselgel, Cyclohexan / EtOAc 2:1). In allen Fällen entstand ein rötliches Öl mit einer überstehenden, orangeroten Lösung. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der übrig gebliebene, ölige Niederschlag in Diethylether suspendiert und mit Salzsäure versetzt. Es fielen stets gelbliche Niederschläge aus, die abfiltriert und mit Diethylether gewaschen wurden. Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen ließen jedoch in

keinem Fall das gewünschte Produkt erkennen, sondern nur das Edukt 4-Chlorphenylthioacetone. Aus keinem der Reaktionsansätze konnte trotz Variation der Reaktions-temperatur und -dauer die 2,6-Diaryl-3-(arylthio)-4-piperidone erhalten werden.

3.2.4 Synthese der 4-Piperidone und 4-Piperidinoxime 12 - 16

Um den Einfluss der fehlenden Esterfunktionen im Vergleich zu den 4-Hydroxytetrahydropyridinmono- und -diesterderivaten auf die Wirksamkeit hin zu untersuchen, wurden zum einen 2,6-Dialkyl-4-piperidone **13** und zum anderen 2,6-Diaryl-4-piperidone **15** ohne Esterfunktionen in Position 3 und 5 synthetisiert. Dabei sollte auch auf den Einfluss der Substitution an den Positionen 2 und 6 auf die Wirksamkeit geachtet werden. Bei den 2,6-Diaryl-4-piperidonen wurde versucht, vor allem Nitrophenyl-Reste in Position 2 und 6 einzuführen, da diese für die verbesserte Bioverfügbarkeit und Wirksamkeit der 4-Hydroxytetrahydropyridinester-Verbindungen eine wichtige Rolle spielen.

Da sich das Zielenzym, die Deoxyhypusinehydroxylase (DOHH), mit seinem Eisen-zentralatom durch Eisenkomplexbildner hemmen ließ (siehe unter 1.2.2.4) und aufgrund der Tatsache, dass Oxime mit Metallionen, insbesondere mit Eisen, ebenfalls Komplexe bilden, wurden die 4-Piperidone **13** und **15** schließlich zu den entsprechenden Oximen **14** und **16** umgesetzt (siehe Syntheschema in Abbildung 3-24 und Abbildung 3-27).

3.2.4.1 Synthese der 2,6-Dialkyl-4-piperidone 13 und der 2,6-Dialkyl-4-piperidinoxime 14

Ausgangspunkt dieser Synthese ist der jeweilige 2,6-Dialkylpiperidondimethylester **12**, der durch die schon unter 3.2.1.1 beschriebene 3-Komponenten-Mannich-Reaktion von Aceton-1,3-dicarbonsäuredimethylester mit Acetaldehyd bzw. Propionaldehyd und Ammoniumbromid erhalten wurde. Durch eine hydrolytische Esterspaltung mit einem Überschuss an 37 %-iger HCl wurden die erhaltenen 2,6-Dialkylpiperidondimethylester **12a** und **12b** zu den 2,6-Dialkyl-4-piperidonen **13a** und **13b** umgesetzt. Dabei fand nach Spaltung der Methylester eine Decarboxylierung der jeweiligen Dicarbonsäureverbin-

dungen statt. Bemerkenswerterweise funktioniert die Esterhydrolyse nur bei N-unsubstituierten Piperidondiestern, nicht aber bei N-substituierten Derivaten. Der Stickstoffsubstituent beeinträchtigt vermutlich die Stabilität des Piperidons, so dass das Grundgerüst bei einer Decarboxylierung zerstört wird. Die 2,6-Dialkylpiperidone **13a** und **13b** wurden anschließend zu den entsprechenden Oximen **14** umgesetzt (siehe Syntheschema in Abbildung 3-24).

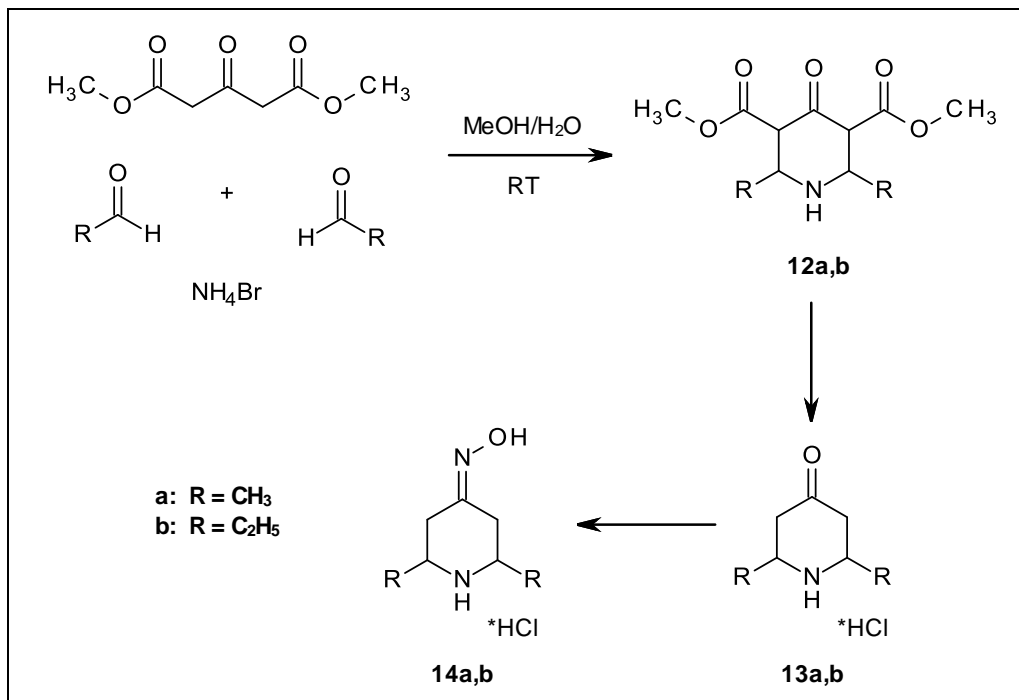


Abbildung 3-24 Syntheschema der 2,6-Dialkylpiperidinoximderivate

3.2.4.2 Stereochemische Betrachtungen der 2,6-Dialkyl-4-piperidone **13** und der 2,6-Dialkyl-4-piperidinoxime **14**

Das 2,6-Dimethyl-4-piperidon **13a** liegt in Bezug auf die 2 Methylgruppen in einer *cis*-Konfiguration vor und ist somit symmetrisch. Die Symmetrie des Moleküls spiegelt sich in dem halben Signalsätzen des ¹H- und ¹³C-Spektrums (siehe Abbildung 3-25 und Abbildung 3-26) wider. Die vicinalen Kopplungskonstanten der Protonen H3 und H5 mit H2/6 zeigen für das axiale H3 bzw. H5 mit 12.9 Hz eine typische axial-axial-Kopplung und für das equatorial-ständige H3 bzw. H5 mit 2.8 Hz eine axial-equatorial-Kopplung.

Dies bedeutet, dass die Protonen H2 und H6 eine axiale Stellung und damit beide Methylsubstituenten eine equatoriale Stellung einnehmen.

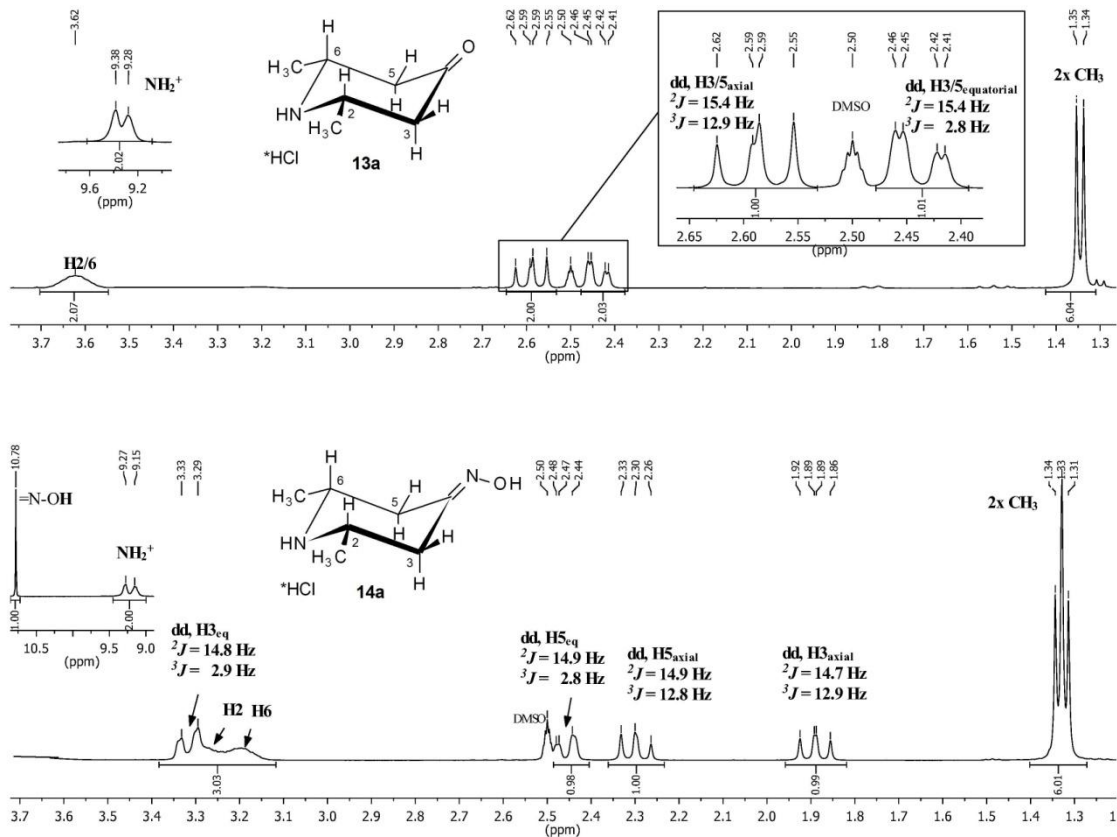


Abbildung 3-25 Vergleich der ¹H-Spektren von **13a** und dem dazugehörigen Oxim **14a**

Nach der Umsetzung zum Oximderivat **14a** verliert das Molekül seine Symmetrie, was man gut an den nun einfachen Signalsätzen im ¹H- und ¹³C-Spektrum erkennen kann. Die Äquivalenz der Protonen H3/5_{axial}, H3/5_{equatorial} und H2/6 wird im Oxim aufgehoben. Darüber hinaus kommt es zu deutlichen Verschiebungen der Signale (siehe Spektren in Abbildung 3-25 und Abbildung 3-26). Während sich die Lage des H5_{eq}-Signals nicht verändert hat, wird H5_{ax} um ca. 0.3 ppm hochfeldverschoben. Die auffälligsten Verschiebungen sind bei H3_{eq} und H3_{ax} zu erkennen. H3_{eq} ist deutlich um 1 ppm tieffeldverschoben, H3_{ax} dagegen um 0.7 ppm zu hohem Feld verschoben. Dies ist durch den Anisotropieeffekt der Oximgruppe auf die benachbarten Ringprotonen zu erklären. Die Oximgruppe ist *syn*-ständig zu den Protonen H3, die dadurch vom Anisotropieeffekt am mei-

sten beeinflusst sind. Die Differenz der chemischen Verschiebungen $\Delta\delta$ axialer und equatorialer Protonen ist bei *syn*-ständigen Oximgruppen größer als bei *anti*-ständigen.¹⁴⁹ Das *syn*-ständige, equatoriale Proton H3, das sich annähernd in derselben Ebene wie die Oximgruppe befindet, wird somit durch Entschirmung tieffeldverschoben, das axiale H3 durch Abschirmung hochfeldverschoben.

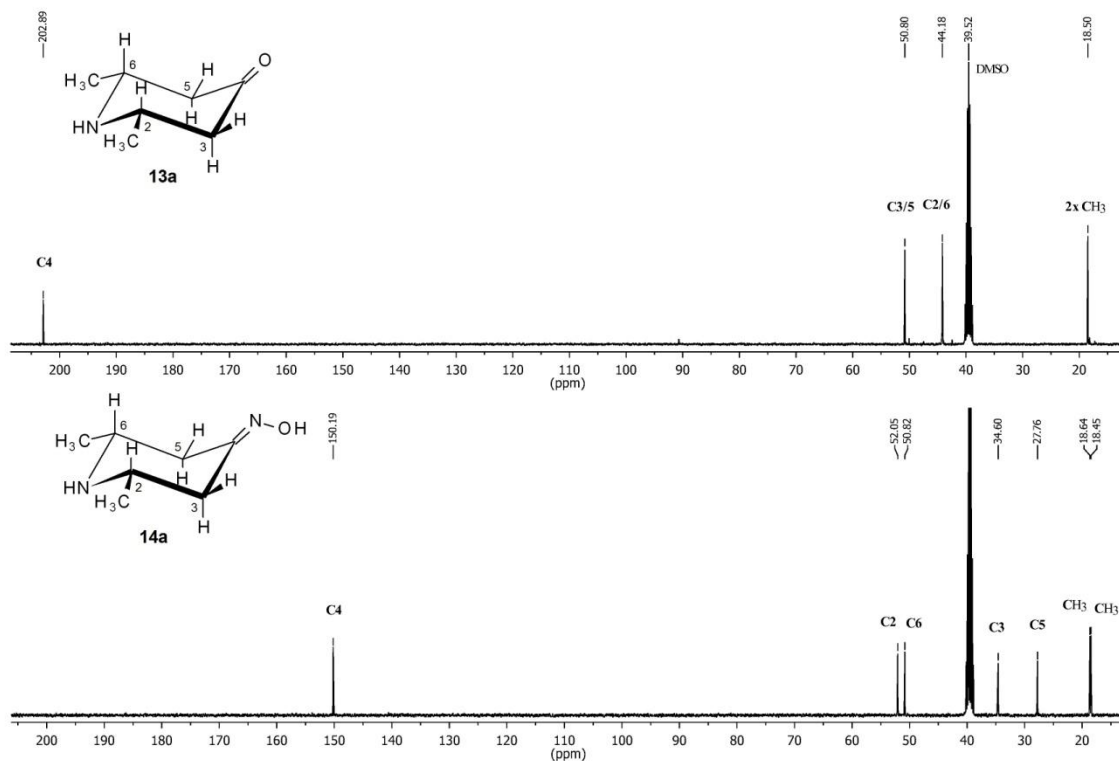


Abbildung 3-26 Vergleich der ¹³C-Spektren von **13a** und dem dazugehörigen Oxim **14a**

Im ¹³C-Spektrum des 4-Piperidons **13a** und des Oxims **14a** erkennt man im Vergleich ebenso die deutlichen Signalverschiebungen. C4 ist durch den Austausch der Keto-Gruppe durch die Oximgruppe am deutlichsten, um 50 ppm hochfeldverschoben. C2/C6 sind um 15 – 20 ppm hochfeld- und C2/6 um ca. 5 ppm tieffeldverschoben.

3.2.4.3 Synthese der 2,6-Diaryl-4-piperidone **15** und der entsprechenden Oximderivate **16**

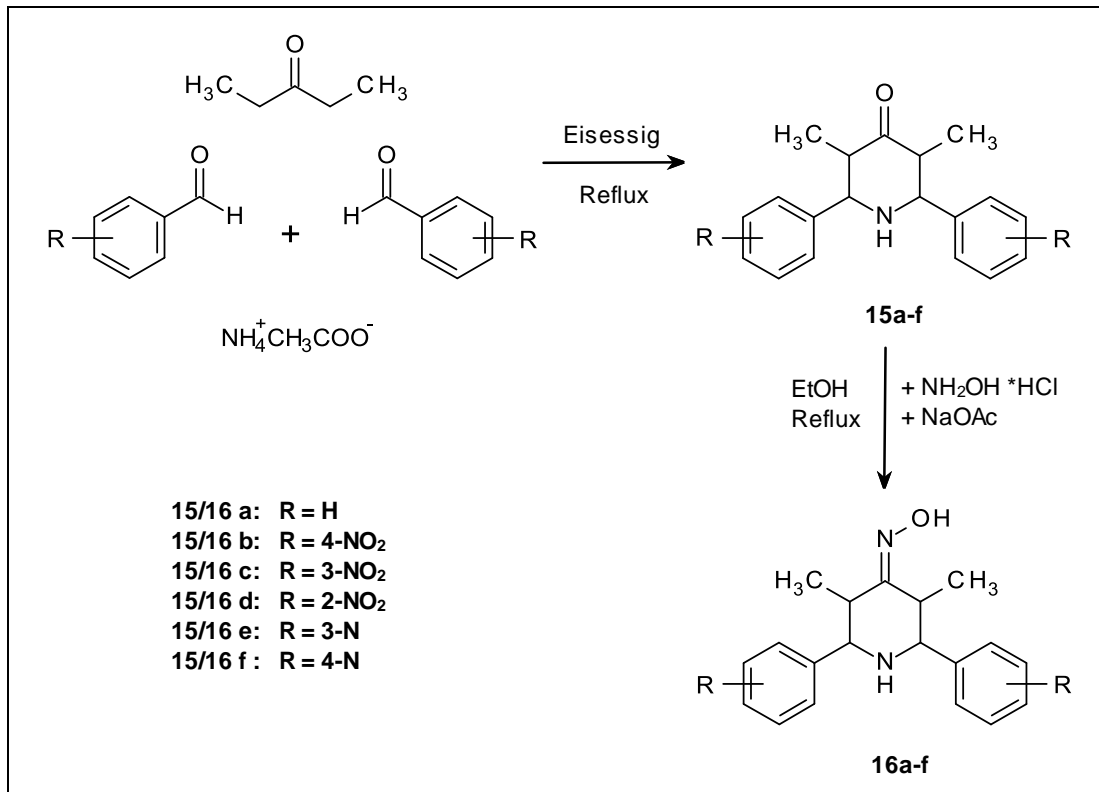


Abbildung 3-27 Syntheschema der 2,6-Diaryl-4-piperidone und deren Oximderivate

3-Pentanon, verschiedene aromatische Aldehyde (Benzaldehyd, Pyridin-3-aldehyd, Pyridin-4-aldehyd, 2-, 3- und 4-Nitrobenzaldehyd) sowie Ammoniumacetat werden in Eisessig bei 140 bis 160 °C umgesetzt, um nach Aufarbeitung des Reaktionsansatzes 2,6-diarylsubstituierte 4-Piperidone **15a – f** zu erhalten. Beim Einsatz von 2-Nitrobenzaldehyd und frisch destilliertem 3- sowie 4-Pyridinaldehyd konnten die gewünschten 4-Piperidonderivate **15d – f** jedoch nicht isoliert werden.

Die hergestellten Piperidone **15a, b** und **c** wurden anschließend in die entsprechenden Oximderivate **16a – c** überführt, indem sie mit einem Überschuss an Hydroxylamin-HCl sowie Natriumacetat in Ethanol für 1 – 3 h zum Sieden erhitzt wurden.

3.2.4.4 NMR-spektroskopische Betrachtungen

Aufgrund der chemischen Äquivalenz der Protonen H2 und H6 sowie H3 und H5 verfügen die 4-Piperidone **15a, b, c** über eine symmetrische Struktur, d.h. sowohl die Benzylsubstituenten als auch die Methylgruppen stehen jeweils *cis* zueinander. Die vicinale Kopplungskonstante zwischen H2 und H3 sowie H5 und H6 von ungefähr 10.5 Hz weist auf eine axiale Stellung der Protonen und somit eine equatoriale Stellung aller Substituenten hin.

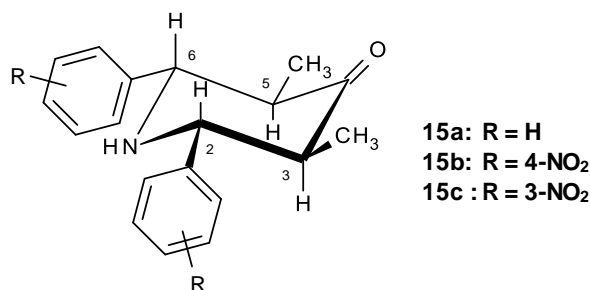


Abbildung 3-28 Struktur der 2,6-Diarylpiperidone **15**

Durch die Umsetzung von **15a, b** und **c** zu den entsprechenden Oximen verliert das Piperidonmolekül seine symmetrische Struktur und es kommt durch den Anisotropieeffekt der Oximgruppe, wie schon unter 3.2.4.2 beschrieben, zu deutlichen Verschiebungen in den NMR-Spektren (siehe Abbildung 3-29 und Abbildung 3-30).

In den Spektren des Oxims erkennt man auch hier die einfachen Signalsätze gegenüber den halben beim Edukt. Im ¹H-Spektrum werden H2 und H6 um 0.2 bzw. 0.3 ppm ins tiefe Feld verschoben, genauso wie H5. Die Protonen der Methylgruppe an C3 werden durch die *syn*-Position zum Oximrest etwas mehr ins tiefe Feld verschoben (+0.5 ppm) als die an C5 (+0.3 ppm). Das Proton H3 erfährt eine Hochfeldverschiebung um 0.35 ppm.

Die *cis*-Konformation gleichartiger Substituenten bleibt auch im Oxim gewahrt. Die Kopplungskonstanten von H_{2,3} sowie H_{5,6} liegen bei allen Oximderivaten zwischen 8.6 und 9.0 Hz, was auf eine axial-axial-Kopplung der Protonen schließen lässt und die Substituenten somit equatorial-ständig sind. Einzig das Dublett von H2 der Verbindung

16a zeigt eine davon abweichende vicinale Kopplungskonstante von $^3J = 5.4$ Hz. Dies würde eine axial-equatorial-Kopplung zwischen den Protonen H2 und H5 und eine equatoriale Stellung entweder des Methyl- oder des Phenylsubstituenten bedeuten. Eine Konfigurationsänderung kann eher ausgeschlossen werden, da die chemischen Verschiebungen der Signale aller Oxime **16a**, **b** und **c** sowohl in den ^1H - als auch in den ^{13}C -Spektren keinerlei größere Abweichungen zeigen, die auf eine Konfigurationsänderung schließen lassen.

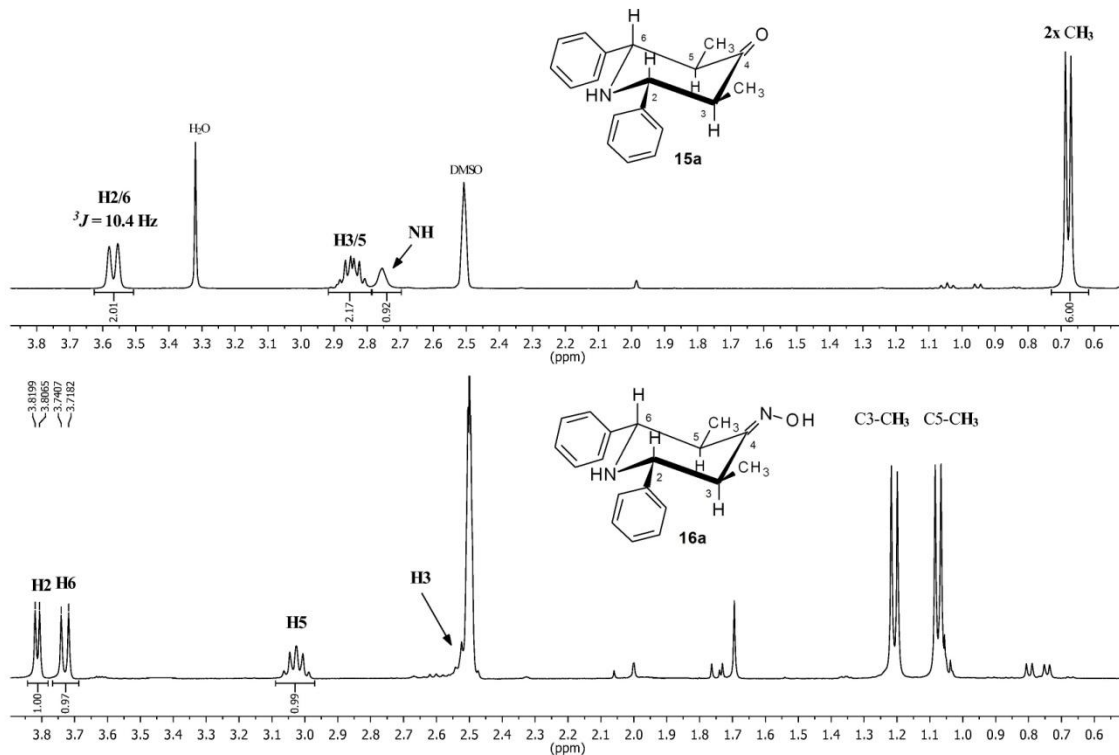


Abbildung 3-29 Vergleich der ^1H -Spektren (Ausschnitt) von **15a** und dem dazugehörigen Oxim **16a**

Im Vergleich der ^{13}C -Spektren von **15a** und **16a** zeigen C4 ($\Delta\delta = 50$ ppm), C3 ($\Delta\delta = 8$ ppm), C5 ($\Delta\delta = 11$ ppm) sowie die Kohlenstoffatome der Methylreste ($\Delta\delta = 5$ bzw. 10 ppm) wie schon bei den 2,6-Dialkylpiperidon-Derivaten auffällige Verschiebungen (siehe Abbildung 3-30).

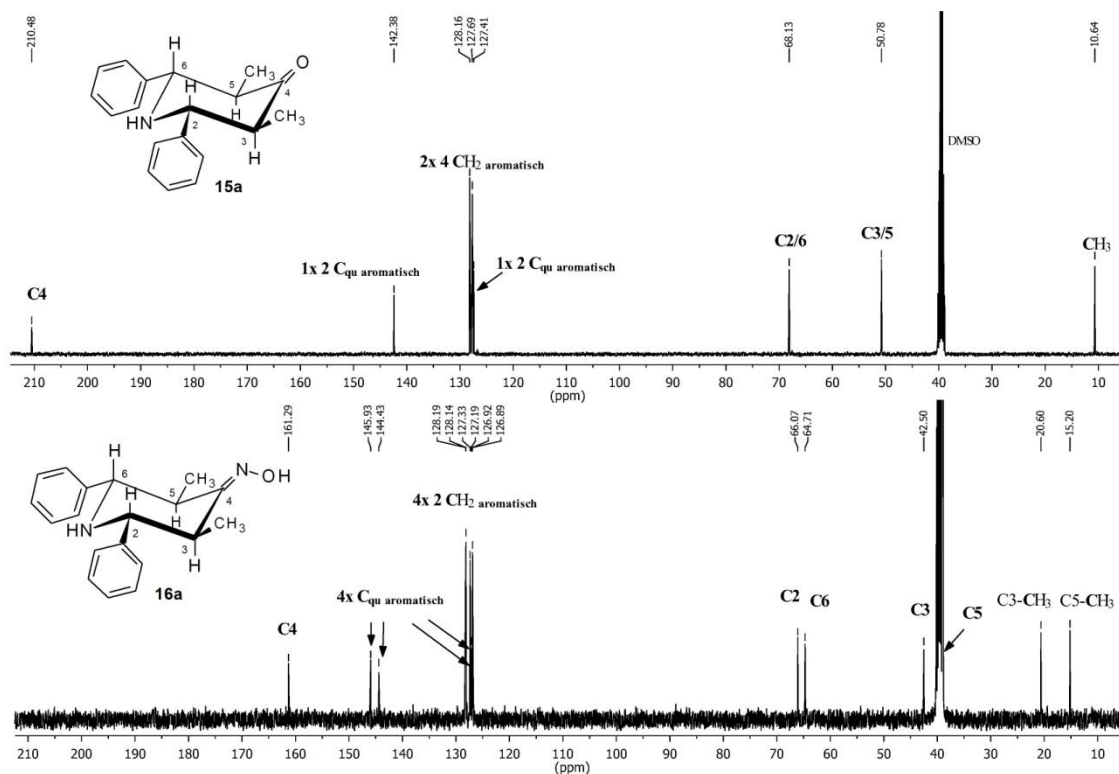


Abbildung 3-30 Vergleich der ¹³C-Spektren von **15a** und dem dazugehörigen Oxim **16a**

3.2.5 Syntheseversuche der 4-Piperidinoximether **17** und **18**

Der 4-Piperidinoximether **17** (4-[(2,6-Dichlor-benzyloxyimino)methyl]-1-(3-phenylpropyl)-dipiperidinium-hydrochlorid, siehe Abbildung 3-31) zeigte in pharmakologischen Testungen an Plasmodien und Trypanosomen eine sehr gute Wirksamkeit (siehe Tabelle 1-1 unter 1.3). Mit einem IC₅₀-Wert von 3.9 μM an *Trypanosoma brucei brucei* gehört er mit zu den aktivsten Substanzen. Bei Testungen an der *Plasmodium falciparum*-Linie NF54 wurde *in vitro* nach 72 h ein IC₅₀-Wert von 8.3 μM bestimmt und die Verbindung war sogar in der Lage, die Parasiten komplett abzutöten (siehe Abbildung 3-32). Allerdings ist der Oximether zytotoxisch, so dass er für therapeutische Zwecke ungeeignet ist. So war es ein Ziel, durch Strukturvariationen dieser Verbindung, die sehr gute Wirksamkeit mit einer niedrigeren Zytotoxizität zu verbinden. Ein solcher Ansatz war der Oximether **18** des 2,6-Diaryl-4-piperidons **16b**, der nach dem Vorbild der Syn-

these des 4-Piperidinoximethers **17** hergestellt werden sollte (siehe Abbildung 3-33). Da Nitrobenzylreste für die Wirksamkeit der 4-Piperidonester von Vorteil sind, wurde für die Umsetzung zu einem alternativen 2,6-Diaryl-4-piperidinoximether Verbindung **16b** gewählt, um auch hier einen eventuellen Wirksamkeitsvorteil zu haben.

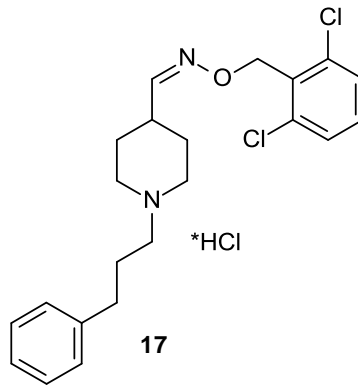


Abbildung 3-31 Struktur des Oximethers **17**

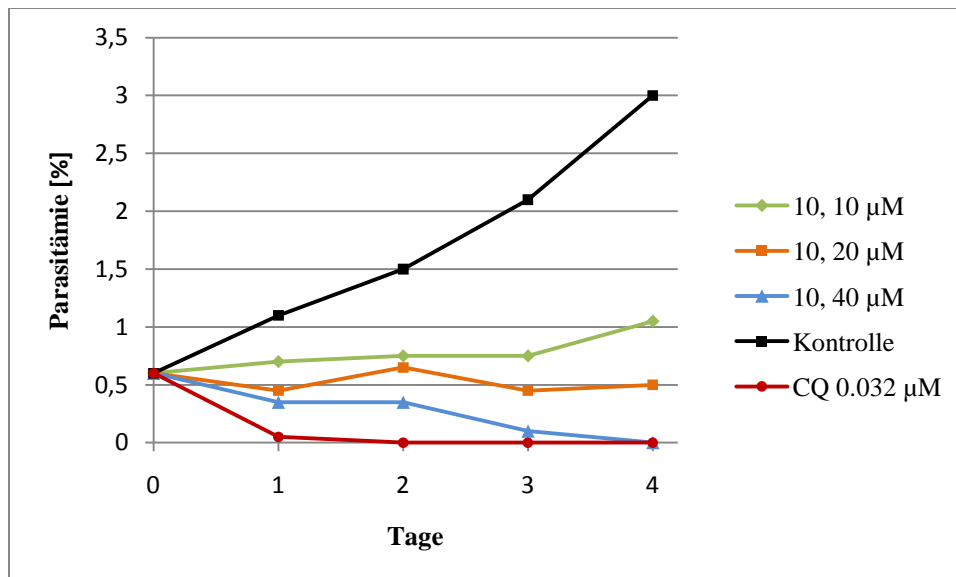


Abbildung 3-32 Entwicklung der Parasitämie von *P.falciparum* nach Behandlung mit verschiedenen Konzentrationen des Oximethers **10** im Vergleich zu Chloroquin (CQ)

Dazu wurde **16b** mit 2,6-Dichlorbenzylchlorid im stark basischen Milieu zu dem entsprechenden Oximether **18** umzusetzen (siehe Syntheschema in Abbildung 3-33).

Nach Aufreinigung des Reaktionsansatzes konnten hier nur die Edukte isoliert werden.

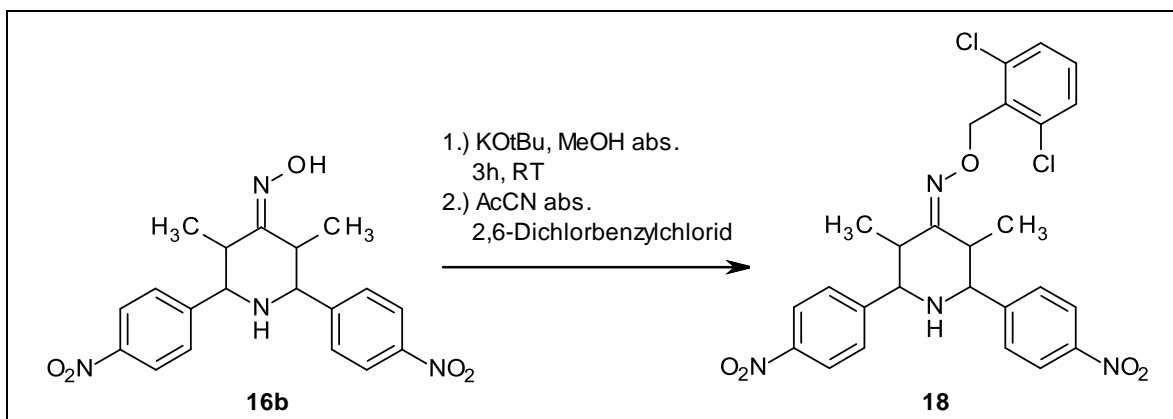


Abbildung 3-33 Syntheseversuch des Piperidinoximethers **18**

3.2.6 Synthese der Chinolonderivate

Wie schon unter 2.2 (Ziele der Arbeit) erwähnt, sollten 4-Hydroxychinolinester hergestellt werden, die die 4-Hydroxypiperidiner-Struktur beinhalten. Ihre Wirkung auf die hier relevanten Erreger sollte untersucht und mit der der 4-Hydroxypiperidiner verglichen werden. Es wurden 2 Arten von Chinolonderivaten synthetisiert: zum einen 4-Hydroxy-2-oxo-1*H*-chinolin-3-carbonsäureester **20** und zum anderen 4-Oxo-1*H*-chinolin-3-carbonsäureester **23**.

3.2.6.1 Synthese der 4-Hydroxy-2-oxo-1*H*-chinolin-3-carbonsäureester **20**

Die Synthese der 4-Hydroxy-2-oxo-1*H*-chinolin-3-carbonsäureester wird in 2 Schritten durchgeführt (Syntheschema siehe Abbildung 3-34). Im ersten Schritt wird der entsprechend substituierte 2-Aminobenzoesäuremethylester mit der Hilfsbase Triethylamin unter Argonschutzatmosphäre in wasserfreiem Dichlormethan mit Malonsäurechlorid zu der jeweiligen Zwischenverbindung **19** umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Kieselgel, Cyclohexan/ Ethylacetat 2:1 bzw. 4:3) erfolgt schließlich im zweiten Schritt der Ringschluß der Vorstufen **19** durch eine Dieckmann-Cyclisierung im Basischen zu den Chinolonen **20**.

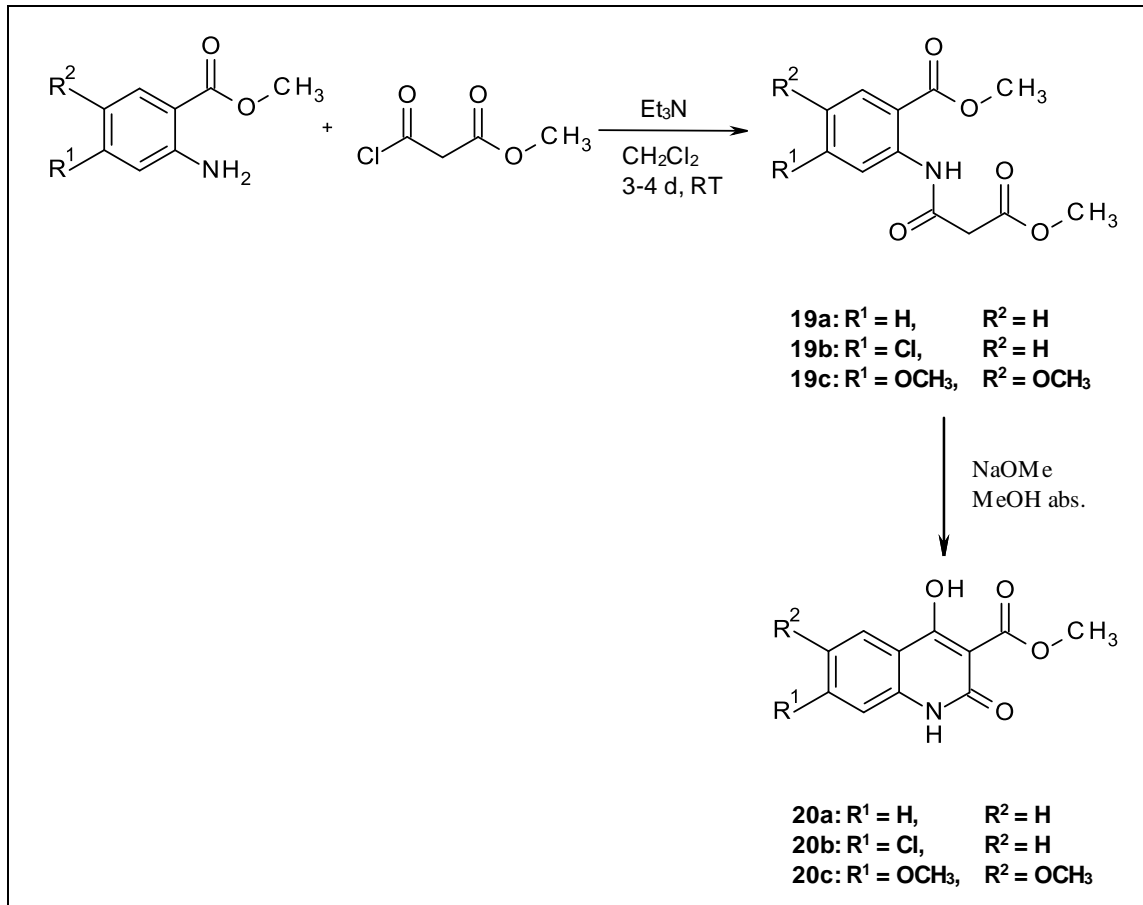


Abbildung 3-34 Synthese der 4-Hydroxy-2-oxochinolinester **20** (modifiziert nach ¹⁵⁰)

3.2.6.2 Versuch zur Amidierung der Hydroxychinoloncarbonsäureester **20**

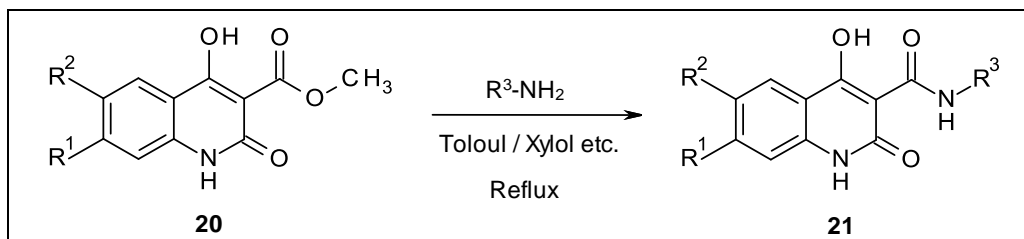


Abbildung 3-35 Amidierungsversuche der 4-Hydroxy-2-oxochinolinester **20**

Da eine Amidierung der Esterfunktionen der 4-Hydroxypiperidincarbonsäureester aufgrund der relativen Instabilität des Piperidinringes nicht durchführbar ist, wurde dies bei dem Hydroxychinoloncarbonsäureester **20** versucht, um eine eventuelle Auswirkung auf die Wirksamkeiten zu beobachten. Die Amidierung der Hydroxychinoloncarbonsäure-

ester **20** mit Benzylamin in verschiedenen Lösungsmitteln, wie Toloul und Xylol zu **21** gelang nicht. Es wurde immer das Edukt isoliert.

Darüber hinaus hätten die Amide der 4-Hydroxy-2-chinoloncarbonsäureester strukturelle Ähnlichkeit mit einigen metallchelatisierenden HIV-Integrase-Inhibitoren (siehe Abbildung 3-36).¹⁵¹ Diese Integrase-Hemmer komplexieren das Magnesiumion, was der HIV-Integrase als Cofaktor dient. Hier kann in Zukunft weiter angesetzt werden. Testungen an HI-Viren könnten über diese Arbeit hinaus folgen.

Die Synthese der Amide könnte über die entsprechenden gemischten Anhydride der Carbonsäuren und deren Aminolyse versucht werden.

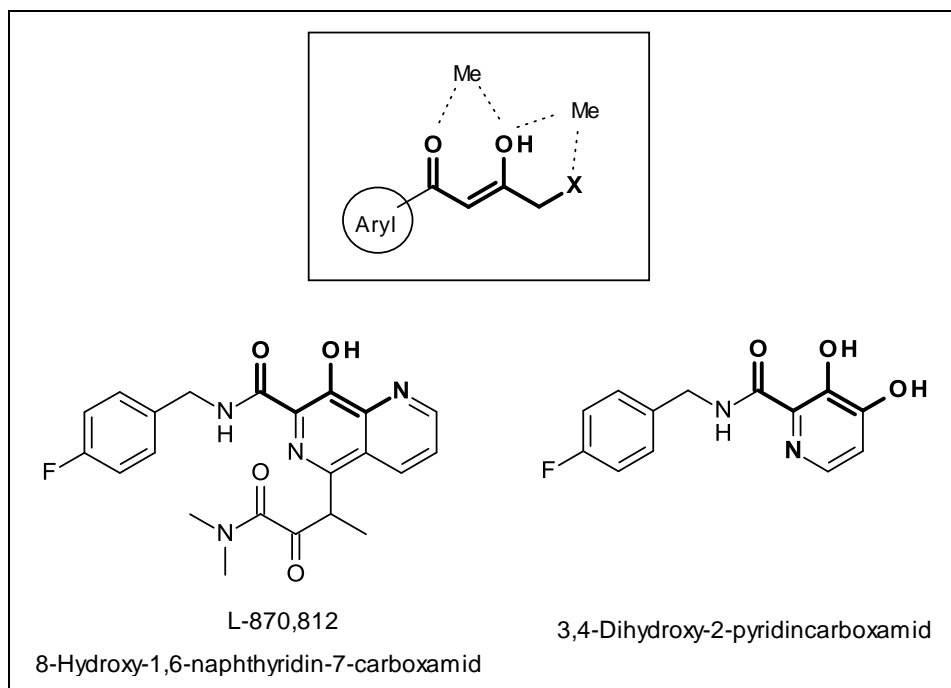


Abbildung 3-36 HIV-Integrase-Inhibitoren: allgemein wichtiges Strukturelement der Metallkomplexbildner mit 2 Beispielsubstanzen¹⁵¹

3.2.7 Synthese des 4-Oxo-1*H*-chinolin-3-carbonsäureester **23** sowie Syntheseversuch der 4-Oxo-1*H*-chinolin-3-hydroxamsäure **25**

Zusätzlich zu den 4-Hydroxy-2-oxochinolin-3-carbonsäureestern **20** wurde ein 4-Oxo-chinolin-3-carbonsäureester **23** synthetisiert, da dieser die Teilstruktur der 4-Oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester enthält. Diese ungesättigten Monoester erzielten gerade in Testungen an Plasmodien gute Ergebnisse (siehe Tabelle 1-1 unter 1.3) und so schien es interessant, den Chinoloncarbonsäureester auf seine biologische Wirksamkeit hin zu untersuchen.

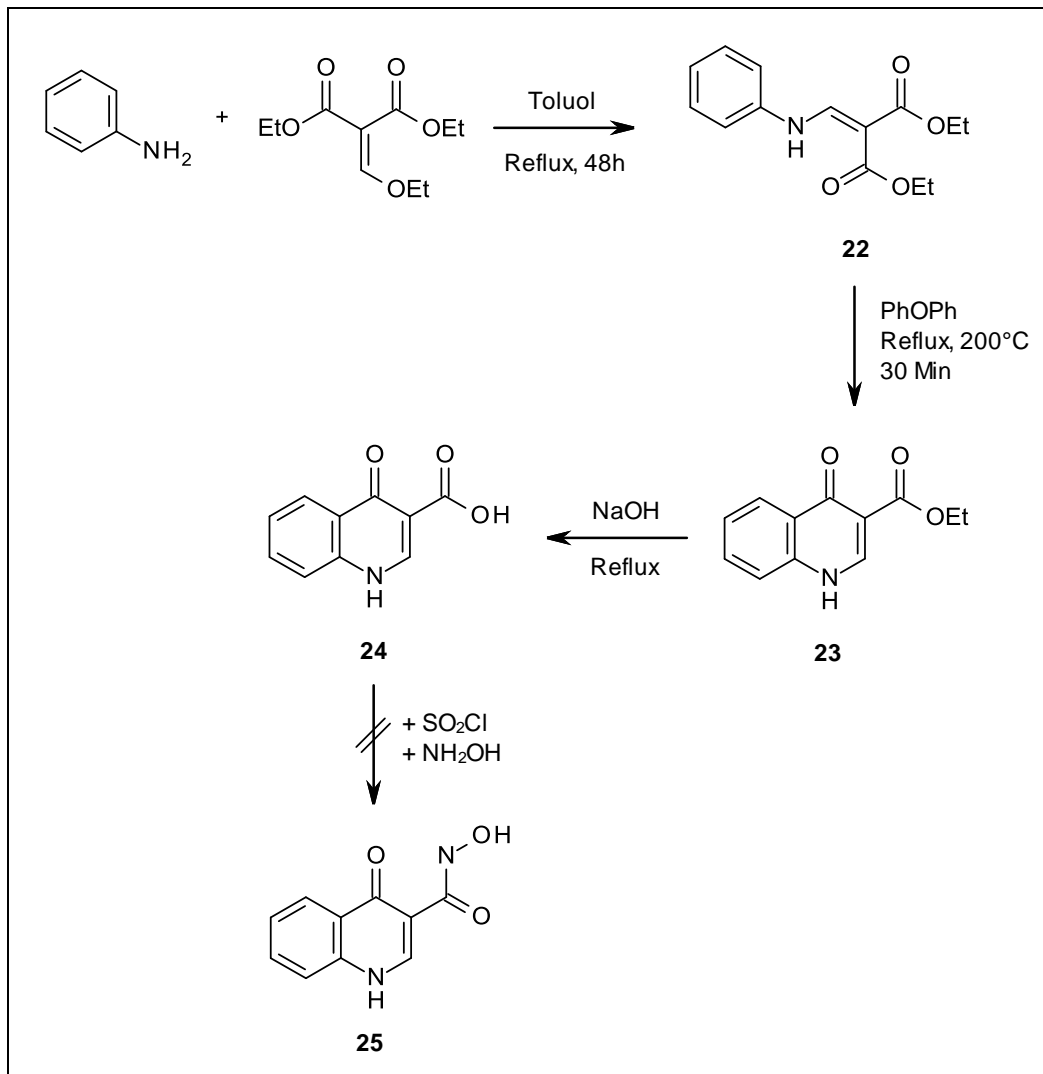


Abbildung 3-37 Syntheseversuch der Hydroxamsäure über die Chinoloncarbonsäure

Darüber hinaus wurde versucht, aus dem Chinolonester **23** über die Stufe der freien Chinoloncarbonsäure das entsprechende Hydroxamsäurederivat herzustellen. Da bekannt ist, dass Hydroxamsäuren sehr gute Komplexbildner (Chelatbildner) für Metallionen u.a. für Eisenionen sind, könnten Hydroxamsäuren potenziell das Eisen im DOHH-Zielenzym komplexieren. Eine Hydroxamsäuresynthese aus den 4-Hydroxypiperidinenestern ist aufgrund der relativen Instabilität des Piperidinringes nicht möglich, so dass sie hier versucht wurde.

Im ersten Schritt der 4-Oxochinolinester-Synthese wird Anilin mit Diethylethoxymethylenmalonat in Toluol unter Reflux zum Zwischenprodukt **22** umgesetzt (siehe Abbildung 3-37), das schließlich in Diphenylether zum 4-Oxochinolin-3-carbonsäureethylester **23** cyclisiert wird. Die weiterführende Hydrolyse des Esters **23** geschieht mit 10 %-iger NaOH-Lösung. Die so erhaltene 4-Oxochinolin-3-carbonsäuren **24** wird mit frisch destilliertem Thionylchlorid unter Rückfluss erhitzt und anschließend mit einer Mischung aus Hydroxylamin-Hydrochlorid und der Hilfsbase N-Ethyl-diisopropylamin in DMSO versetzt und mehrere Tage bei Raumtemperatur gerührt.

Die Hydroxamsäuren konnten in keinem Fall isoliert werden; es entstand immer die Ausgangssubstanz, d.h. die freie Carbonsäure.

3.3 Pharmakologische Testungen

3.3.1 Testungen an Trypanosomen

Bei den Testungen handelte es sich um *In-vitro*-Untersuchungen an *Trypanosoma-brucei-brucei*-Kulturen. Diese wurden am Institut für Tropenmedizin des Missionsärztlichen Instituts in Würzburg vorgenommen.

Die Untersuchungen erfolgten mit trypomastigoten Formen der Trypanosomen-Zelllinie *TC 221*, die in einer 96-Loch-Zellkulturplatte im Baltz-Medium kultiviert wurden.

Das allgemeine Vorgehen dieser Bestimmung wird im Folgenden kurz dargestellt: ^{152,153}

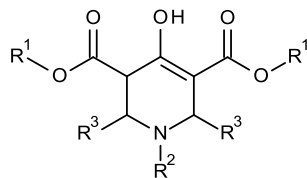
Die Testsubstanzen werden in einer Konzentration von 10 mM in DMSO gelöst und so mit Baltz-Medium verdünnt, dass sie in einer Endkonzentration von 100 μM – 10 pM vorliegen. Die Messungen werden jeweils in einem Lösungsvolumen von 200 μl durchgeführt. Dazu werden in jedes Loch der Kulturplatte 160 μl Baltz-Medium, 20 μl der jeweiligen Verdünnungsstufe der Testsubstanzen sowie 20 μl Zellsuspension gegeben. Nach 24-stündiger Inkubation bei 37 °C werden jedem Ansatz 20 μl des reduktions-sensitiven Indikators AlamarBlue zupipettiert, um nach insgesamt 48 h sowie nach 72 h durch photometrische Messung mittels eines Elisa-Readers die metabolische Aktivität der Zellkulturen über die Absorption bei 550 sowie 630 nm zu bestimmen. Dabei ist die Absorptionzunahme direkt proportional zur metabolischen Aktivität der Trypanosomen-Zellen. Der Vergleich mit der Aktivität einer Kontrollpopulation dient als Aussage über eine mögliche Hemmwirkung der jeweils eingesetzten Verdünnungen der Testsubstanzen.

Für jede zu testende Substanz werden zwei Negativkontrollen, d.h. nur das entsprechende Medium inklusive Lösungsmittel sowie Medium mit 100 μM der Testsubstanz angesetzt. Zur Wachstumskontrolle, also Positivkontrolle, dient nur Zellsuspension-enthaltendes Medium. Als Referenzsubstanz wird Pentamidin eingesetzt. Aus je 3 Experimenten wird für jede Substanz durch lineare Interpolation die wachstumshemmende Wirkung als IC_{50} -Wert ermittelt.

Für jede Substanz wurde zusätzlich die Zytotoxizität bestimmt. Für diese Testungen wurde die Makrophagen-Zelllinie *J774.1* verwendet, deren Kultivierung im *RPMI*-Medium stattfand. Bei den Untersuchungen ging man analog der oben beschriebenen Methode vor (AlamarBlue-Assay). Als Maß für die zytotoxische Wirkung der Substanzen erhält man IC_{50} -Werte nach einer Inkubationsdauer von 48 h.

3.3.1.1 Testergebnisse der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridindiester-Verbindungen

Folgende Derivate wurden *in vitro* an *Trypanosoma brucei brucei* sowie an der Makrophagen-Zelllinie *J774.1* getestet.



Nr.	R ¹	R ²	R ³	<i>T. br. br.</i> 48 h IC ₅₀ [μM]	<i>T. br. br.</i> 72 h IC ₅₀ [μM]	Makrophagen <i>J774.1</i> IC ₅₀ [μM]
(a) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäuredimethylester						
1a	CH ₃	allyl	Ethyl	14.97 ±2.97	25.9 ±5.91	> 79
1b	CH ₃	3-methylpyridyl	Ethyl	n.b.	n.b.	n.b.
1c	CH ₃	benzyl	Ethyl	> 40	> 40	> 100
1d	CH ₃	4-methylbenzyl	Ethyl	7.77 ±1.34	11.25 ±2.05	> 100 (40.8%)
1e	CH ₃	4-methoxybenzyl	Ethyl	30.7 ±13.16	> 40	> 100
1f	CH ₃	4-chlorbenzyl	Ethyl	10.59 ±1.57	17.73 ±4.48	> 76
1g	CH ₃	benzyl	Propyl	> 40	> 40	> 100
1h	CH ₃	4-methoxybenzyl	Propyl	32.97 ±9.94	> 40	> 100
1i	CH ₃	3-nitrobenzyl	Propyl	10.56 ±1.67	15.50 ±0.76	88
1j	CH ₃	4-nitrobenzyl	Propyl	8.39 ±0.06	12.28 ±1.22	> 100 (31%)
(b) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäurediethylester						
2a	C ₂ H ₅	benzyl	Ethyl	9.29 ±2.84	15.38 ±0.62	> 100
2b	C ₂ H ₅	4-methoxybenzyl	Ethyl	21.74 ±1.59	> 40	> 100
2c	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	Ethyl	14.41 ±1.61	17.39 ±0.96	64.8
2d	C ₂ H ₅	3-nitrobenzyl	Ethyl	8.31 ±1.04	13.38 ±2.33	85
2e	C ₂ H ₅	4-nitrobenzyl	Ethyl	14.61 ±1.38	17.4 ±0.74	61.2
2f	C ₂ H ₅	benzyl	Propyl	12.74 ±2.14	18.65 ±0.35	> 75
(c) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäure-di-<i>t</i>-butylester						
3a	<i>t</i> -Butyl	methyl	Ethyl	28.32 ±3.34	34.33 ±4.64	49.25
3b	<i>t</i> -Butyl	propyl	Ethyl	22.04 ±7.73	29.57 ±1.87	34.47
3c	<i>t</i> -Butyl	3-hydroxypropyl	Ethyl	9.95 ±1.17	17.59 ±4.61	44.8
3d	<i>t</i> -Butyl	propyl	Propyl	8.52 ±3.44	11.29 ±3.32	47.2
3e	<i>t</i> -Butyl	allyl	Propyl	22.98 ±7.77	29.4 ±0.83	> 100

Tabelle 3-12 Testergebnisse der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäurediester-Verbindungen an *T. brucei brucei* und Makrophagen; n.b. = nicht bestimmt; [zum Vergleich: Pentamidin-diisethionat: IC₅₀ (*Tr. br. br.*) = 0.003 μM, IC₅₀ (Makrophagen) = 42 μM; Eflornithin: IC₅₀ (*Tr. br. br.*) = 23 μM, IC₅₀ (Makrophagen) = >100 μM; Suramin: IC₅₀ (*Tr. br. br.*) = 0.3 μM, IC₅₀ (Makrophagen) = >100 μM; Nifurtimox: IC₅₀ (*Tr. br. br.*) = 3.4 μM, IC₅₀ (Makrophagen) = >100 μM]

Für die Wirksamkeit der Methyl- und Ethylester spielt die Kettenlänge der Alkylsubstitution in den Positionen 2 und 6 keine Rolle. Es sind keine signifikanten Wirksamkeitsunterschiede zwischen den Verbindungen mit Ethyl- und Propylseitenkette mit ansonsten gleichem Substitutionsmuster zu erkennen (vgl. Verbindungen **1e**, **1h** nach 48 h bzw. **2a**, **2f**). Bei den Methylestern haben substituierte Benzylreste am Stickstoff einen Wirksamkeitsvorteil gegenüber reinen Benzylresten. Bei den Ethylestern spielt dies keine Rolle mehr, da beide Varianten mit der Ausnahme von Verbindung **2b** ähnliche Aktivitäten aufweisen. **2b** mit dem 4-Methoxybenzyl-Rest am Stickstoff ist genauso wie die am Stickstoff gleich substituierten Methylester **1e** und **1h** nach 72 h unwirksam.

Die Methyl-, Chlor- und Nitro-Substitutionen am Benzylrest sind hier der Methoxy-Substitution überlegen.

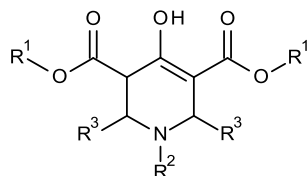
Die Ethylester-Derivate **2a** und **2f** zeigen im Vergleich zu den gleichartig substituierten, unwirksamen Methylester-Derivaten **1c** und **1g** bei ähnlich geringer Zytotoxizität eine Hemmwirkung. Hierbei könnte die bessere Wasserlöslichkeit der Ethylester im Vergleich zu den Methylestern eine Rolle spielen. Ansonsten verfügen die Ethylester über ähnliche inhibitorische Aktivitäten und auch zytotoxische Eigenschaften wie die Methylester.

Die *t*-Butylester-Derivate besitzen ähnlich gute bis moderate Wirksamkeiten wie die Methyl- und Ethylester. Jedoch ist hier bis auf Verbindung **3e** die Zytotoxizität erhöht. Bis auf diese Ausnahme liegen die IC₅₀-Werte an Makrophagen unter 50 µM. Allerdings kann man keine N-Benzyl-Derivate als Vergleich heranziehen, da hier ausschließlich N-alkylsubstituierte Substanzen erhalten werden konnten.

Verbindung **3d** mit Propyl-Seitenketten in Position 2 und 6 hat eine höhere Wirksamkeit als **3b**, die kürzere Ethyl-Seitenketten, aber ansonsten gleiche Substitutionen besitzt.

An den inhibitorischen Aktivitäten erkennt man, dass die Alkylketten am Stickstoff gegenüber den aromatischen Substitutionen der Methyl- und Ethylester keinen Wirksamkeitsnachteil besitzen.

3.3.1.2 Testergebnisse der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridindiester-Verbindungen



Nr.	R ¹	R ²	R ³	<i>T. br. br.</i> 48 h IC ₅₀ [μM]	<i>T. br. br.</i> 72 h IC ₅₀ [μM]	Makrophagen <i>J774.1</i> IC ₅₀ [μM]
(a) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäuredimethylester						
4a	CH ₃	propyl	2-Pyridyl	5.69 ±1.86	4.3 ±0.5	23.54
4b	CH ₃	allyl	2-Pyridyl	21.58 ±7.97	27.34 ±4.92	>100
4c	CH ₃	2-hydroxyethyl	2-Pyridyl	28.81 ±0.38	29.26 ±2.57	32.29
4d	CH ₃	3-methylpyridyl	2-Pyridyl	4.66 ±1.97	16.05 ±10.74	32.98
4e	CH ₃	3-methylpyridyl	4-Pyridyl	34.78 ±5.57	39.87 ±1.19	>100
4f	CH ₃	methyl	3-Nitrophenyl	11.41 ±0.42	24.69 ±3.94	30.41
4g	CH ₃	4-nitrobenzyl	3-Nitrophenyl	1.84 ±0.66	3.27 ±0.25	>100
4h	CH ₃	methyl	4-Nitrophenyl	10.25 ±1.48	16.35 ±0.69	65.8
4i	CH ₃	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	1.2 ±0.82	2.23 ±0.76	>100
4k	CH ₃	4-chlorbenzyl	4-Bromphenyl	n.b.	n.b.	>100
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäurediethylester						
5a	C ₂ H ₅	Allyl	4-Pyridyl	2.36 ±1.03	3.24 ±0.61	68.3
5b	C ₂ H ₅	Cyclopropyl	3-Nitrophenyl	3.6 ±0.26	5.44 ±1.7	>100
5d	C ₂ H ₅	Cyclopropyl	4-Nitrophenyl	0.29 ±0.54	2.06 ±0.55	>100
5f	C ₂ H ₅	4-methoxybenzyl	4-Nitrophenyl	2.79 ±0.06	3.59 ±0.07	>100
5g	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	4-Nitrophenyl	0.83 ±0.48	2.22 ±0.19	>100
(c) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäure-di-<i>t</i>-butyl-ester						
6a	<i>t</i> -Butyl	propyl	Phenyl	1.02 ±2.24	3.33 ±0.79	>100
6b	<i>t</i> -Butyl	allyl	3-Nitrophenyl	3.24 ±0.07	3.51 ±0.11	>100
6c	<i>t</i> -Butyl	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	3.23 ±0.07	3.48 ±0.09	>100
6d	<i>t</i> -Butyl	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	1.56 ±1.42	2.12 ±1.61	>100

Tabelle 3-13 Testergebnisse der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-dicarbonsäurediester-Verbindungen an *T. brucei brucei* und Makrophagen; n.b. = nicht bestimmt

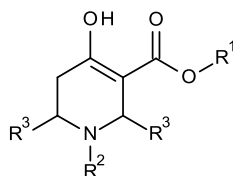
Mit in 2- und 6-Stellung 2-pyridylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridindimethylestern, v.a. mit der literaturbekannten Verbindung **4a**, konnten gute Wirksamkeiten erreicht werden, die sich durch das Einfügen von Nitrophenyl-Resten noch weiter steigern ließen. Durch den Austausch der 2-Pyridyl-Gruppe gegen die Nitrophenyl-Reste konnte zusätzlich die Zytotoxizität gesenkt werden (vergleiche **4g** und **4i**). Das Einfügen von 4-Pyridyl-Substituenten in Position 2 und 6 anstatt den 2-Pyridyl-Resten brachte eine Verschlechterung der Wirksamkeit, jedoch eine geringere Zytotoxizität (siehe **4e**). Man erkennt, dass 4-Nitrophenyl-Reste gegenüber 3-Nitrophenyl-Gruppen einen leichten Wirksamkeitsvorteil und eine geringere Zytotoxizität aufweisen (vergleiche **4f** und **4h**). Methylgruppen am Stickstoff scheinen einen Wirksamkeitsnachteil zu haben und die zytotoxische Wirkung zu erhöhen (siehe **4f** und **4h**).

Mit den Ethylestern konnte die Wirksamkeit leicht gesteigert werden. Nach 48 h erreicht man sogar IC_{50} -Werte, die unter $1 \mu M$ liegen (**5d** und **5g**). Im Gegensatz zu den Methylestern zeichnet sich hier der 4-Pyridyl-Rest an den Positionen 2 und 6 durch eine sehr gute Wirksamkeit aus, die im Bereich der Nitrophenyl-substituierten Substanzen liegt. Aber auch an dieser Stelle wird sowohl der allgemeine Zytotoxizitätsvorteil der Nitrophenylsubstitution als auch die bessere Wirksamkeit der Verbindungen mit 4-Nitrophenyl- im Vergleich zu denen mit 3-Nitrophenyl-Resten deutlich.

Mit einer *t*-Butyl-Veresterung werden ähnlich gute Wirksamkeitswerte bei gleichbleibend geringer Zytotoxizität wie bei den Ethylestern erreicht. Auch hier ist das 4-Nitrophenyl-Derivat leicht wirksamer als das 3-Nitrophenyl-Derivat. Im Vergleich zu den 2,6-dialkylsubstituierten *t*-Butyl-Diestern besitzen die 2,6-diarylsubstituierten neben den besseren Wirksamkeiten auch eine geringere Zytotoxizität.

Man erkennt deutlich, dass bei den Testungen an Trypanosomen die 2,6-diarylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridindiestere den 2,6-dialkylsubstituierten Derivaten überlegen sind. Ebenso konnte mit den aromatischen Resten in den Positionen 2 und 6, v.a. mit Nitrophenylresten, die zytotoxische Wirkung verringert werden (siehe 3.3.1.1).

3.3.1.3 Testergebnisse der 4-Hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester-Verbindungen



Nr.	R ¹	R ²	R ³	<i>T. br. br.</i> 48 h IC ₅₀ [μM]	<i>T. br. br.</i> 72 h IC ₅₀ [μM]	Makrophagen <i>J774.1</i> IC ₅₀ [μM]
(a) 2,6-Diaryl-4-Hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäuremethylester						
7a	CH ₃	benzyl	2-Pyridyl	1.37 ± 0.02	n.b.	33.17 ± 0.69
7b	CH ₃	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	0.84 ± 0.36	0.51 ± 0.34	45.7
(b) 2,6-Diaryl-4-Hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureethylester						
7c	C ₂ H ₅	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	0.49 ± 0.19	0.30 ± 0.21	6.9
7d	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	3-Nitrophenyl	0.03 ± 0.2	0.45 ± 0.01	43.0
(c) 2,6-Dialkyl-4-Hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäuremethylester						
8a	CH ₃	4-chlorbenzyl	Ethyl	15.44 ± 1.28	18.17 ± 0.2	44.3

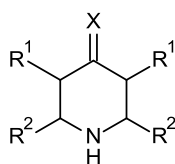
Tabelle 3-14 Testergebnisse der 2,6-Dialkyl-/aryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester-Verbindungen an *T. brucei brucei* und Makrophagen; n.b. = nicht bestimmt

Die Monoesterderivate sind die potentesten Verbindungen an Trypanosomen. Sie haben im Vergleich zu den Diesterderivaten mit vergleichbarem Substitutionsmuster eine über 10-fach höhere Wirksamkeit. Mit **7d** ließ sich sogar nach 48 h eine Wirksamkeit im nanomolaren Bereich erzielen (IC₅₀ = 30 nM). Jedoch konnte diese Überlegenheit nach 72 h nicht bestätigt werden. Allerdings verfügen alle Monoester auch über eine höhere Zytotoxizität. Aber da die Zytotoxizitätswerte von **7d** 100-mal höher sind als die Aktivitätswerte, kann man hier von einer neuen antitrypanosomalen Leitverbindung sprechen.

Ausgenommen von den Wirksamkeitssteigerungen ist der 2,6-dialkylierte Monoester **8a**. Dieser liegt im Bereich seines Diesterpendants **1f** (IC₅₀ = 17 μM), allerdings bei höherer Zytotoxizität. Die fehlende Esterfunktion macht sich, die Wirksamkeit betreffend, vermutlich nur bei den 2,6-diarylsubstituierten Substanzen bemerkbar. Jedoch konnte nur

ein 2,6-dialkylierter Monoester synthetisiert werden, so dass man dahingehend keine generellen Aussagen treffen kann. Interessant wäre hier die Auswirkung einer 4-Nitrophenylsubstitution auf Wirksamkeit und Zytotoxizität. Leider gelang es aber nicht, eine solche Verbindung herzustellen.

3.3.1.4 Testung der 4-Piperidonabkömmlinge und Hydroxychinolone



Nr.	R ¹	R ²	X	<i>T. br. br.</i> 48 h IC ₅₀ [μM]	<i>T. br. br.</i> 72 h IC ₅₀ [μM]	Makrophagen <i>J774.1</i> IC ₅₀ [μM]
(a) 2,6-Dialkyl-4-piperidone						
13a	H	CH ₃	O	>100	>100	>100
13b	H	C ₂ H ₅	O	>100	>100	>100
(b) 2,6-Dialkyl-4-piperidinoxime						
14a	H	CH ₃	N-OH	>100	>100	>100
14b	H	C ₂ H ₅	N-OH	>100	>100	>100
(c) 2,6-Diaryl-3,5-dimethyl-4-piperidone						
15a	CH ₃	Phenyl	O	>100	>100	>100
15b	CH ₃	4-Nitrophenyl	O	51.14	>100	>100
15c	CH ₃	3-Nitrophenyl	O	2.61	3.35	35.66
(d) 2,6-Diaryl-3,5-dimethyl-4-piperidinoxime						
16a	CH ₃	Phenyl	N-OH	>100	>100	>100
16b	CH ₃	4-Nitrophenyl	N-OH	18.28	28.67	>100

Tabelle 3-15 Testergebnisse der verschiedenen 4-Piperidonderivate und der entsprechenden Oxime an *T. brucei brucei* und Makrophagen

Bei den 2,6-Dialkyl-4-piperidonen und den dazugehörigen Oximen wurde keine Wirksamkeit an dem Trypanosomenerreger festgestellt (siehe Tabelle 3-15). Durch die Erhöhung des Substitutionsgrades konnte die Wirksamkeit gesteigert werden. Mit dem 2,6-Diaryl-3,5-dimethyl-4-piperidon **15c** ließ sich eine gute Wirksamkeit an *T. brucei brucei* erreichen, jedoch erhöht sich hierbei auch die zytotoxische Aktivität. Das Oximderivat **16b** zeigt im Vergleich zu der Ausgangsverbindung **15b** verbesserte Aktivitäten an Trypanosomen.

Diese Testungsdaten lassen die Aussage zu, dass sich mit erhöhter Substitution am 4-Piperidonring sowie mit Einführung einer Oximgruppe die Wirksamkeit an Trypanosomen erhöhen lässt.

Die 4-Hydroxy-2-oxochinolinderivate **20**, der 4-Oxochinolin-3-carbonsäureester **23**, die entsprechende freie 4-Oxochinolin-3-carbonsäure **24** sowie die jeweiligen Vorstufen **19** und **22** wurden ebenfalls an *Trypanosoma brucei brucei* und der Makrophagenzelllinie *J774.1* getestet. Dabei wurde aber bei keiner Verbindung eine Wirksamkeit festgestellt. Alle Substanzen zeigten zwar gute Zytotoxizitätswerte an Makrophagen ($IC_{50} > 100 \mu M$), jedoch lagen die Aktivitäten an Trypanosomen alle ebenfalls über einem IC_{50} -Werte von $100 \mu M$.

Das Azomethin-Nebenprodukt (siehe Abbildung 3-38), das bei einem Monoester-Syntheseversuch aus p-Aminophenol und 3-Nitrobenzaldehyd entstand (siehe unter 3.2.2.3), erreichte an Trypanosomen IC_{50} -Werte von $32.85 \mu M$ nach 48h und $41.06 \mu M$ nach 72h bei jedoch zelltoxischen Eigenschaften (IC_{50} an Makrophagen = $34.14 \mu M$).

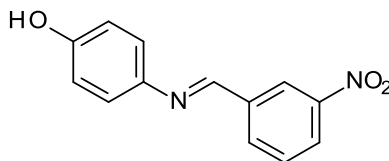


Abbildung 3-38 Das Azomethin-Nebenprodukt

3.3.2 Testungen an Plasmodien

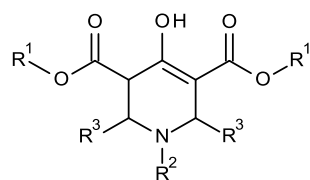
3.3.2.1 Testungen mit dem Malstat-Assay

Die Bestimmung der antiplasmodialen Aktivität wurde *in vitro* an humanpathogenen *P. falciparum*-Kulturen am Institut für Molekulare Infektionsbiologie in Würzburg von der Arbeitsgruppe von Dr. Gabriele Pradel durchgeführt.

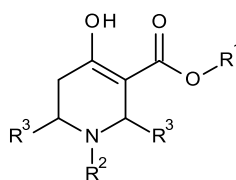
Unter Verwendung des sogenannten Malstat-Assays wird die Wachstumshemmung der eingesetzten Substanzen auf parasitäre Blutstadien (Merozoiten in Erythrozyten) untersucht. Man bestimmt hierbei die Aktivität einer Plasmodien-spezifischen Laktatdehydrogenase (pLDH) mit Hilfe des Malstat-Farbreagens. Dies lässt schließlich Rückschlüsse auf die verbleibende Parasitenaktivität zu.¹⁵⁴ Zur Verwendung kommen der chloroquin-sensitive *P. falciparum*-Stamm NF54 sowie sein Klon 3D7.

Der Assay wird in 96-Loch-Mikrotiterplatten durchgeführt. In jedes Loch werden 180 µl einer auf 1% Parasitämie eingestellten Plasmodien-Blutkultur sowie 20 µl von jeweils verschiedenen Verdünnungsstufen der zu bestimmenden Testsubstanz pipettiert. Die Substanzen werden vorher in DMSO gelöst und entsprechend so verdünnt, dass pro Mikrotiterplatten-Loch eine Endkonzentration von 10^{-2} mM bis 10^{-8} mM Substanz sowie 0,5% DMSO erreicht wird. Als Kontrolle wird der chloroquinresistente *P. falciparum*-Stamm (CQR) mit Pyrimethamin-Medium, der chloroquinsensitive Plasmodienstamm 3D7 mit Chloroquin-Medium sowie nur Kulturmedium mit DMSO verwendet.

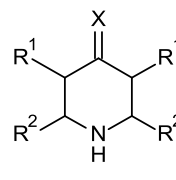
Nach einer 72-stündigen Inkubationszeit der Plasmodienkulturen mit den Testsubstanzen werden 20 µl von jedem Loch auf eine neue Mikrotiterplatte übertragen und mit 100 µl Malstat-Lösung sowie einem Farbstoffreagenz versetzt. Nach einer weiteren ca. 1-stündigen Inkubation wird durch photometrische Bestimmung mittels Elisa-Reader die Absorption bei einer Wellenlänge von 630 nm gemessen. Somit sind Rückschlüsse auf die Aktivität der Laktatdehydrogenase und damit auf die Parasitämie möglich. Pro Verdünnungsstufe jeder einzelnen Substanz wird eine Dreifachbestimmung durchgeführt und daraus ein gemittelter IC_{50} -Wert berechnet.



1-6



7,8



15

Nr.	R ¹	R ²	R ³	<i>P. falciparum</i> IC ₅₀ [μM]
(a) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-2,6-dicarbonsäurediester				
1e	CH ₃	4-methoxybenzyl	Ethyl	keine Wirkung
1f	CH ₃	4-chlorbenzyl	Ethyl	38.27 / >50 ⁺
1j	CH ₃	4-nitrobenzyl	Propyl	32.04 ± 3.17
2b	C ₂ H ₅	4-methoxybenzyl	Ethyl	33.72 / >50 ⁺
2e	C ₂ H ₅	4-nitrobenzyl	Ethyl	19.48 ± 0.49
3e	<i>t</i> -Butyl	allyl	Propyl	3.27 ± 0.78
(b) 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-2,6-dicarbonsäurediester				
4e	CH ₃	3-methylpyridyl	4-Pyridyl	keine Wirkung
4g	CH ₃	4-nitrobenzyl	3-Nitrophenyl	5.55 ± 0.63
4h	CH ₃	methyl	4-Nitrophenyl	>100
4i	CH ₃	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	6.59 ± 2.05
4j	CH ₃	4-chlorbenzyl	4-Bromphenyl	4.76 ± 0.12
5a	C ₂ H ₅	allyl	4-Pyridyl	30.70 ± 9.95
5b	C ₂ H ₅	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	7.36 ± 0.28
5c	C ₂ H ₅	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	4.09 ± 0.27
5d	C ₂ H ₅	4-methoxybenzyl	4-Nitrophenyl	1.89 ± 0.39
5e	C ₂ H ₅	4-chlorbenzyl	4-Nitrophenyl	1.83 ± 0.03
6b	<i>t</i> -Butyl	allyl	3-Nitrophenyl	2.99 ± 2.29*
6c	<i>t</i> -Butyl	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	0.67 ± 0.10*
6d	<i>t</i> -Butyl	cyclopropyl	4-Nitrophenyl	0.73 ± 0.16
(c) 4-Hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester				
7a	CH ₃	benzyl	2-Pyridyl	>100
7b	CH ₃	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	>100
7c	C ₂ H ₅	cyclopropyl	3-Nitrophenyl	8.59 ± 2.73
8a (203)	CH ₃	4-chlorbenzyl	Ethyl	28.21 ± 1.81

Nr.	R ¹	R ²	R ³	<i>P. falciparum</i> IC ₅₀ [μM]
(d) 2,6-Diaryl-3,5-dimethyl-4-piperidone				
Nr.	R ¹	R ²	X	<i>P. falciparum</i> IC ₅₀ [μM]
15b	CH ₃	4-Nitrophenyl	O	23.62
15c	CH ₃	3-Nitrophenyl	O	47.65

Tabelle 3-16 Testergebnisse der 4-Hydroxytetrahydropyridin- und monoester-Verbindungen **1-8** sowie der 2,6-Diarylpiperidone **15** an *P. falciparum*

⁺ hier liegen nur 2 Messwerte vor (1.Messwert / 2. Messwert); * nicht vollständig gelöst

Die 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-dialkyldiester haben einen moderaten Hemmeffekt auf die Plasmodienkultur. Einzig der *t-Butyl*-Ester **3e** mit einem IC₅₀ von 3.27 μM zeigt eine gute Wirkung.

Die Verbindungen mit Arylsubstitutionen an den Positionen 2 und 6 haben im Allgemeinen einen Wirksamkeitsvorteil gegenüber den 2,6-dialkylsubstituierten Substanzen. Auch bei den 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-diaryldiestern zeigen die *t-Butyl*-Ester die beste (10-fach höhere) Wirksamkeit. Scheinbar sind hier großvolumigere Ester von Vorteil. **6b** und **6c** konnten nicht vollständig in Lösung gebracht werden, so dass die effektiv eingesetzte Konzentration sogar noch geringer war, als in der Berechnung des IC₅₀-Wertes berücksichtigt wurde.

Bei den Ethylestern ist im Vergleich zu den Methylestern eine leichte Wirkungssteigerung zu erkennen. Die besten Aktivitäten erreichte man mit einer 3- bzw. 4-Nitrophenylsubstitution an der 2- und 6-Position, so dass auch hier vorrangig diese Derivate getestet wurden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass von den Methylestern bis hin zu den *t-Butyl*-Estern die Wirkung gegen Plasmodien zunimmt. Mit den *t-Butyl*-Estern konnte eine 10-fache Wirkungssteigerung im Vergleich zu den Methylestern an Plasmodien erzielt werden, bei gleichzeitig geringerer Zytotoxizität aufgrund der Nitrosubstitutionen an Position 2 und 6 (siehe unter 3.3.1.2).

Mit den Monoester-Derivaten ließ sich keine Wirkungssteigerung erreichen (vgl. **7c** und **5b, 7d** und **1f**).

Das 4-Hydroxy-2-oxochinolinderivat **20b** wurde mit dieser Methode ebenfalls an Plasmodien getestet. Es zeigte mit einem IC_{50} von über 100 μ M jedoch keine Wirksamkeit.

3.3.2.2 *P. falciparum* In-vitro-Toxizitäts-Assay

Weitere *In-vitro*-Untersuchungen an Plasmodien wurden vom Institut für Medizinische Parasitologie der Universität Bonn (Arbeitsgruppe Prof. Dr. Achim Hörauf) vorgenommen.

Verwendet wurde der chloroquinsensitive *P. falciparum* NF54-Klon 3D7. Die Kultivierung des Stammes in humanen Erythrozyten geschah nach *Moloney et al.*¹⁵⁵ sowie *Traeger und Williams.*¹⁵⁶

Die Plasmodien-Blutkultur wird auf eine Parasitämie von 1% eingestellt und auf 12-Well-Mikrotiterplatten aliquotiert. Nach einer 1:10-Verdünnung mit RPMI-Medium wird die jeweilige, in DMSO gelöste Testsubstanz hinzugefügt und bei 37 °C inkubiert. Über 72 h wird jeden Tag das Ausmaß der Parasitämie bestimmt. Dazu wird ein Blutkultur-Ausstrich mit Giemsa angefärbt und durch Auszählen von 1000 Erythrozyten mittels Lichtmikroskopie die Anzahl der infizierten Zellen ermittelt (4-fach-Bestimmung). Als Kontrolle dienen eine reine Plasmodienkultur, eine Kultur mit 100 nM Chloroquin (CQ) sowie eine Kultur versetzt mit 100 nM Dihydroartemisinin (DHA).

Die zu untersuchenden Substanzen werden zunächst in einer Konzentration von 50 μ g/ml eingesetzt. Tritt bei dieser Konzentration innerhalb von 3 Tagen eine Wachstumshemmung der Parasitenkulturen auf, so werden die Substanzen in verschiedenen Verdünnungen nochmals getestet. Die IC_{50} -Werte erhält man durch lineare Regression anhand der Inhibitionswerte bei den entsprechenden Verdünnungsstufen der jeweiligen Substanz.

3.3.2.2.1 Entwicklung der Parasitämie innerhalb von 3 Tagen bei Substanzkonzentrationen von 50 µg/ml

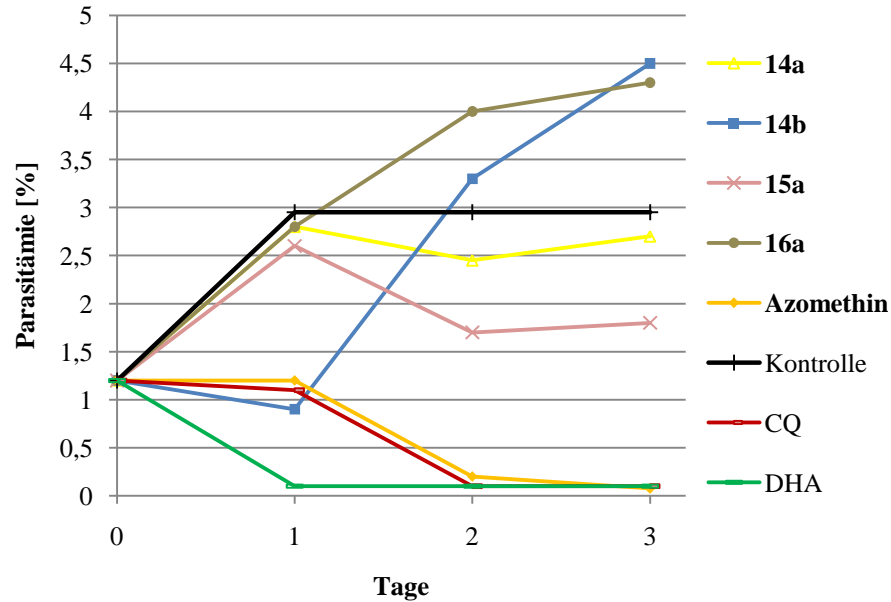


Abbildung 3-39 Inhibitorische Aktivität der Substanzen **14a**, **14b**, **15a**, **16a** und dem Azomethin-Nebenprodukt (Konzentrationen jeweils 50 µg/ml) im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA)

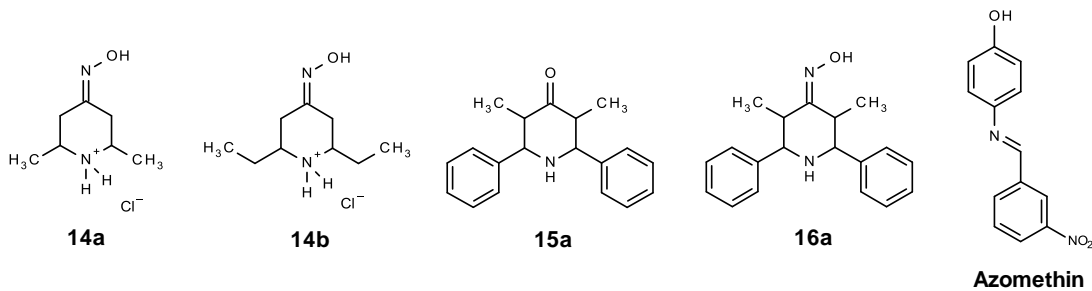


Abbildung 3-40 Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen

Mit dem Oxim **16a** erreicht man einen schlechteren Effekt auf die Parasitämie im Vergleich zur Ausgangssubstanz **15a**. Während 4-Piperidon **15a** noch eine leichte Hemmung zeigt, liegt die Zahl der infizierten Erythrozyten beim abgeleiteten Oxim **16a** sogar noch über der Kontrollpopulation. Auch mit den Oximen **14a** und **14b** erreicht man keine Verbesserung der Wirksamkeit im Vergleich zu deren Ausgangssubstanzen **13a** und **13b** (siehe Abbildung 3-41).

Einzig mit dem Azomethin-Nebenprodukt konnte man eine komplette Hemmung der Plasmodienkultur erzielen, was aber auch an seiner Zytotoxizität liegen kann.

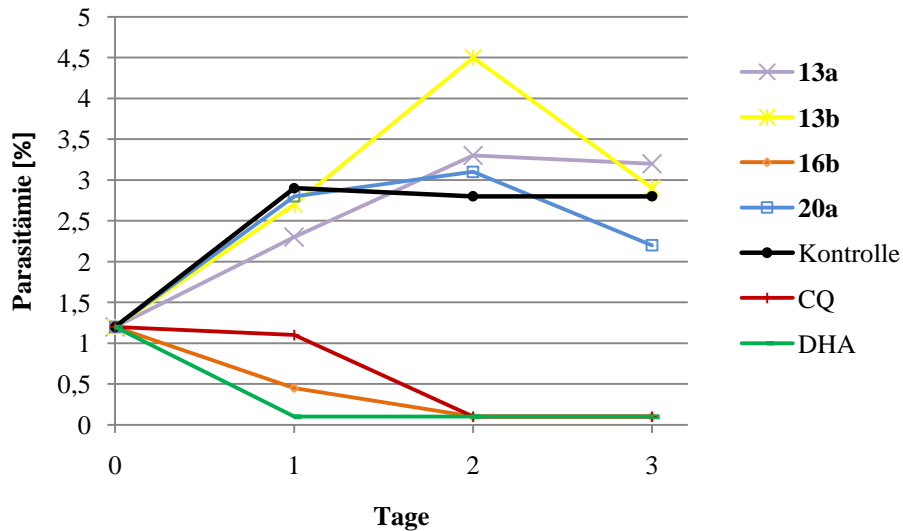


Abbildung 3-41 Inhibitorische Aktivität der Substanzen **13a**, **13b**, **16b** und **20a** (Konzentrationen jeweils 50 µg/ml) im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA)

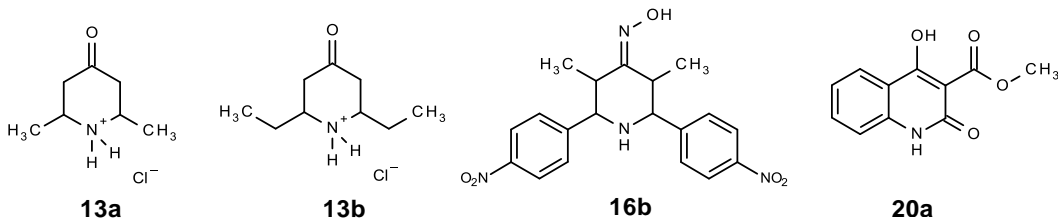


Abbildung 3-42 Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen

Während **13a**, **13b** und **20a** keine bzw. nur eine sehr geringe Hemmwirkung erzielen konnten, lag die Hemmung des 4-Piperidinoxims **16b** im Bereich von Chloroquin und Dihydroartemisinin. Allerdings muss man beachten, dass diese Referenzsubstanzen in viel geringeren Mengen eingesetzt wurden (100 nM) als die Testsubstanzen. Bei Chloroquin mit einer Molekülmasse von ca. 320 g/mol entspricht das ca. 0.032 µg/ml im Vergleich der 50 µg/ml der Testsubstanzen.

Im Vergleich dazu zeigten die 4-Piperidinoxime ohne Substitution an den Positionen 3 und 5 sowie nur mit kurzen Alkylseitenketten in 2- und 6-Position (**14a** und **b**) keinen Effekt. Ein höherer Substitutionsgrad scheint auch hier von Vorteil zu sein.

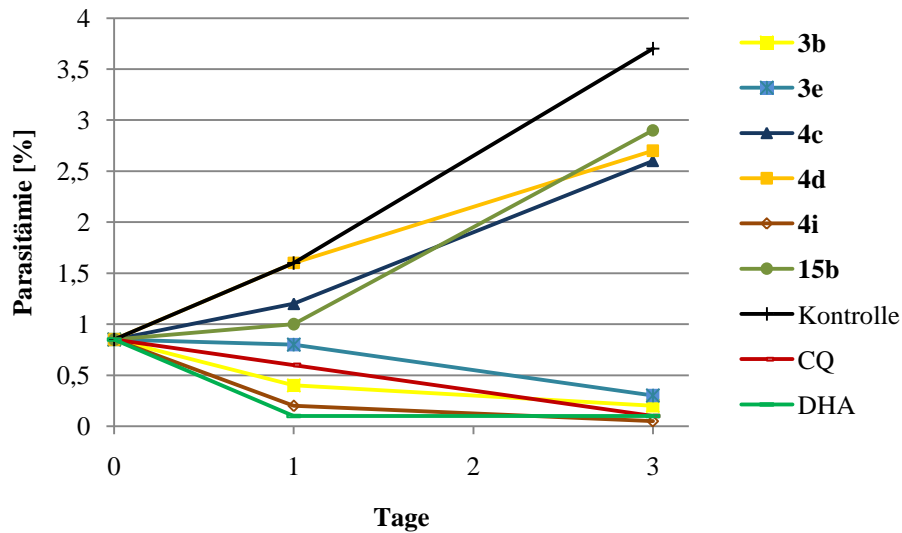


Abbildung 3-43 Inhibitorische Aktivität der Substanzen **3b**, **3e**, **4c**, **4d**, **4i**, und **15b** (Konzentrationen jeweils 50 µg/ml) im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA)

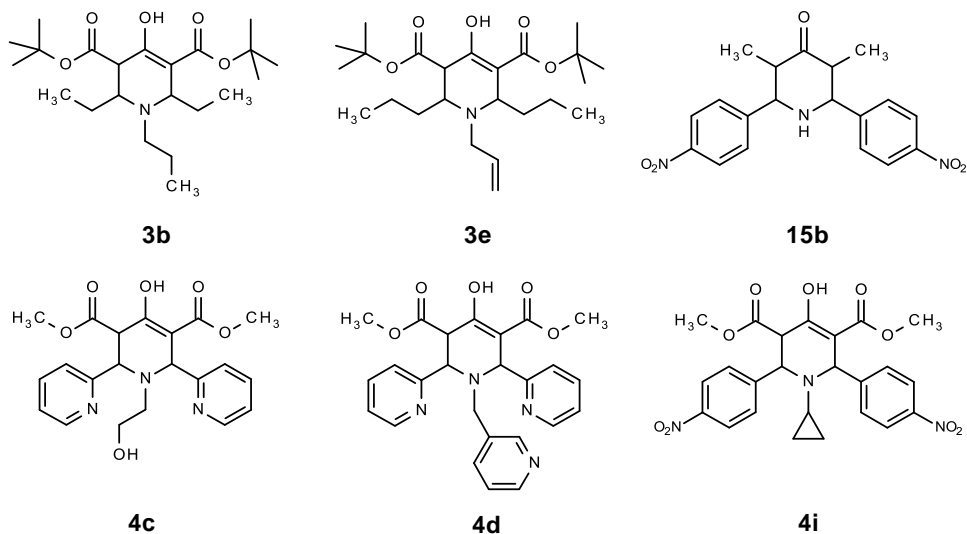


Abbildung 3-44 Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen

Die Substanzen **4c**, **4d** und **15b** zeigen nur eine geringe Hemmwirkung. Die *t*-Butyl-ester **3b** und **3e** sowie der Methylester **4i** hemmen das Plasmodienwachstum in diesen

Konzentrationsbereichen sehr gut. Auffällig ist hier der Unterschied zwischen den Methylestern **4c**, **4d** und **4i**. Scheinbar trägt die 4-Nitrophenylsubstitution im Vergleich zur Pyridyl-Substitution in Position 2 und 6 zu einer gesteigerten Wirksamkeit bei.

2,6-dialkylsubstituierte *t*-Butyl-ester sind sehr gut wirksam. Damit werden die Tendenzen der vorhergehend beschriebenen Plasmodientestungen mit dem Malstat-Assay unter 3.3.2.1 bestätigt.

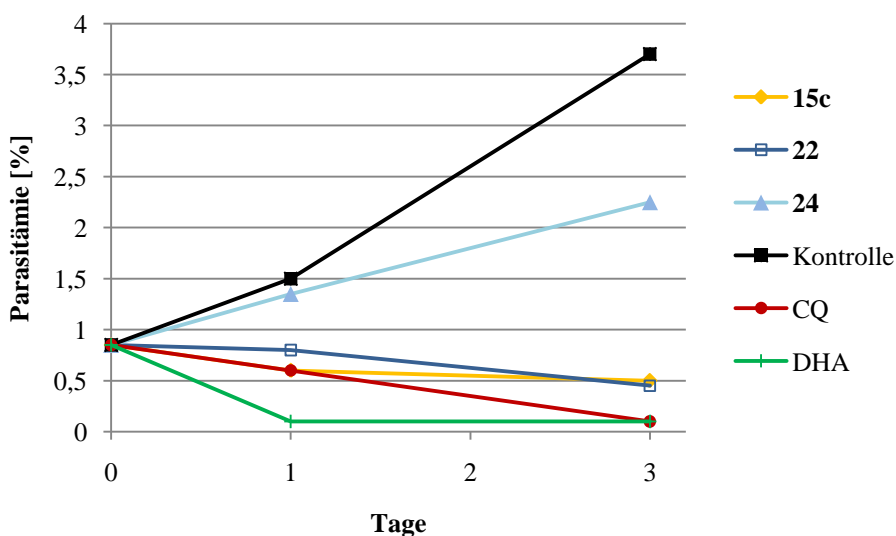


Abbildung 3-45 Inhibitorische Aktivität der Substanzen **15c**, **22** und **24** (Konzentrationen jeweils 50 µg/ml) im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA)

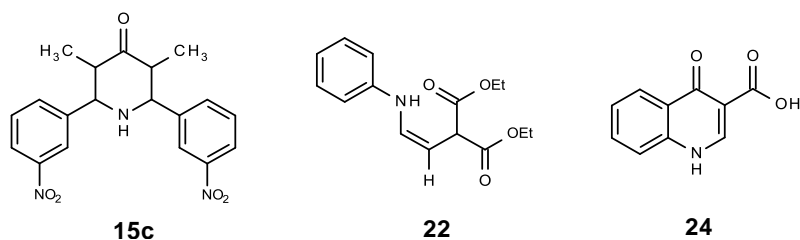


Abbildung 3-46 Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen

Im Vergleich zur Kontrolle, bei der die Parasitämie nach 3 Tagen auf 3.7 % gestiegen ist, sind die Verbindungen **15c** und **22** in der Lage, die Zahl der infizierten Erythrozyten unter 1 % zu halten. Die Vorstufe **22** besitzt bessere inhibitorische Eigenschaften als das Endprodukt **24**.

Mit 3-Nitrophenylsubstitution von **15c** erreicht man einen besseren Effekt als mit der 4-Nitrophenylsubstitution bei **15b** bzw. der Phenylsubstitution bei **15a**. Dies steht im Gegensatz zu den vorhergehenden Testungen mit dem Malstat-Assay, bei dem das 4-Nitrophenyl-substituierte Piperidon ($IC_{50} \approx 24 \mu\text{M}$) 2-fach wirksamer war als das 3-Nitrophenyl-substituierte ($IC_{50} \approx 48 \mu\text{M}$) (siehe Tabelle 3-16).

Einge der vielversprechendsten Verbindungen der 1. Testreihe wurden nochmals in geringeren Konzentrationen auf ihre Hemmwirkung hin untersucht. Hierfür wurde eine Verdünnungsreihe erstellt und die Substanzen in Konzentrationen von $1.35 \mu\text{g/ml}$, $4.4 \mu\text{g/ml}$, $15 \mu\text{g/ml}$ und $50 \mu\text{g/ml}$ eingesetzt. Die Parasitämie wurde für alle Verdünnungsstufen am 3. Tag ausgewertet (siehe Abbildung 3-47 und Abbildung 3-48) und für jede Substanz über eine lineare Regression der Daten der IC_{50} -Wert ermittelt (siehe Tabelle 3-17 und Tabelle 3-18).

3.3.2.2 Bestimmung der IC_{50} -Werte

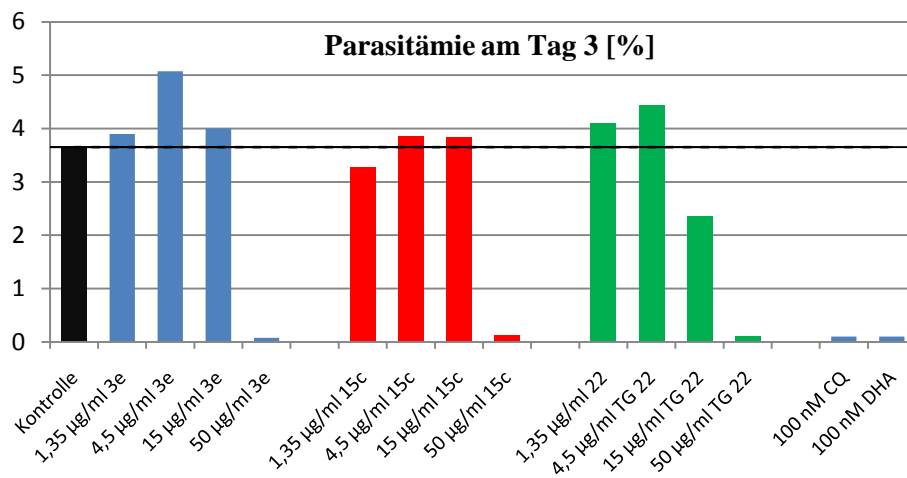


Abbildung 3-47 Parasitämie am 3. Tag nach Behandlung der Kultur mit verschiedenen Substanzkonzentrationen von **3e**, **15c** und **22**

Substanz	IC ₅₀ [µg/ml]	IC ₅₀ [µM]
3e	32.4	76.5
15c	30.0	81.2
22	27.7	105.2

Tabelle 3-17 ermittelte IC₅₀-Werte für **3e**, **15c** und **22**

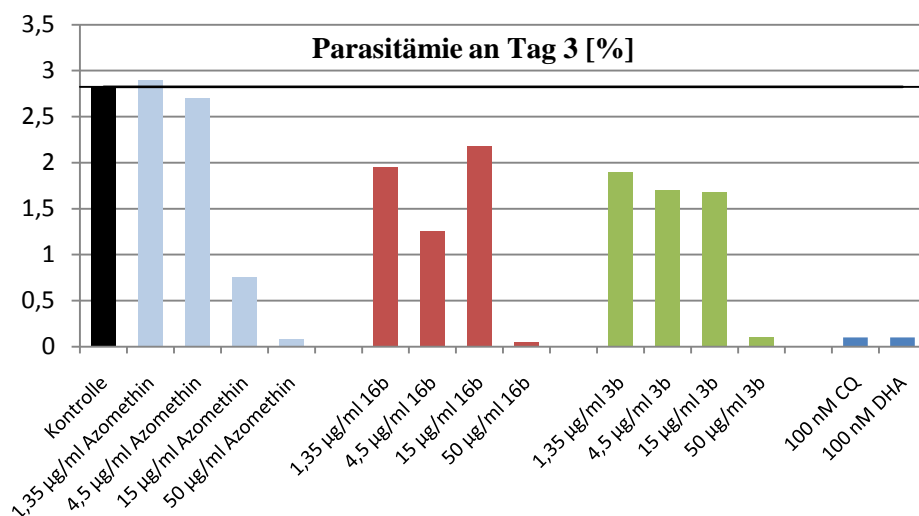


Abbildung 3-48 Parasitämie am 3. Tag nach Behandlung der Kultur mit verschiedenen Substanzkonzentrationen des Nebenproduktes Azomethin sowie von **16b** und **3b**

Substanz	IC ₅₀ [µg/ml]	IC ₅₀ [µM]
Azomethin	21.80	90.0
16b	19.80	51.5
3b	19.40	75.5

Tabelle 3-18 ermittelte IC₅₀-Werte für das Nebenprodukte Azomethin sowie von **16b** und **3b**

Alle Verbindungen zeigen eine Hemmwirkung bei der hohen Konzentration von 50 µg/ml. Allerdings ist die Hemmung bei den niedrigeren Konzentrationen eher gering. Bei dem 2,6-Dialkyl-4-hydroxypiperidinester **3e** und dem 2,6-Diaryl-4-piperidon **15c** ist bei allen Verdünnungen kein Effekt zu sehen, mit **22** erzielt man bei 15 µg/ml einen leichten

Hemmeffekt. Die Verdünnungen des 2,6-Diaryl-4-piperidonoxims **16b** und des 2,6-Dialkyl-4-hydroxypiperidonesters **3b** zeigen stets eine moderate, tendenzielle Erniedrigung der Parasitämie, wobei diese bei **16b** nicht konzentrationsabhängig ist. Wie **3b** zeigt auch das Azomethin eine konzentrationsabhängige Herabsetzung des Parasitenwachstums, bei einer Konzentration von 15 µg/ml sogar die beste Hemmung. Die niedrigeren Konzentrationen (1.35 und 4.5 µg/ml) setzen die Anzahl der infizierten Erythrozyten im Vergleich zur Kontrollpopulation nicht herab.

Die hier ermittelten IC_{50} -Werte stimmen tendenziell nicht mit den durch den Malstat-Assay bestimmten Werten überein und liegen in einem höheren micromolaren Bereich. Zum Beispiel wurde hier für **3e** ein IC_{50} -Wert von 76 µM gefunden; mit dem Malstat-Assay aber 3.3 µM. Für **15c** bestimmte man hier einen IC_{50} -Wert von 81 µM, mit dem Malstat-Assay 48 µM.

3.3.3 Testungen an HI-Viren

3.3.3.1 *In-Vitro*-Untersuchungen der antiviralen Aktivität

Einige Derivate (siehe Abbildung 3-49) wurden am Heinrich-Pette-Institut für Experimentelle Virologie und Immunologie der Universität Hamburg in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Joachim Hauber einem Inhibitionstest an HIV-infizierten Zellen unterzogen.

Für die Tests werden Zellen der humanen T-Zelllinie *PM1* mit dem HIV-1-Isolat BaL infiziert und in *RPMI*-Medium mit den in DMSO bzw. Wasser gelösten Testsubstanzen kultiviert. Als Kontrolle dient eine ausschließlich mit DMSO versetzte Zellsuspension.

Die Bestimmung der Vitalität und Viruslast des Kulturmediums erfolgte in regelmäßigen Abständen über 18 Tage mittels Alamar-BlueAssay.

Darüber hinaus wurde die Zytotoxizität der Verbindungen an nichtinfizierten *PM1*-Zellen bestimmt. Die Zellen versetzt man dafür mit verschiedenen Verdünnungen der Testsubstanzen (Konzentrationsbereich 2.5 – 40 µM) und kultiviert sie über 14 Tage. Dabei

werden alle 3-4 Tage Proben genommen, um die Vitalität der Zellkulturen mittels AlamarBlue-Assay zu bestimmen.

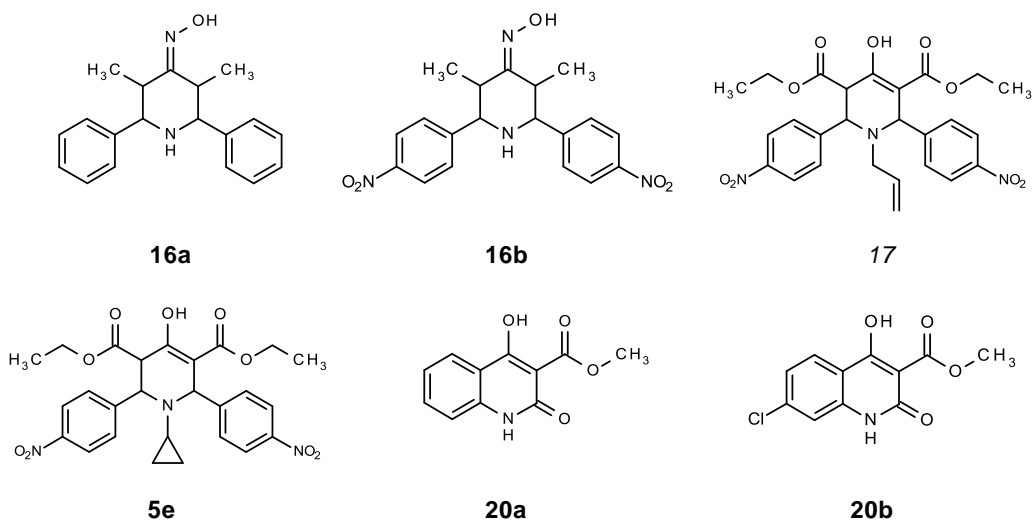


Abbildung 3-49 Strukturformeln der an HIV-infizierten Zellen getesteten Derivate

Während die Hydroxychinolone **20a** und **20b** keine toxischen Effekte aufwiesen, lagen die maximal subtoxischen Konzentrationen der 4-Piperidinoxime **16a** und **16b** bei 20 μM , von den 4-Hydroxypiperidindiestern **17** bei 5 μM und von **5e** bei 0.625 μM . Die Obergrenzen der maximal subtoxischen Konzentration von 20 μM bei **16a** und **16b** sind vermutlich auf den zelltoxischen Effekt des DMSO zurückzuführen. Bei den Lösungsmittelkontrollen mit derselben DMSO-Menge wie bei den nächsthöheren Probenkonzentrationen (40 μM) gingen die Zellen ebenfalls zugrunde. Das bedeutet, dass sich mit diesen Versuchen keine aussagekräftigen Toxizitäten bestimmen lassen (Toxizitätsdaten siehe Makrophagentests unter 3.3.1).

Während **5e**, **16b**, **20a** und **20b** die Virusvermehrung nicht oder nur unwesentlich hemmten, konnte bei **16a** mit einer Konzentration von 20 μM eine Inhibition von bis zu 20 % festgestellt werden (siehe Abbildung 3-50). Allerdings hatte eine niedrigere Konzentration von 10 μM schon keinen Effekt auf die Virusvermehrung mehr.

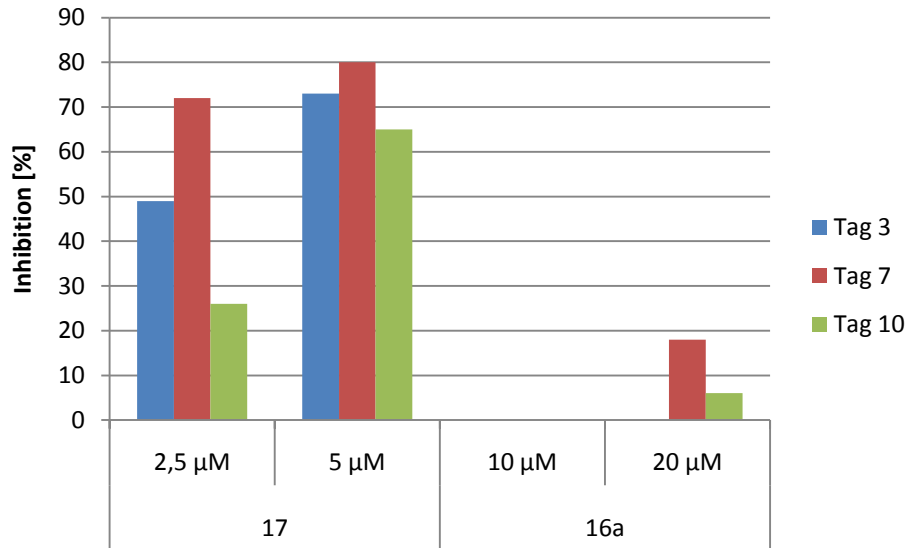


Abbildung 3-50 *In-vitro*-Effekte von **17** und **16a** auf HIV-1 BaL

Die beste antivirale Aktivität zeigte **17** mit einer Inhibition von bis zu 70 % bei einer Konzentration von 2,5 µM nach Tag 7. Allerdings nahm der Effekt nach 10 Tagen wieder ab. Mit einer Konzentration von 5 µM konnte die Hemmung der antiviralen Aktivität nochmals gesteigert werden.

Es wird angenommen, dass die Wirkung nicht, wie vorerst vermutet, auf einer Interaktion mit der Rev- bzw. eIF-5A-Aktivität beruht. Hier könnten andere Mechanismen, wie die Hemmung der Reversen Transkription oder der Integration eine Rolle spielen. Ebenso kommt eine Behinderung der Viruspartikel am Eindringen in die Zielzelle in Frage. Um genauere Aussagen treffen zu können, müssten aber noch weitere Untersuchungen vorgenommen werden.

Auffallend ist, dass die Substanz **5e** trotz der großen strukturellen Ähnlichkeit mit der gut wirksamen Verbindung **17** keine Effekte erzielen konnte. Der einzige Unterschied besteht in der Substitution am Stickstoff: bei **5e** eine Cyclopropylgruppe, bei **17** ein Allylrest.

Der Vergleich der Aktivitäten dieser beiden Substanzen an Plasmodien, Trypanosomen und Makrophagen zeigte keine allzu deutlichen Unterschiede. An Plasmodien und Trypanosomen war eher Verbindung **5e** wirksamer. Hier verhält es sich anders und deutlicher zu Gunsten von Substanz **17**. Eventuell spielt hier der Stickstoffrest eine größere Rolle.

3.3.4 Testungen an Leishmanien

Die Testungen an Leishmanien erfolgten ebenfalls am Institut für Infektionsbiologie der Universität Würzburg in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Dr. Heidrun Moll.

Promastigote Formen des Erregers *Leishmania major* werden auf Blutagar kultiviert und im RPMI-Medium auf 96-Loch-Zellkulturplatten übertragen. Die Untersuchungen verlaufen analog zu den Trypanosomen-Testungen, die unter 3.4.2 beschrieben sind. Die Auswertung erfolgt ebenso durch einen AlamarBlue-Assay. Die IC₅₀-Werte der eingesetzten Substanzen werden nach 72 h bestimmt. Als Referenzsubstanz dient Amphotericin B.

Einige der synthetisierten 4-Hydroxytetrahydropyridin-Derivate zeigten in *In-vitro*-Untersuchungen an *Leishmania major* eine gute Wirksamkeit. Die ermittelten IC₅₀-Werte lagen dabei im Bereich von den klinisch eingesetzten Wirkstoffen Miltefosin, Pentamidin und Amphotericin B (siehe Tabelle 3-19). Die 4-Hydroxytetrahydropyridine sind anhand dieser Ergebnisse ein neuer potenzieller Ansatzpunkt bei der Suche nach alternativen Behandlungsmöglichkeiten der Leishmaniose. Falls es gelingt, durch die Verminderung der zytotoxischen Eigenschaften den Wirkungsindex der Piperidone zu verbessern, kann man diese Substanzen als neue Leitverbindungen in der Entwicklung potenter Optionen zur klassischen Therapie von Leishmanien-Infektionen ansehen.

Die folgende Tabelle zeigt die IC₅₀-Werte der synthetisierten 4-Hydroxytetrahydropyridine im Vergleich zu den klinisch angewandten Wirkstoffen sowie die zytotoxischen Eigenschaften an der Makrophagen-Zelllinie *J774.1*. Der angegebene Selektivitätsindex steht für das Verhältnis von IC₅₀-Wert an *L.major* zu dem IC₅₀, der an Makrophagenzellen gemessen wurde. Die Bedeutung dieses Index für den therapeutischen Einsatz wird momentan noch diskutiert. Ein niedriger Index (also ein günstiges Verhältnis von Wirkung zu Toxizität) bedeutet eine gute Wirksamkeit bei niedriger Zytotoxizität. Aber auch ein höherer Index muss nicht bedeuten, dass ein therapeutischer Einsatz nicht möglich ist. Die Toxizität einiger Substanzen an Makrophagen ist auch eine logische Konsequenz aus dem Einsatz dieser als Antikrebsmittel bzw. Antirheumatikum.

In der nachfolgenden Tabelle sind nur die Aktivitäten der synthetisierten Substanzen zusammengefasst, deren Wirksamkeit an *Leishmania major* unter einem IC₅₀-Wert von 50 µM lag.

Substanz	<i>Leishmania major</i> IC ₅₀ [µM]	Makrophagen J774.1 IC ₅₀ [µM]	Selektivitätsindex IC ₅₀ <i>L.major</i> / IC ₅₀ Makrophagen
Pentamidin	35.9	40.8	0.88
Miltefosin	31.9	>71	< 0.45
Amphotericin B	3.1	>30 (ca. 69)	< 0.1
1d	47.3	>100	< 0.47
3a	42.2	49.3	0.86
3b	32.3	34.5	0.94
4b	41.4	23.5	1.76
7c	5.7	6.9	0.83
7d	46.4	44.3	1.05
7g	31.1	43.0	0.72

Tabelle 3-19 Ergebnisse der getesteten Substanzen im Vergleich zu den klinisch verwendeten Pentamidin, Miltefosin und Amphotericin B

Der Monoester **7c** stellt mit einem IC₅₀-Wert von 5.7 µM neben Amphotericin B die wirksamste Verbindung dar, hat aber auch die höchste Zytotoxizität aufzuweisen. Der Selektivitätsindex liegt dennoch im Bereich des klinisch eingesetzten Pentamidin, genauso wie bei den Substanzen **3a** und **7g**. Der 2,6-Dialkyl-4-hydroxypiperidindimethylester **1d** besitzt aufgrund seiner geringen zytotoxischen Eigenschaften sogar einen Selektivitätsindex, der in den Bereich von Miltefosin fällt. Er stellt zwar nicht die wirksamste Verbindung dar, schneidet aber in der reinen Betrachtung des Selektivitätsindex der hier synthetisierten Verbindungen am besten ab.

4b, der einzige hier vertretene 2,6-Diaryltetrahydropyridin-dicarbonsäurediester und der Monoester **7d** besitzen wegen ihrer höheren Zytotoxizität im Vergleich zur Wirksamkeit einen Index von über 1.

Die Wirkung der 4-Hydroxy-2-oxochinolinderivate **20**, der 4-Oxochinolin-3-carbonsäure-ester **23**, der entsprechenden freien 4-Oxochinolin-3-carbonsäure **24** sowie der jeweiligen Vorstufen **19** und **22** an *Leishmania major* wurde ebenfalls untersucht. Die IC₅₀-Werte aller Substanzen lagen über einem Wert von 100 µM und zeigten damit keine Wirksamkeit. Auch die 2,6-Dialkyl-4-piperidone **13** sowie die 2,6-Diaryl-3,5-dimethyl-4-piperidone **15** und deren Oximderivate **14** und **16** zeigten keine Aktivitäten.

3.4 Lipophilie der 4-Piperidone: logP-Wert-Bestimmungen

3.4.1 Allgemeines

Die Bestimmung der Lipophilie stellt ein wichtiges Kriterium für die Beurteilung von pharmakokinetischen Eigenschaften eines Wirkstoffes dar. Ihre Kenntnis lässt Aussagen über die Verteilung im Cytoplasma sowie den Durchtritt durch Zellmembranen zu. Neben diesen pharmakokinetischen Parametern beeinflusst die Lipophilie bzw. Hydrophilie auch die Pharmakodynamik, d.h. die Fähigkeit einer Substanz, durch bestimmte Wechselwirkungen mit seinem Wirkort, z.B. einem Rezeptor zu interagieren.

Die Löslichkeit von Verbindungen im wässrigen Medium ist zum einen eine Grundvoraussetzung für die Durchführung der pharmakologischen *In-vitro*-Testungen, da bei diesen mit Pufferlösungen gearbeitet wird. Der Einsatz von lösungsvermittelnden organischen Zusätzen wie z.B. DMSO ist sehr begrenzt, da diese Testungen verfälschen können. Zum anderen ist eine adäquate Wasserlöslichkeit eine wichtige Eigenschaft für eine gute Bioverfügbarkeit. Gerade bei pharmakologischen *In-vivo*-Testungen ist diese ausschlaggebend für ein aussagekräftiges Ergebnis. Zum Beispiel konnte die sehr gute *In-vitro*-Wirksamkeit der 4-Hydroxytetrahydropyridinmonoester in *In-vivo*-Testungen nicht bestätigt werden, weil diese Verbindungen eine zu geringe Wasserlöslichkeit und damit Bioverfügbarkeit aufwiesen.

Der Grad der Wasserlöslichkeit bzw. der Lipophilie einiger der im Zuge dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen sollte durch die logP-Wert-Bestimmung ermittelt werden. Anhand der Ergebnisse sollte abgeschätzt werden, in welchem Maß bestimmte Sub-

stitutionsmuster der Verbindungen zu einer verbesserten Löslichkeit in Wasser beitragen und damit die Bioverfügbarkeit steigern können.

Der Verteilungskoeffizienten P beschreibt die Verteilung einer Testsubstanz in einem 2-Phasensystem bestehend aus einer wässrigen Phase (z.B. Pufferlösung) und einer lipophilen Phase (z.B. *n*-Octanol). Er wird üblicherweise in logarithmierter Form als logP angegeben. Die allgemeine Formel zur Berechnung des logP-Wertes lautet:

$$\log P = \log \left(\frac{C_{Octanol}}{C_{Wasser}} \right)$$

P = Verteilungskoeffizient

C = Konzentration des gelösten Stoffes in Octanol bzw. Wasser

Je größer der logP-Wert, desto besser ist die Substanz in lipophilen Lösungsmitteln löslich, je kleiner, desto besser im wässrigen Milieu. Besitzt beispielsweise eine Substanz einen logP-Wert von 3.0, verteilt sich diese Substanz in einer um den Faktor 10^3 (1000fach) höheren Konzentration in Oktanol als in Wasser. Sie ist also lipophil. Ein logP-Wert von 0 besagt, dass sich die Substanz in beiden Phasen gleich gut verteilt. Liegt er im negativen Bereich, so besitzt die Substanz hydrophile Eigenschaften. Ein logP-Wert zwischen -0.4 und 5.6 wird für Arzneistoffe als optimal angesehen.¹⁵⁷ Sind sie zu hydrophil oder gar zu lipophil, ist die Membrangängigkeit und/ oder die Bioverfügbarkeit nicht ideal. Außer für Arzneistoffe, die durch Überwindung der Blut-Hirn-Schranke eine zentrale Wirkung hervorrufen sollen, ist eine hohe Lipophilie nicht wünschenswert.

3.4.2 Bestimmung des logk'-Wertes

Die klassische Bestimmung des logP-Wertes ist sehr aufwendig und zeitintensiv. Hierbei wird der Übergang eines Stoffes von der wässrigen zur lipophilen Phase durch UV-spektroskopische Vermessung der Phasen vor und nach einem mehrstündigem Schüttelvorgang verfolgt. Eine alternative Methode ist die Bestimmung des sogenannten

Kapazitätsfaktors k' eines Stoffes mittels HPLC.¹⁵⁸ Über die Retentionszeit T_r an einer mit RP-18-Material gefüllten Säule als stationäre Phase, an der die Verteilungsvorgänge zwischen einer lipophilen und hydrophilen Phase simuliert werden, kann k' rechnerisch ermittelt werden.

$$k' = \frac{(T_r - T_0)}{T_0}$$

k' = Kapazitätsfaktor

T_r = Retentionszeit der Testsubstanz

T_0 = Totzeit (= Retentionszeit der mobilen Phase)

Zwischen dem $\log k'$ -Wert und dem $\log P$ -Wert einer Substanz besteht eine sehr gute Korrelation, so dass man vom bestimmten $\log k'$ -Wert auf den $\log P$ -Wert schließen kann. Um den $\log P$ -Wert von Testsubstanzen zu ermitteln, führt man zunächst eine Kalibrierung mit einfach gebauten Referenzsubstanzen durch (siehe Experimenteller Teil unter 5.9.1). Aus deren experimentell bestimmten $\log k'$ -Werten und den dazugehörigen, literaturbekannten $\log P$ -Werten erstellt man durch lineare Regression eine Kalibriergerade, mit der sich die $\log P$ -Werte der Testsubstanzen schließlich berechnen lassen ($y = 2.3417x + 1.8415$; $r^2 = 0.9803$; siehe Experimenteller Teil Abbildung 5-1).

Für einige der im Zuge dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen (siehe Abbildung 3-51) wurden mit dieser Methode die $\log P$ -Werte bestimmt. Die angegebenen $\log P$ -Werte sind Mittelwerte aus jeweils 3 Messungen.

Verbindung	T_r [min]	k'	$\log k'$	$\log P$
20a	1.01	0.002	-2.70	-4.48
2e	1.28	0.25	-0.60	0.44
3e	1.29	0.28	-0.55	0.55
1j	1.29	0.28	-0.55	0.55
17	2.45	1.43	0.16	2.22

4b	2.56	1.54	0.19	2.29
4i	3.92	2.89	0.46	2.92
6c	10.40*	9.32	0.97	4.11
5e	10.97*	9.88	0.99	4.16
7c	11.01*	9.92	1.00	4.18

Tabelle 3-20 Vergleich der logP-Werte einiger synthetisierter Verbindungen

* mehrere Signale sichtbar- eventuell Zersetzung; T_r des größten Signals wurde in Betracht gezogen

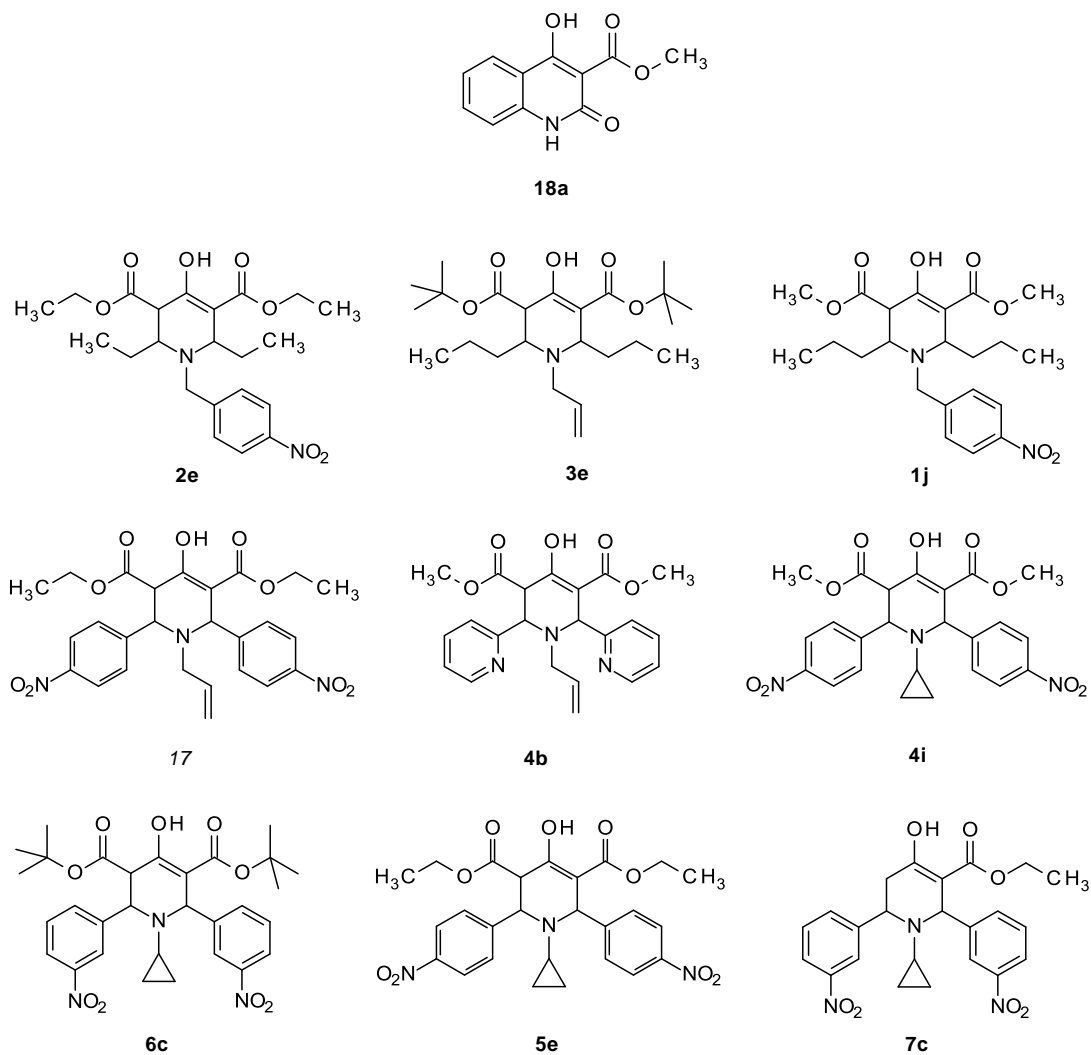


Abbildung 3-51 Strukturen zur logP-Wert-Bestimmung herangezogener Verbindungen

Der 4-Hydroxy-2-oxochinolinester **20a** ist mit einem logP-Wert von -4.48 die hydrophilste aller hier getesteten Verbindungen. Alle anderen Verbindungen, ausnahmslos 4-Hydroxytetrahydropyridinester, besitzen einen logP-Wert, der über 0 liegt. Dies bestätigt die Annahme, dass die 4-Hydroxy-2-oxochinolinester **20** hinsichtlich ihrer Wasserlöslichkeit den 4-Hydroxypiperidinenestern **1-7** weit überlegen sind.

Die 2,6-dialkylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridindieste **2e**, **3e** und **1j** liegen alle in einem ähnlichen logP-Wert-Bereich (0.44 bis 0.55). **3e** und **1j** sind wahrscheinlich aufgrund ihrer längeren Alkylseitenkette an den Positionen 2 und 6 und den unterschiedlichen Veresterungen etwas lipophiler als Verbindung **2e**. Eigentlich sollte **3e** mit seiner Allylsubstitution am Stickstoff etwas hydrophiler sein als **2e** und **1j** mit ihren Nitrobenzylresten. Allerdings leistet die *t*-Butyl-Veresterung hier wieder einen eher lipophilen Beitrag. Erwartungsgemäß sind die 2,6-dialkylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridindieste hydrophiler als die 2,6-diarylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridindieste **17**, **4b** und **4i**, die in einem logP-Wert-Bereich von 2.2 bis 2.9 liegen. Auch hier ist das Ethylesterderivat wieder leicht hydrophiler.

Die Verbindungen **6c**, **5e** und **7c** zersetzten sich bei der log P-Wert-Bestimmung, so dass die ermittelten Werte, die jeweils vom größten Peak im Chromatogramm stammen, nicht aussagekräftig sind und somit nicht zum Vergleich herangezogen werden können. Verbindung **5e** zum Beispiel sollte aufgrund seiner Ähnlichkeit mit den Substanzen **17** und **4e** eher in deren logP-Wert-Bereich zu finden sein.

4 ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY

4.1 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Entwicklung und Synthese von Inhibitoren der Deoxyhypusin-Hydroxylase (DOHH), die einen wichtigen Schritt in der Aktivierung des eukaryotischen Translationsinitiations-Faktors-5A (eIF-5A) katalysiert. Die Hemmung dieses Metalloenzym durch kleine Moleküle, die mit dem katalytischen Eisenatom im aktiven Zentrum der DOHH einen Chelatkomplex bilden, hat einen anti-proliferativen Effekt auf parasitäre Erreger, wie Plasmodien, Trypanosomen und Leishmanien zur Folge. Ausgehend von den antiplasmodial wirksamen Eisenkomplexbildnern und Pyridon-Derivaten Ciclopirox und Mimosin wurden besser wirksame 2,6-Diaryl-4-oxopiperidincarbonsäuremono- und -diester-Derivate abgeleitet, deren 4-Piperidon-Grundgerüst als Leitstruktur für die Entwicklung von antiplasmodialen und anti-trypanosomalen Wirkstoffen fungierte. Entsprechend dieser Leitstrukturen gelang im Zuge dieser Arbeit durch verschiedene Modifikationen der Doppel-Mannich-Reaktion die Erstellung einer weitreichenden Bibliothek 52 strukturell diverser 4-Hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediester **1 – 6**, darunter auch erstmals Derivate mit *t*-Butylesterfunktionen, und 4-Hydroxytetrahydropyridin-3-carbonsäuremonoester **7 – 8**. Dabei konnten vor allem Derivate mit der gewünschten nitroaromatischen Substitution in den Positionen 2 und 6 synthetisiert werden. Darüber hinaus wurden vielfältige Strukturabwandlungen dieser Substanzen in Form von verschiedenen 4-Piperidonderivaten ohne Esterfunktionen, deren Oximen sowie von 4-Hydroxychinoloncarbonsäureestern synthetisiert. Die hergestellten Derivate wurden *In-vitro*-Testungen an *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei brucei* und *Leishmania major* unterzogen. Zusätzlich wurde die Zytotoxizität an der Makrophagen-Zelllinie *J774.1* ermittelt.

Für eine verbesserte biologische Wirksamkeit der 4-Hydroxytetrahydropyridincarbonsäureester an Trypanosomen und Plasmodien sowie für eine geringe Zytotoxizität sind vor allem die nitroaromatischen Substituenten an den Positionen 2 und 6 verantwortlich. Zusätzlich scheinen die Esterfunktionen an Position 3 bzw. 5 für eine inhibitorische Aktivität essentiell zu sein, da die 4-Piperidone und deren Oxime ohne Esterfunktionen in den biologischen Tests weit weniger wirksam waren. Ethyl- und *t*-Butyldiesterfunktionen

sind für geringe zelltoxische Eigenschaften vorteilhaft. Das Fehlen der 2. Esterfunktion bei den Monoestern hat eine erhöhte Zytotoxizität zur Folge.

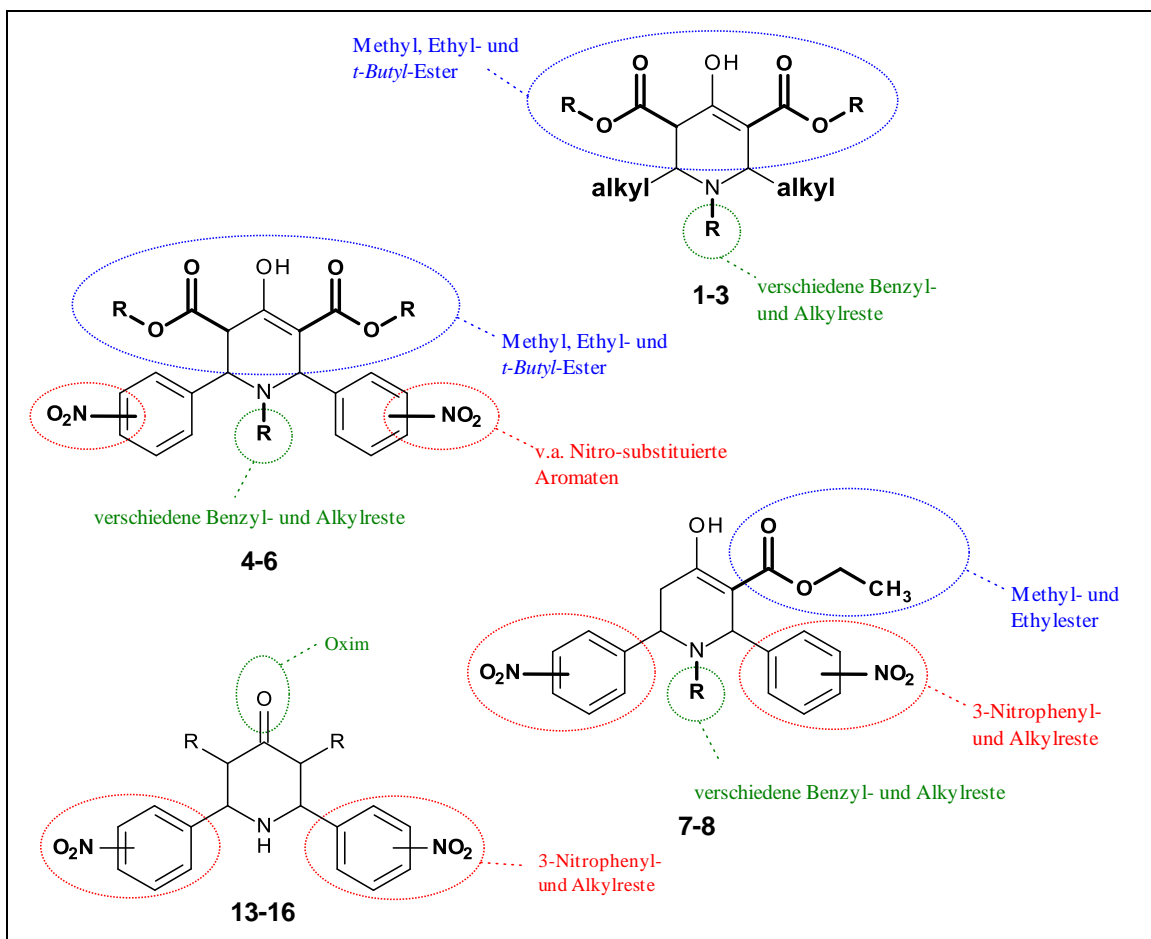


Abbildung 4-1 Erfolgreich synthetisierte Zielverbindungen

In Testungen an *Trypanosoma brucei brucei* zeigten die 4-Hydroxytetrahydropyridin-monoethylester die besten Aktivitäten aller Verbindungen (v.a. die Nitrophenyl-substituierten Verbindungen **7c** und **7d**). Sie liegen im Wirksamkeitsbereich der klinisch eingesetzten Verbindung Suramin-Na. Mit der Substanz **7d** konnte eine neue anti-trypanosomale Leitverbindung geschaffen werden. Auch die im Gegensatz zu den Monoestern untoxischen 2,6-di(nitrophenyl)substituierten Diethylesterderivate **5d** und **5g** zeigen mit IC_{50} -Werten unter $1 \mu M$ eine gute Wirksamkeit an Trypanosomen. Zusätzlich zeigte der Monoester **7c** in biologischen Tests an *Leishmania major* die beste inhibitorische Aktivität, die im Bereich des klinisch eingesetzten Amphotericin B liegt.

Die 4-Hydroxytetrahydropyridindi-*t*-butylester **6c** und **6d** können als neue antiplasmodiale Leitverbindungen angesehen werden. Ihre Wirksamkeit an *Plasmodium falciparum* mit IC₅₀-Werten unter 1 µM übertrifft sogar die der bisherigen Leitstruktur der 2,6-dipyridylsubstituierten Monoesterderivate (siehe Tabelle 1-1 unter 1.3).

Da die wasserlöslichen 4-Hydroxychinoloncarbonsäureester trotz ihres 4-Hydroxytetrahydropyridincarbonsäureester-Strukturelements keinen biologischen Effekt auf Plasmodien, Trypanosomen und Leishmanien haben, kann man davon ausgehen, dass die Sessel- bzw. Halbsesselkonformation der 4-Hydroxytetrahydropyridincarbonsäureester für die Wirksamkeit essentiell ist.

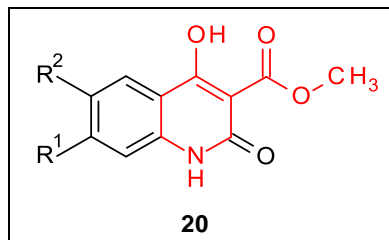


Abbildung 4-2 Die 4-Hydroxychinoloncarbonsäureester **20**

4.2 Summary

The present work focused on the development and synthesis of inhibitors of deoxyhypusine hydroxylase (DOHH) that catalyzes an important step in the activation cascade of eukaryotic initiation factor 5A (eIF-5A). The inhibition of this metal-containing enzyme by small molecules chelating the essential catalytic iron at the active site of DOHH leads to an antiproliferative effect on parasites such as plasmodia, trypanosoma and leishmania.

Derived from the antiplasmodial iron chelators and pyridine derivatives ciclopirox and mimosine more potent 2,6-diaryl-4-oxopiperidiniumcarboxylic acid mono- and -diester derivatives were developed. Its 4-piperidone skeleton served as a lead structure for the development of antiplasmodial and antitrypanosomal agents. Based on these lead structures it was possible to build a broad variety of 52 4-hydroxytetrahydropyridine-3,5-dicarboxylates **1 – 6** (for the first time including derivatives with *t*-butyl-ester functions) as well as 4-hydroxytetrahydropyridine-3-monocarboxylates **7 – 8** with varying substitution patterns by various modifications of the double mannich reaction. Thereby it was possible to synthesize derivatives with the advantageous nitro-aromatic substitution in position 2 and 6. Additionally structural modifications of these compounds such as 4-piperidones without ester functions, corresponding oximes and 4-hydroxychinolone carboxylates have been synthesized, too.

The synthesized substances were tested against *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei brucei* and *Leishmania major*. Furthermore their cytotoxicity was determined using the macrophage line *J774.1*.

The nitro aromatic substitution in position 2 and 6 is highly appreciated for the good biological efficacy against trypanosomas and plasmodia and additionally for the low cytotoxicity. Moreover the ester functions at position 3 and 5 respectively seem to be essential for the inhibitory activity as the 4-piperidones and their oximes without these functions are much less active. The diethyl and di-*t*-butyl dicarboxylate functions are beneficial for low cytotoxic properties. The absence of the second ester function in the mono carboxylate derivatives leads to an increase of cytotoxicity.

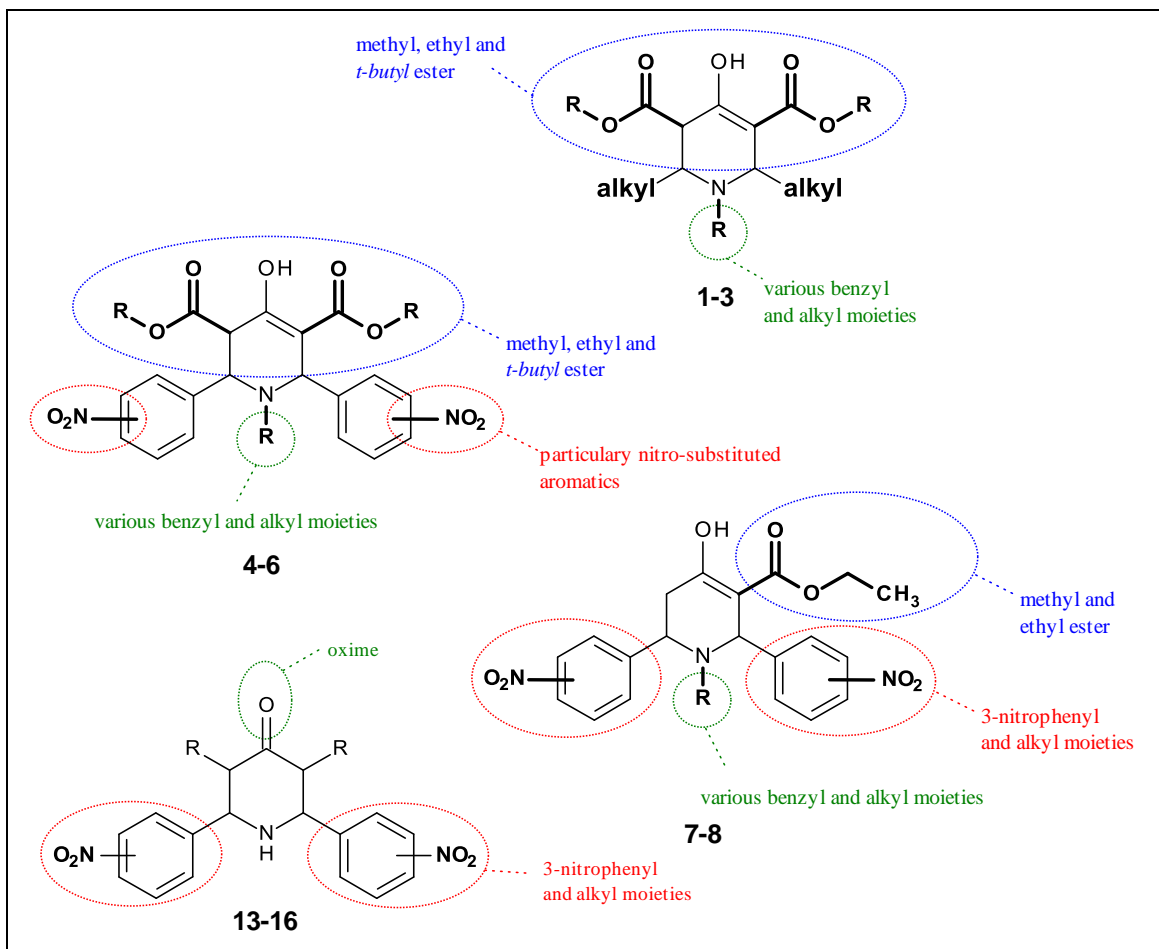


Figure 4-3 Successfully synthesized lead compounds

In tests on *Trypanosoma brucei brucei* the ethyl 4-hydroxytetrahydropyridine-3-monocarboxylate compounds (in particular the nitro-phenyl substituted compounds **7c** and **7d**) show the best inhibitory effect of all substances. Their activity is in the range of the clinical used suramin-Na. **7d** can be regarded as a new antitrypanosomal lead compound. Additionally the 2,6-di(nitrophenyl) substituted diethyl carboxylates **5d** and **5g** also show good *in vitro* activities with IC₅₀ values less than 1 μM. In contrast to the monocarboxylates they are not toxic. Furthermore the monocarboxylate **7c** shows the best inhibitory effect against *Leishmania major* within the range of the clinical used amphotericin B.

The di-*t*-butyl 4-hydroxytetrahydropyridine-3,5-dicarboxylates **6c** and **6d** can be regarded as new antiplasmodial lead compounds. Their activity with IC₅₀ values less than 1 μM is

even better than the former lead compounds, the 2,6-dipyridyl substituted monocarboxylates (see Tabelle 1-1 under 1.3).

The water soluble 4-hydroxyquinolone carboxylates did not show biological effects against plasmodia, trypanosomes and leishmania although they include the sub-structure of 4-hydroxytetrahydropyridinecarboxylates (see figure 5-2). Based on this fact one can expect that the chair conformation and the half-chair conformation respectively of the 4-hydroxytetrahydropyridinecarboxylates is essential for biological efficiency.

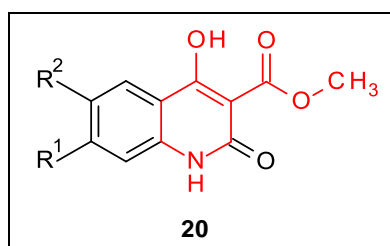


Figure 4-4 4-Hydroxyquinolonecarboxylic acid esters **20**

5 EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 Allgemeine Angaben

5.1.1 Verwendete Geräte

Schmelzpunkte:

Schmelzpunktapparatur MPD350:BM 3.5, Fa. Sanyo Gallenkamp BV, Holland

Alle angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

IR-Spektren:

Jasco FT-IR-Spektrometer 6100, Fa. Jasco GmbH, Gross-Umstadt, Deutschland

Alle Spektren wurden mit einer Diamant-ATR-Einheit aufgenommen.

¹H-Spektren:

Bruker Kernresonanzspektrometer AV 400 (400.13 MHz),

Fa. Bruker BioSpin MRI GmbH, Ettlingen, Deutschland

Als interner Standard werden die Mittelpunkte der Signale der deuterierten Lösungsmittel verwendet:

CDCl₃ 7.26 ppm

DMSO-d₆ 2.50 ppm

D₂O 4.79 ppm (mit internen Standard)

¹³C-Spektren:

Bruker Kernresonanzspektrometer AV 400 (100.62 MHz),

Fa. Bruker BioSpin MRI GmbH, Ettlingen, Deutschland

Als interner Standard werden die Mittelpunkte der Signale der deuterierten Lösungsmittel verwendet:

CDCl₃ 77.16 ppm

DMSO-d₆ 39.52 ppm

D₂O mit 3-(Trimethylsilyl)-1-propansulfonsäure, Natriumsalz (Natrium-2,2-dimethyl-2-silapentan-5-sulfonat; DSS) als internen Standard

Für die Beschreibung der spektroskopischen Daten, werden folgende Abkürzungen verwendet:

s = Singulett, d = Dublett, dd = Duplett vom Duplett, dt = Duplett vom Triplett, t = Triplett, q = Quartett, dq = Duplett vom Quartett, quin = Quintett, m = Multiplett, br = breites Signal, **H_{aromat.}** / **C_{aromat.}** = aromatischer Wasserstoff / Kohlenstoff, **C_{qu}** = quartärer Kohlenstoff, **C=O** = Carbonyl-Kohlenstoff, **OH** = Hydroxylfunktion

Mikrowelle:

Milestone MLS-Ethos 1600, Mikrowellen-Laborsysteme, Leutkirch, Deutschland

5.1.2 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie zur Reaktionskontrolle:

DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland

DC-Fertigplatten SIL 625 UV₂₅₄, Fa. Macherey-Nagel, Düren, Deutschland

DC-Fertigplatten ALOX-25 UV₂₅₄, pH 9, Fa. Macherey-Nagel, Düren, Deutschland

Säulenchromatographie:

Kieselgel 60, 0.063-0.2 mm (70-320 mesh), Fa. Macherey-Nagel, Düren, Deutschland

5.1.3 Chemikalien und Lösungsmittel

Alle Chemikalien und Lösungsmittel wurden in analytisch reiner Qualität eingesetzt und von folgenden Firmen bezogen:

ACROS Organics, Geel, Belgien

Lancaster, Frankfurt / Main, Deutschland

Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland

VWR International, Darmstadt, Deutschland

Für die Synthesen wurden meist getrocknete Lösungsmittel verwendet. Ethanol und Methanol wurden über Natrium, THF über Kalium chemisch getrocknet und anschließend destilliert. Die benötigten Amine und die im flüssigen Zustand vorliegenden Aldehyde wurden jeweils frisch destilliert.

5.1.4 Abkürzungen

AcO ₂	Acetanhydrid
ax.	axial
CHCl ₃	Chloroform
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan
DC	Dünnschichtchromatographie
dem.	demineralisiert
DMSO	Dimethylsulfoxid
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
Et ₂ O	Diethylether
eq.	equatorial
HCl	Salzsäure
H ₂ O	Wasser
i.Vak.	im Vakuum
konz.	konzentriert
MeOH	Methanol
M _p	Schmelzpunkt
M _r	molare Masse
NaCl	Natriumchlorid
NaOAc	Natriumacetat
NaOH	Natriumhydroxid

NH ₄ Br	Ammoniumbromid
NH ₄ OAc	Ammoniumacetat
PhOPh	Diphenylether
RT	Raumtemperatur
THF	Tetrahydrofuran
Zers.	Zersetzung

5.2 Synthese der 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-dialkyldiester- verbindungen 1-3

Allgemeine Synthesevorschrift modifiziert nach¹¹⁹ (entspricht **Synthesestrategie 3**, siehe Allgemeiner Teil unter 3.2.1):

10 - 20 mmol des jeweiligen Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters werden in 5 - 7 ml MeOH abs. unter Argonschutzatmosphäre vorgelegt und auf - 10 bis - 25 °C abgekühlt. 20 - 40 mmol des aromatischen Aldehyds und 10 - 20 mmol des entsprechenden primären Amins werden in jeweils 5 - 7 ml MeOH gelöst und separat dem Ansatz simultan zugetropft, wobei man die Aminkomponente etwas schneller zutropfen lässt.

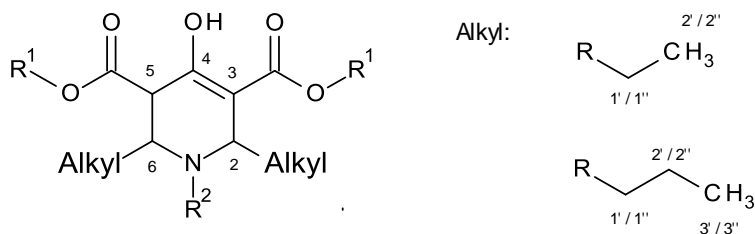
Bei Verwendung der Nitrobenzylamin-Hydrochloride als Aminkomponente wird eine äquimolare Menge an NaOAc hinzugefügt.

Nach dem Zutropfen wird die Temperatur zunächst für 3 h bei -10 bis -25 °C gehalten und im Anschluss 24 h bei 25 °C gerührt. Danach wird der Ansatz bei 5 °C gelagert.

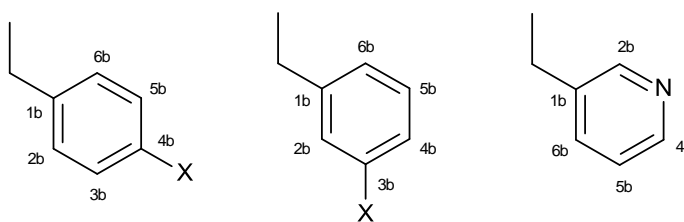
Fällt während der Lagerung ein Feststoff aus, wird dieser abfiltriert, mit wenig kaltem MeOH und Et₂O gewaschen und im Vakuum getrocknet. (A)

Bildet sich kein Niederschlag wird die Lösung im Vakuum auf ca. 1/3 des Gesamtvolumens eingeeengt, mit Et₂O überschichtet und für mehrere Tage bei 5 °C gelagert, bis eine Kristallbildung einsetzt. Den erhaltenen Feststoff filtriert man ab, wäscht mit MeOH sowie Et₂O und trocknet ihn im Vakuum. (B)

Für das 4-Hydroxytetrahydropyridin-Ringsystem, die Alkylseitenketten an den Positionen 2 und 6 sowie für die Benzylsubstituenten am 4-Hydroxytetrahydropyridin-stickstoff werden bei der NMR-spektroskopischen Auswertung folgende Nummerierungen verwendet:

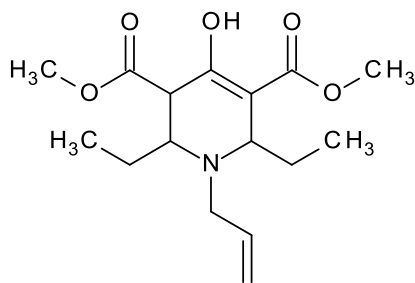


wenn $R^2 =$ Benzylsubstitution:



5.2.1 Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbon säuredimethylester 1

5.2.1.1 Synthese von 1-Allyl-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbon säuredimethylester (1a)



Synthesestrategie: **3-A**

Ansatzgröße:

10 mmol

Summenformel: $C_{16}H_{25}NO_5$ Ausbeute: 1.1 g (32 %)
 M_r : 311.4 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 107 °C
 IR-Daten [cm^{-1}]: 3506; 2965; 1744; 1722; 1654; 1614; 1432; 1355; 1231; 1211; 1178;
 1162; 1019; 915; 813; 781

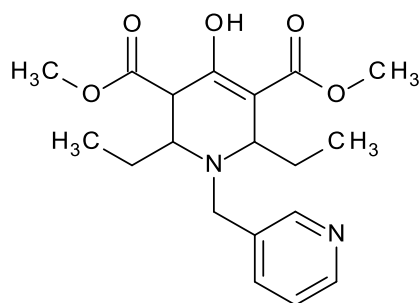
1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]):

0.95 (dt, 6H, H2''/H2'); 1.36 – 1.71 (m, 4H, H1''/H1'); 2.61 (dd, 1H, $^2J = 14.1$, $^3J = 8.2$, N-CH₂CH=CH₂); 3.17 (d, 1H, $^3J = 10.9$, H5); 3.22 (m, 1H, N-CH₂CH=CH₂); 3.27 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.5$, H6); 3.37 (dd, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 3.4$, H2); 3.75 (s, 3H, COOC₃); 3.77 (s, 3H, COOC₃); 5.06 – 5.16 (m, 2H, N-CH₂CH=C₂); 5.70 – 5.80 (m, 1H, N-CH₂C_H=CH₂); 12.13 (s, 1H, OH)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm]):

10.7 (C2'); 11.4 (C2''); 23.8 (C1'); 26.3 (C1''); 47.8 (C5); 47.9 (N-CH₂CH=CH₂); 51.8, 52.5 (COOC₃); 55.1 (C6); 56.2 (C2); 101.2 (C3); 116.7 (N-CH₂CH=C₂); 137.2 (N-CH₂C_H=CH₂); 166.5 (C4); 172.0, 172.8 (C=O)

5.2.1.2 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-pyridin-3-ylmethyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1b)



Synthesestrategie: **3-B** Ansatzgröße: 20 mmol
 Summenformel: $C_{19}H_{26}N_2O_5$ Ausbeute: 2.6 g (36 %)
 M_r : 362.4 g/mol Aussehen: weißes Pulver

M_p : 117 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 3501; 2967; 1741; 1656; 1622; 1507; 1422; 1253; 1384; 1129; 1141; 1198; 1015; 823

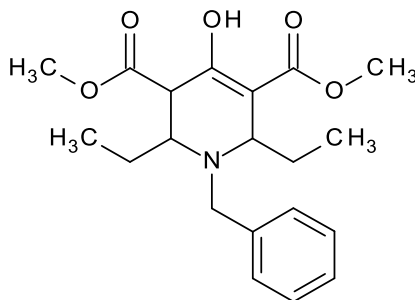
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.79 (t, 3H, H2''); 1.06 (t, 3H, H2'); 1.45 – 1.71 (m, 4H, H1''/H1'); 3.13 (dd, 1H, H2); 3.15 (d, 1H, $^2J = 13.9$, N-CH₂); 3.27 (d, 1H, $^3J = 10.6$, H5); 3.39 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.3$, H6); 3.69 (s, 3H, COOCH₃); 3.76 (s, 3H, COOCH₃); 3.79 (d, 1H, $^2J = 13.9$, N-CH₂); 7.24 (t, 1H, H5b); 7.69 (d, 1H, $^3J = 7.8$, H6b); 8.48 (t, 2H, H2b/H4b); 12.17 (s, 1H, OH)

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

11.0 (C2'); 11.4 (C2''); 23.9 (C1'); 26.4 (C1''); 46.6 (C5); 47.9 (N-CH₂); 51.9, 52.6 (COOCH₃); 55.5 (C6); 56.3 (C2); 100.7 (C3); 123.5 (C5b); 135.3 (C1b); 136.7 (C6b); 148.5 (C4b); 150.2 (C2b); 166.2 (C4); 171.7, 172.6 (C=O)

5.2.1.3 Synthese von 1-Benzyl-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1c)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_5$	Ausbeute:	2.0 g (28 %)
M_r :	361.4 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	113 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3506; 2959; 1731; 1722; 1655; 1619; 1433; 1375; 1353; 1319; 1201; 1162; 1002; 778; 739

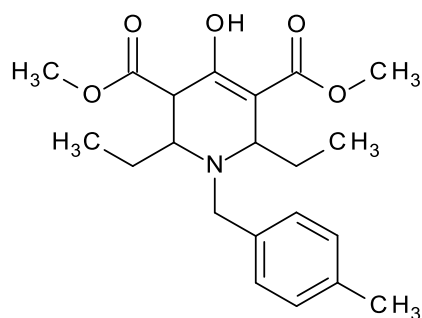
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.86 (t, 3H, **H2''**); 1.09 (t, 3H, **H2'**); 1.45 – 1.73 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 3.14 (d, 1H, $^2J = 13.8$, N-**CH₂**); 3.23 (dd, 1H, $^3J = 9.1$, $^3J = 5.3$, **H2**); 3.30 (d, 1H, $^3J = 10.6$, **H5**); 3.40 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.3$, **H6**); 3.70 (s, 3H, COO**CH₃**); 3.78 (s, 3H, COO**CH₃**); 3.83 (d, 1H, $^2J = 13.9$, N-**CH₂**); 7.23 – 7.35 (m, 5H, **H_{benzyl}**); 12.18 (s, 1H, **OH**)

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

11.0 (**C2'**); 11.4 (**C2''**); 23.8 (**C1'**); 26.5 (**C1''**); 48.0 (**C5**); 49.0 (N-**CH₂**); 51.8, 52.6 (COO**CH₃**); 55.2 (**C6**); 56.1 (**C2**); 101.1 (**C3**); 126.9 (**C4b**); 128.3 (**C3b/ C5b**); 128.9 (**C2b/ C6b**); 139.8 (**C1b**); 166.3 (**C4**); 172.0, 172.8 (**C=O**)

5.2.1.4 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-methyl-benzyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbon säuredimethylester (1d)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_5$	Ausbeute:	1.2 g (30 %)
M_r :	375.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	135 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3510; 2978; 1729; 1656; 1620; 1456; 1401; 1365; 1314; 1203; 1154; 1129; 951; 808; 754

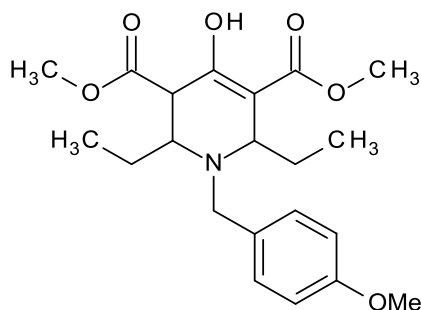
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.85 (t, 3H, **H2''**); 1.08 (t, 3H, **H2'**); 1.42 – 1.71 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 2.35 (s, 1H, Benzyl-**CH3**); 3.10 (d, 1H, $^2J = 13.6$, N-**CH2**); 3.24 (dd, 1H, $^3J = 9.5$, $^3J = 5.1$, **H2**); 3.29 (d, 1H, $^3J = 10.6$, **H5**); 3.39 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.3$, **H6**); 3.70 (s, 3H, **COOCH3**); 3.77 (s, 3H, **COOCH3**); 3.79 (d, 1H, $^2J = 13.6$, N-**CH2**); 7.12 (d, 2H, $^3J = 7.9$, **H3b/ 5b**); 7.22 (d, 2H, $^3J = 7.9$, **H2b/ 6b**); 12.19 (s, 1H, **OH**)

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

11.0 (**C2'**); 11.4 (**C2''**); 21.2 (Ar-**CH3**); 23.9 (**C1'**); 26.4 (**C1''**); 47.9 (**C5**); 48.6 (N-**CH2**); 51.8, 52.5 (**COOCH3**); 55.5 (**C6**); 55.9 (**C2**); 101.1 (**C3**); 128.8 (**C2b/ C6b**); 129.0 (**C3b/ C5b**); 136.5 (**C4b**); 136.6 (**C1b**); 166.3 (**C4**); 172.0, 172.9 (**C=O**)

5.2.1.5 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-methoxy-benzyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1e)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_6$	Ausbeute:	5.0 g (85 %)
M_r :	391.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	123 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3508; 2963; 1744; 1731; 1654; 1623; 1510; 1433; 1352; 1321; 1234; 1161; 1199; 1038; 990; 777

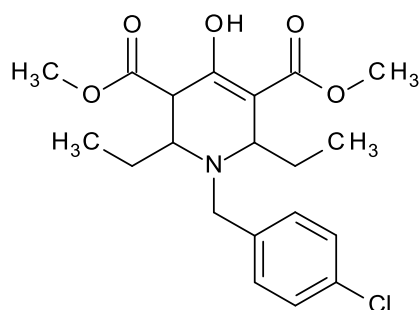
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.82 (t, 3H, **H2''**); 1.08 (t, 3H, **H2'**); 1.43 – 1.73 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 3.06 (d, 1H, $^2J = 13.4$, N-**CH₂**); 3.22 (dd, 1H, $^3J = 9.6$, $^3J = 4.9$, **H2**); 3.28 (d, 1H, $^3J = 10.8$, **H5**); 3.38 (dt, 1H, $^3J = 10.8$, $^3J = 4.3$, **H6**); 3.70 (s, 3H, COO**CH₃**); 3.77 (s, 3H, COO**CH₃**); 3.78 (d, 1H, N-**CH₂**); 3.80 (s, 3H, O**CH₃**); 6.88 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H3b/ 5b**); 7.23 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H2b/ 6b**); 12.17 (s, 1H, O**H**)

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

11.0 (**C2'**); 11.4 (**C2''**); 23.9 (**C1'**); 26.4 (**C1''**); 47.9 (**C5**); 48.2 (N-**CH₂**); 51.8, 52.6 (COO**CH₃**); 55.4 (**C6**); 55.5 (O**CH₃**); 55.7 (**C2**); 101.0 (**C3**); 113.7 (**C3b/ C5b**); 129.9 (**C2b/ C6b**); 131.6 (**C1b**); 158.7 (**C4b**); 166.3 (**C4**); 172.0, 172.9 (**C=O**)

5.2.1.6 Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1f)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{ClNO}_5$	Ausbeute:	4.5 g (76 %)
M_r :	395.9 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	131 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3505; 2961; 1733; 1654; 1624; 1517; 1433; 1348; 1321; 1237; 1161; 1037; 808

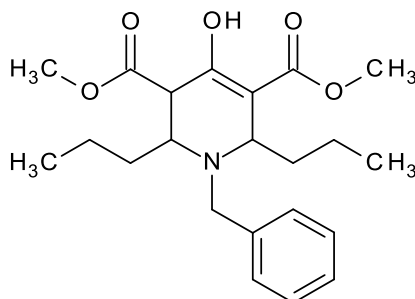
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.84 (t, 3H, **H2''**); 1.06 (t, 3H, **H2'**); 1.45 – 1.70 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 3.11 (d, 1H, $^3J = 13.6$, N-**CH₂**); 3.15 (dd, 1H, $^3J = 9.4$, $^3J = 5.3$, **H2**); 3.27 (d, 1H, $^3J = 10.6$, **H5**); 3.39 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.3$, **H6**); 3.71 (s, 3H, COO**CH₃**); 3.74 (d, 1H, $^2J = 13.6$, N-**CH₂**); 3.77 (s, 3H, COO**CH₃**); 7.27 (d, 4H, $^3J = 8.6$, **H3b/ 5b, H2b/ 6b**); 12.17 (s, 1H, **OH**)

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

11.0 (**C2'**); 11.4 (**C2''**); 23.9 (**C1'**); 26.5 (**C1''**); 47.9 (**C5**); 48.4 (N-**CH₂**); 51.8, 52.6 (COO**CH₃**); 55.4 (**C6**); 56.1 (**C2**); 100.9 (**C3**); 128.5 (**C2b/ C6b**); 130.1 (**C3b/ C5b**); 132.7 (**C4b**); 138.3 (**C1b**); 166.3 (**C4**); 171.9, 172.7 (**C=O**)

5.2.1.7 Synthese von 1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1g)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_5$	Ausbeute:	7.1 g (91 %)
M_r :	389.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	114 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2954; 2871; 1736; 1649; 1613; 1435; 1313; 1239; 1221; 1192; 1141; 1062; 835; 742

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

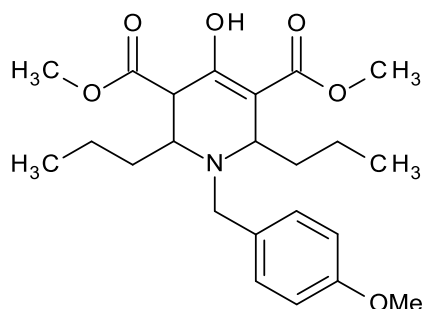
0.72 (t, 3H, **H3''**); 0.87 (t, 3H, **H3'**); 0.91 – 1.75 (m, 8H, **H2''/ H2'** und **H1''/ H1'**); 3.11 (d, 1H, $^2J = 13.6$, N-**CH₂**); 3.29 (d, 1H, $^3J = 10.6$, **H5**); 3.31 (dd, 1H, $^3J = 10.4$, $^3J = 3.3$,

H2); 3.50 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.0$, **H6**); 3.70 (s, 3H, COO**C**H₃); 3.79 (s, 3H, COO**C**H₃); 3.82 (d, 1H, $^2J = 13.6$, N-**C**H₂); 7.22 – 7.25 (m, 1H, **H4b**); 7.31 (d, 4H, $^3J = 4.3$, **H3b/ 5b** und **H2b/ 6b**); 12.17 (s, 1H, **O**H)

^{13}C -NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

13.9 (**C3'**); 14.0 (**C3''**); 19.3 (**C2'**); 19.8 (**C2''**); 33.2 (**C1'**); 35.9 (**C1''**); 47.9 (**C5**); 49.2 (N-**C**H₂); 51.8, 52.6 (COO**C**H₃); 53.6 (**C6**); 54.4 (**C2**); 101.0 (**C3**); 127.0 (**C4b**); 128.3 (**C2b/ C4b**); 129.0 (**C3b/ C5b**); 139.8 (**C1b**); 166.3 (**C4**); 172.0, 172.8 (**C=O**)

5.2.1.8 Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-methoxy-benzyl)-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1h)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	C ₂₃ H ₃₃ NO ₆	Ausbeute:	4.0 g (64 %)
M _r :	419.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	104 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3504; 2959; 1733; 1654; 1615; 1510; 1434; 1347; 1321; 1236; 1161; 1102; 1038; 808

^1H -NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

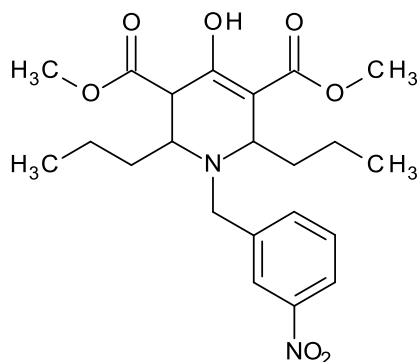
0.72 (t, 3H, **H3''**); 0.93 (t, 3H, **H3'**); 1.01 – 1.15 (m, 1H, **H2''**); 1.30 – 1.75 (m, 7H, **H2''/ H2'** und **H1''/ H1'**); 3.04 (d, 1H, $^2J = 13.4$, N-**C**H₂); 3.28 (d, 1H, $^3J = 10.6$, **H5**); 3.32 (dd, teilweise verdeckt, 1H, **H2**); 3.51 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.0$, **H6**); 3.70 (s, 3H,

COOCH₃); 3.75 (d, 1H, ²J = 13.1, N-CH₂); 3.78 (s, 3H, COOCH₃); 3.80 (s, 3H, OCH₃); 6.84 (d, 2H, ³J = 8.6, **H3b/ 5b**); 7.20 (d, 2H, ³J = 8.6, **H2b/ 6b**); 12.16 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

13.9 (**C3'**); 14.0 (**C3''**); 19.3 (**C2'**); 19.8 (**C2''**); 33.1 (**C1'**); 35.8 (**C1''**); 47.8 (**C5**); 48.3 (N-CH₂); 51.8, 52.5 (COOCH₃); 53.6 (**C6**); 54.0 (OCH₃); 55.4 (**C2**); 100.9 (**C3**); 113.7 (**C3b/ C5b**); 130.0 (**C2b/ C6b**); 131.6 (**C1b**); 158.7 (**C4b**); 166.3 (**C4**); 172.0, 172.8 (**C=O**)

5.2.1.9 Synthese von 4-Hydroxy-1-(3-nitro-benzyl)-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1i)



Synthesestrategie:	3-B	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₇	Ausbeute:	3.8 g (88 %)
M _r :	434.5 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M _p :	102 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3649; 2958; 2865; 1747; 1736; 1652; 1625; 1525; 1436; 1343; 1233; 1063; 1014; 782; 739

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

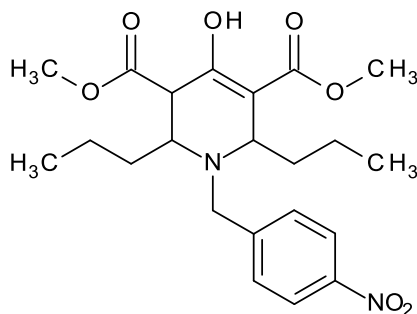
0.74 (t, 3H, **H3''**); 0.93 (t, 3H, **H3'**); 1.07 – 1.20 (m, 1H, **H2''**); 1.34 – 1.67 (m, 7H, **H2''/ H2'** und **H1''/ H1'**); 3.23 (dd, 1H, ³J = 10.8, ³J = 3.3, **H2**); 3.27 (d, 1H, ³J = 11.1, **H5**); 3.28 (d, 1H, ²J = 14.4, N-CH₂); 3.57 (dt, 1H, ³J = 11.1, ³J = 4.1, **H6**); 3.70 (s, 3H,

COOCH₃); 3.79 (s, 3H, COOCH₃); 3.88 (d, 1H, ²J = 14.4, N-CH₂); 7.48 (t, 1H, ³J = 7.8, **H5b**); 7.66 (d, 1H, ³J = 7.6, **H6b**); 8.11 (d, 1H, ³J = 8.1, **H4b**); 8.20 (s, 1H, **H2b**); 12.17 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

13.9 (**C3'**); 14.0 (**C3''**); 19.4 (**C2'**); 19.9 (**C2''**); 33.2 (**C1'**); 35.9 (**C1''**); 48.0 (**C5**); 48.9 (N-CH₂); 51.9, 52.7 (COOCH₃); 53.6 (**C6**); 55.0 (**C2**); 100.7 (**C3**); 122.3 (**C2b**); 123.6 (**C4b**); 129.3 (**C5b**); 134.8 (**C6b**); 142.2 (**C1b**); 148.5 (**C3b**); 166.2 (**C4**); 171.6, 172.5 (C=O)

5.2.1.10 Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-nitro-benzyl)-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (1j)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₇	Ausbeute:	3.1 g (71 %)
M _r :	434.5 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M _p :	135 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 2953; 2868; 1739; 1666; 1628; 1519; 1445; 1343; 1225; 1199; 1065; 1017; 852; 744

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

0.76 (t, 3H, **H3''**); 0.93 (t, 3H, **H3'**); 1.06 – 1.17 (m, 1H, **H2''**); 1.33 – 1.68 (m, 7H, **H2''/ H2'** und **H1''/ H1'**); 3.19 (dd, 1H, ³J = 10.5, ³J = 3.3, **H2**); 3.27 (d, 1H, ³J = 10.6, **H5**); 3.28 (d, 1H, ²J = 14.6, N-CH₂); 3.56 (dt, 1H, ³J = 10.6, ³J = 4.0, **H6**); 3.70 (s, 3H,

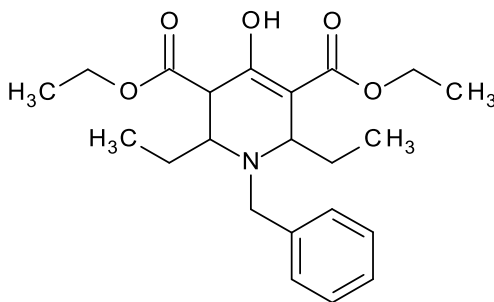
COOCH₃); 3.78 (s, 3H, COOCH₃); 3.87 (d, 1H, ²J = 14.6, N-CH₂); 7.50 (d, 2H, **H2b/6b**); 8.17 (d, 2H, **H3b/5b**); 12.16 (s, 1H, **OH**)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

13.9 (**C3'**); 14.0 (**C3''**); 19.4 (**C2'**); 20.0 (**C2''**); 33.2 (**C1'**); 35.9 (**C1''**); 47.9 (**C5**); 49.1 (N-CH₂); 51.9, 52.7 (COOCH₃); 53.5 (**C6**); 55.3 (**C2**); 100.6 (**C3**); 123.6 (**C3b/ C5b**); 129.4 (**C2b/ C6b**); 147.3 (**C4b**); 147.8 (**C1b**); 166.2 (**C4**); 171.6, 172.5 (**C=O**)

5.2.2 Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester **2**

5.2.2.1 Synthese von 1-Benzyl-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (**2a**)



Synthesestrategie:	3-B	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	C ₂₂ H ₃₁ NO ₅	Ausbeute:	4.1 g (53 %)
M _r :	389.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	102 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 2964; 1728; 1641; 1451; 1368; 1315; 1239; 1209; 1185; 1145; 1053; 1022; 829; 746

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

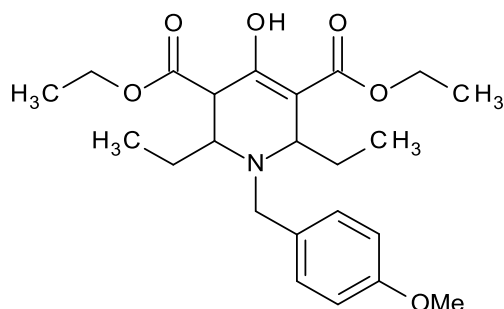
0.84 (t, 3H, **H2''**); 1.09 (t, 3H, **H2'**); 1.21 (t, 3H, COOCH₂CH₃); 1.31 (t, 3H, COOCH₂CH₃); 1.48 – 1.74 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 3.13 (d, 1H, ²J = 13.6, N-CH₂); 3.22

(dd, 1H, $^3J = 9.2$, **H2**); 3.27 (d, 1H, $^3J = 10.9$, **H5**); 3.40 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.3$, **H6**); 3.82 (d, 1H, $^2J = 13.6$, N-**CH₂**); 4.10 – 4.28 (m, 4H, COO**CH₂**CH₃); 7.24 – 7.34 (m, 5H, **H3b/ 5b** und **H2b/ 6b**); 12.24 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

11.0 (**C2'**); 11.4 (**C2''**); 14.3 (2x OCH₂**CH₃**); 23.8 (**C1'**); 26.5 (**C1''**); 48.0 (**C5**); 49.0 (N-**CH₂**); 55.6 (**C6**); 56.0 (**C2**); 60.6, 61.4 (COO**CH₂**CH₃); 101.1 (**C3**); 126.9 (**C4b**); 128.2 (**C2b/ C6b**); 128.9 (**C3b/ C5b**); 139.8 (**C1b**); 166.4 (**C4**); 171.6, 172.4 (**C=O**)

5.2.2.2 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-methoxy-benzyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (**2b**)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	C ₂₃ H ₃₃ NO ₆	Ausbeute:	3.7 g (59 %)
M _r :	419.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	115 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3750; 2968; 1728; 1654; 1626; 1611; 1512; 1402; 1369; 1316; 1250; 1236; 1139; 1024; 799

^1H -NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

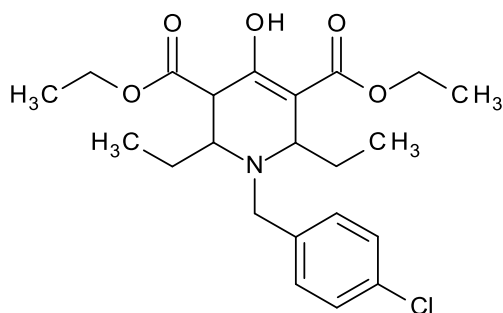
0.81 (t, 3H, **H2''**); 1.08 (t, 3H, **H2'**); 1.21 (t, 3H, COO**CH₂**CH₃); 1.30 (t, 3H, COO**CH₂**CH₃); 1.45 – 1.73 (m, 4H, **H1''/ H1'** bzw. **CH₂**CH₃); 3.05 (d, 1H, $^3J = 13.3$, N-**CH₂**); 3.21 (dd, 1H, $^3J = 9.6$, $^3J = 4.8$, **H2**); 3.26 (d, 1H, $^2J = 10.7$, **H5**); 3.38 (dt, 1H, $^3J = 10.7$, $^3J = 4.3$, **H6**); 3.75 (d, 1H, $^2J = 13.3$, N-**CH₂**); 3.81 (s, 3H, O**CH₃**); 4.11 – 4.26 (m,

4H, COOCH₂CH₃); 6.84 (d, 2H, ³J = 8.6, **H3b/ C5b**); 7.22 (d, 2H, ³J = 8.6, **H2b/ C6b**); 12.23 (s, 1H, **OH**)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

11.0 (**C2'**); 11.4 (**C2''**); 14.31, 14.34 (OCH₂CH₃); 23.8 (**C1'**); 26.5 (**C1''**); 48.0 (**C5**); 48.2 (N-CH₂); 55.4 (**C6**); 55.6 (OCH₃); 55.7 (**C2**); 60.6, 61.4 (COOCH₂CH₃); 101.1 (**C3**); 113.6 (**C3b/ C5b**); 130.0 (**C2b/ C6b**); 131.7 (**C1b**); 158.7 (**C4b**); 166.4 (**C4**); 171.7, 172.4 (**C=O**)

5.2.2.3 Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2c)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	C ₂₂ H ₃₀ ClNO ₅	Ausbeute:	5.1 g (80 %)
M _r :	423.9 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	119 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3733; 2959; 2359; 1732; 1646; 1620; 1369; 1318; 1236; 1181; 1142; 1014; 808

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

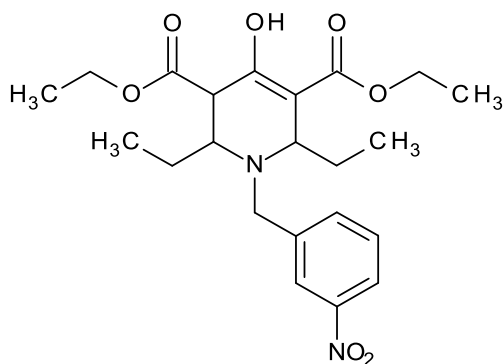
0.83 (t, 3H, **H2''**); 1.07 (t, 3H, **H2'**); 1.22 (t, 3H, COOCH₂CH₃); 1.30 (t, 3H, COOCH₂CH₃); 1.46 – 1.71 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 3.10 (d, 1H, ²J = 13.9, N-CH₂); 3.14 (dd, 1H, ³J = 9.5, ³J = 4.6, **H2**); 3.24 (d, 1H, ³J = 10.6, **H5**); 3.39 (dt, 1H, ³J = 10.6, ³J =

4.3, **H6**); 3.76 (d, 1H, $^2J = 13.9$, N-**CH₂**); 4.10 – 4.26 (m, 4H, COO**CH₂**CH₃); 7.27 (s, 4H, **H3b/ C5b, H2b/ C6b**); 12.23 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

11.0 (**C2'**); 11.5 (**C2''**); 14.3 (2x OCH₂**CH₃**); 23.8 (**C1'**); 26.6 (**C1''**); 48.1 (**C5**); 48.5 (N-**CH₂**); 55.5 (**C6**); 56.2 (**C2**); 60.7, 61.5 (COO**CH₂**CH₃); 101.0 (**C3**); 128.4 (**C2b/ C6b**); 130.2 (**C3b/ C5b**); 132.6 (**C4b**); 138.4 (**C1b**); 166.4 (**C4**); 171.5, 172.3 (**C=O**)

5.2.2.4 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(3-nitro-benzyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (**2d**)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₇	Ausbeute:	4.3 g (66 %)
M _r :	434.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	128 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3674; 2979; 2360; 1730; 1638; 1617; 1521; 1465; 1455; 1346; 1263; 1226; 1212; 1050; 1028; 836; 731

^1H -NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

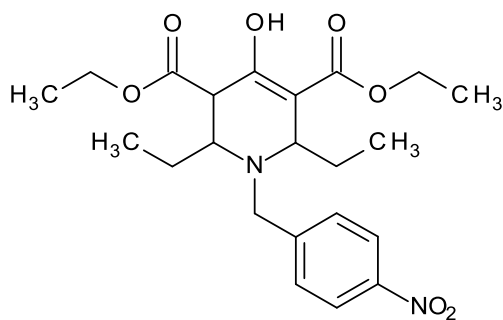
0.87 (t, 3H, **H2'**); 1.08 (t, 3H, **H2''**); 1.20 (t, 3H, COO**CH₂****CH₃**); 1.31 (t, 3H, COO**CH₂****CH₃**); 1.51 – 1.70 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 3.14 (dd, 1H, $^3J = 8.8$, $^3J = 6.2$, **H2**); 3.25 (d, 1H, $^2J = 10.9$, **H5**); 3.28 (d, 1H, $^3J = 14.4$, N-**CH₂**); 3.44 (dt, 1H, $^3J = 10.9$, $^3J = 4.3$, **H6**); 3.88 (d, 1H, $^2J = 14.4$, N-**CH₂**); 4.09 – 4.27 (m, 4H, COO**CH₂**CH₃); 7.48 (t, 1H,

$^3J = 8.1$, $^3J = 7.8$, **H5b**); 7.67 (d, 1H, $^3J = 7.6$, **H6b**); 8.11 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H4b**); 8.24 (s, 1H, **H2b**); 12.24 (s, 1H, **OH**)

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

11.1 (**C2'**); 11.5 (**C2''**); 14.3 (2x OCH_2CH_3); 24.0 (**C1'**); 26.6 (**C1''**); 48.2 (**C5**); 48.7 (N-CH_2); 55.6 (**C6**); 56.8 (**C2**); 60.8, 61.6 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 100.9 (**C3**); 122.3 (**C2b**); 123.6 (**C4b**); 129.2 (**C5b**); 134.8 (**C6b**); 142.4 (**C1b**); 148.5 (**C3b**); 166.4 (**C4**); 171.3, 172.1 (**C=O**)

5.2.2.5 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(4-nitro-benzyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2e)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7$	Ausbeute:	3.5 g (81 %)
M_f :	434.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	112 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2971; 1725; 1642; 1606; 1523; 1345; 1315; 1249; 1238; 1187; 1024; 834; 745

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

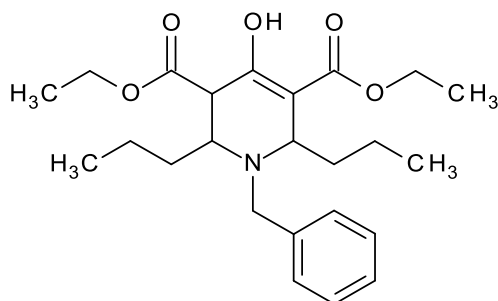
0.87 (t, 3H, **H2''**); 1.07 (t, 3H, **H2'**); 1.20 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.31 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.49 – 1.65 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 3.10 (dd, 1H, $^3J = 8.8$, $^3J = 5.7$, **H2**); 3.25 (d, 1H, $^2J = 10.9$, **H5**); 3.32 (d, 1H, $^3J = 14.6$, N-CH_2); 3.43 (dt, 1H, $^3J = 10.9$, $^3J =$

4.3, **H6**); 3.87 (d, 1H, $^2J = 14.6$, N-**CH₂**); 4.08 – 4.27 (m, 4H, COO**CH₂**CH₃); 7.53 (d, 2H, **H2b/ C6b**); 8.18 (d, 2H, **H3b/ C5b**); 12.24 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

11.1 (**C2'**); 11.5 (**C2''**); 14.3 (2x OCH₂**CH₃**); 24.0 (**C1'**); 26.6 (**C1''**); 48.1 (**C5**); 49.0 (N-**CH₂**); 55.6 (**C6**); 57.0 (**C2**); 60.8, 61.6 (COO**CH₂**CH₃); 100.8 (**C3**); 123.6 (**C3b/ C5b**); 129.4 (**C2b/ C6b**); 147.3 (**C4b**); 148.0 (**C1b**); 166.4 (**C4**); 171.2, 172.1 (**C=O**)

5.2.2.6 Synthese von 1-Benzyl-4-hydroxy-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (2f)



Synthesestrategie:	3-B	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	C ₂₄ H ₃₅ NO ₅	Ausbeute:	4.1 g (49 %)
M _r :	417.6 g/mol	Aussehen:	farblose Kristalle
M _p :	109 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 2956; 1730; 1650; 1620; 1455; 1369; 1329; 1256; 1237; 1138; 1024; 803; 742; 704

^1H -NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

0.67 (t, 3H, **H3''**); 0.94 (t, 3H, **H3'**); 1.08 – 1.18 (m, 1H, **H2''**); 1.21 (t, 3H, COOCH₂**CH₃**); 1.31 (t, 3H, COOCH₂**CH₃**); 1.35 – 1.75 (m, 7H, **H2''/ H2'** und **H1''/ H1'**); 3.11 (d, 1H, $^2J = 13.4$, N-**CH₂**); 3.27 (d, 1H, $^3J = 10.9$, **H5**); 3.33 (dd, 1H, $^3J = 10.8$, **H2**); 3.54 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.0$, **H6**); 3.82 (d, 1H, $^2J = 13.4$, N-**CH₂**); 4.11 –

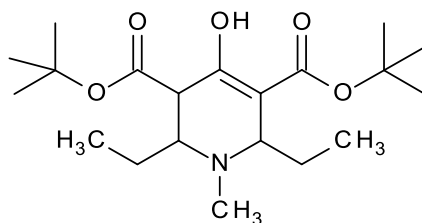
4.31 (m, 4H, COOCH₂CH₃); 7.23 – 7.31 (m, 5H, **H3b/ 5b** und **H2b/ 6b**); 12.22 (s, 1H, **OH**)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

13.7 (**C3''**); 14.0 (**C3'**); 14.2, 14.3 (OCH₂CH₃); 19.3 (**C2''**); 19.7 (**C2'**); 33.0 (**C1''**); 35.8 (**C1'**); 47.9 (**C5**); 49.2 (N-CH₂); 53.6 (**C6**); 54.0 (**C2**); 60.6, 61.4 (COOCH₂CH₃); 101.0 (**C3**); 127.0 (**C4b**); 128.2 (**C2b/ C6b**); 129.1 (**C3b/ C5b**); 139.8 (**C1b**); 166.4 (**C4**); 171.6, 172.3 (C=O)

5.2.3 Synthese der 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester **3**

5.2.3.1 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester (**3a**)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	C ₂₀ H ₃₅ NO ₅	Ausbeute:	3.1 g (77 %)
M _r :	369.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	109 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 2968; 1721; 1651; 1624; 1457; 1372; 1365; 1349, 1287; 1257; 1239; 1161; 1129; 1057; 964; 821

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

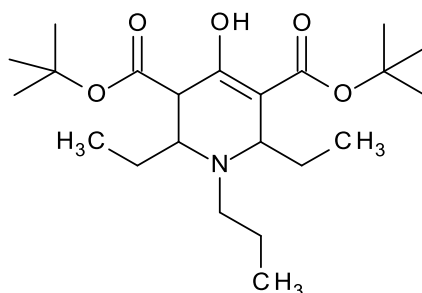
0.92 – 0.97 (2x t, 6H, **H2''/ H2'**); 1.42 – 1.67 (m, 4H, **H1''/ H1'**); 1.48 (s, 9H, COOC(CH₃)₃); 1.50 (s, 9H, COOC(CH₃)₃); 2.15 (s, 3H, N-CH₃); 3.06 (d, 1H, ³J = 10.6,

H5); 3.10 (dd, 1H, $^3J = 3.8$, $^3J = 10.4$, **H2**); 3.15 (dt, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.6$, **H6**); 12.21 (s, 1H, **OH**)

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

10.6, 11.7 (**C2'**/**C2''**); 24.0 (**C1''**); 27.0 (**C1'**); 28.1, 28.4 ($\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 35.2 (N-CH_3); 47.7 (**C5**); 55.5 (**C2**); 61.9 (**C6**); 81.6 ($2 \times \text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 101.9 (**C3**); 166.0 (**C4**); 171.4, 172.1 (**C=O**)

5.2.3.2 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-propyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester (**3b**)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{NO}_5$	Ausbeute:	2.9 g (73 %)
M_r :	397.6 g/mol	Aussehen:	weiße Kristalle
M_p :	105 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2961; 1725; 1646; 1623; 1463; 1367; 1350; 1285; 1237; 1157; 1058; 966; 835

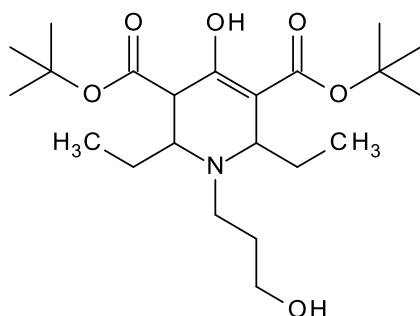
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.88 (t, 3H, **H2''**); 0.92 – 0.97 (2x t, 6H, **H2''** und $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.33 - 1.59 (m, 5H, **H1'b**, **H1'a/b** und $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.47 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 1.50 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 1.59 – 1.69 (m, 1H, **H1'b**); 1.99 - 2.05 (m, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 2.32 - 2.39 (m, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3.01 (d, 1H, $^3J = 10.9$, **H5**); 3.15 (dd, 1H, $^3J = 10.6$, $^3J = 4.3$, **H2**); 3.21 (dd, 1H, $^3J = 10.9$, $^3J = 3.1$, **H6**); 12.23 (s, 1H, **OH**)

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

11.0 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\underline{\text{H}}_3$); 11.9, 12.1 ($\text{C}\underline{2}'$ / $\text{C}\underline{2}''$); 22.2 (N- $\text{CH}_2\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_3$); 23.6 ($\text{C}\underline{1}''$); 26.4 ($\text{C}\underline{1}'$); 28.1, 28.4 ($\text{COOC}(\text{C}\underline{\text{H}}_3)_3$); 46.8 (N- $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 48.7 ($\text{C}\underline{5}$); 55.8 ($\text{C}\underline{6}$); 57.6 ($\text{C}\underline{2}$); 81.5 (2x $\text{COOC}(\text{C}\underline{\text{H}}_3)_3$); 102.1 ($\text{C}\underline{3}$); 166.9 ($\text{C}\underline{4}$); 171.3, 172.3 ($\text{C}=\text{O}$)

5.2.3.3 Synthese von 2,6-Diethyl-4-hydroxy-1-(3-hydroxypropyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester (3c)



Synthesestrategie:	3-B	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{NO}_6$	Ausbeute:	3.0 g (72 %)
M_r :	413.6 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M_p :	163 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3324; 2983; 2478; 1658; 1619; 1464; 1395; 1353; 1254; 1148; 1105; 1071; 832; 787; 768

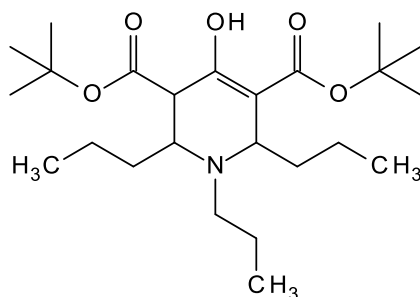
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

1.03 – 1.07 (2x t, 6H, $\underline{\text{H}}\underline{2}''$ / $\underline{\text{H}}\underline{2}'$); 1.48 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{C}\underline{\text{H}}_3)_3$); 1.52 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{C}\underline{\text{H}}_3)_3$); 1.62 – 1.76 (m, 1H, $\underline{\text{H}}\underline{1}''$); 1.78 – 1.90 (m, 1H, N- $\text{CH}_2\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 1.94 – 2.10 (m, 2H, $\underline{\text{H}}\underline{1}'$ und N- $\text{CH}_2\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 2.56 – 2.75 (m, 3H, $\underline{\text{H}}\underline{2}''$ / $\underline{\text{H}}\underline{2}'$ und N- $\text{C}\underline{\text{H}}_2$); 3.25 (d, 1H, $^3J = 9.9$, $\underline{\text{H}}\underline{5}$); 3.45 – 3.52 (m, 1H, N- $(\text{CH}_2)_2\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-OH}$); 3.73 – 3.89 (dm, 2H, N- $(\text{CH}_2)_2\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{-OH}$); 4.13 (t, 1H, $\underline{\text{H}}\underline{6}$); 4.33 (dd, 1H, $^3J = 10.0$, $^3J = 3.2$, $\underline{\text{H}}\underline{2}$); 11.74 (s, 1H, N-Alkyl- $\underline{\text{O}}\underline{\text{H}}$); 12.56 (s, 1H, $\underline{\text{O}}\underline{\text{H}}$)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ [ppm]):

10.6, 11.3 (**C2'**/**C2''**); 25.5 (**C1''**); 27.3 (N-CH₂CH₂CH₂-OH); 27.9, 28.3 (COOC(CH₃)₃); 28.5 (**C1'**); 44.9 (N-CH₂); 50.2 (**C5**); 56.8 (**C2**); 58.5 (**C6** und N-(CH₂)₂CH₂-OH); 84.5, 84.6 (COOC(CH₃)₃); 97.2 (**C3**); 166.0 (**C4**); 169.7, 167.2 (C=O)

5.2.3.4 Synthese von 4-Hydroxy-1,2,6-tripropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester (3d)



Synthesestrategie:	3-B	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{NO}_5$	Ausbeute:	2.8 g (66 %)
M_r :	425.6 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	168 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2961; 2283; 1745; 1731; 1652; 1623; 1458; 1391; 1366; 1295; 1241; 1145; 957; 834; 804

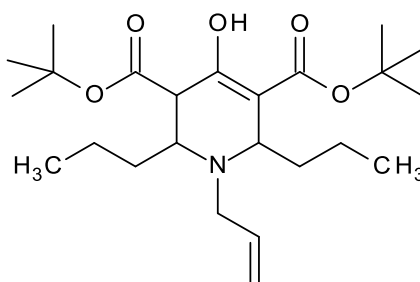
^1H -NMR (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.93 – 0.99 (2x t, 9H, **H3''**/**H3'** und N-CH₂CH₂**CH3**); 1.30 – 1.63 (m, 6H, **H2''**/**H2'**, **H_B**, und **H1''b**); 1.47 (s, 9H, COOC(CH₃)₃); 1.50 (s, 9H, COOC(CH₃)₃); 1.83 – 1.92 (m, 1H, **H1'b**); 2.14 – 2.23 (m, 1H, N-CH₂**CH2**CH₃); 2.40 – 2.50 (m, 1H, **H1''a**/ N-**CH2**CH₂CH₃); 2.53 – 2.61 (m, 1H, **H1'a**); 3.03 – 3.10 (m, 1H, N-**CH2**CH₂CH₃); 3.20 (d, 1H, $^3J = 9.9$, **H5**); 4.15 (t, 1H, $^3J = 9.9$, **H6**); 4.24 (d, 1H, $^3J = 8.8$, **H2**); 12.53 (s, 1H, **OH**)

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

11.5 ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 13.9, 14.2 ($\text{C3}'/\text{C3}''$); 17.9 ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 19.3 ($\text{C2}''$); 19.9 ($\text{C2}'$); 27.8, 28.2 ($\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 34.1 ($\text{C1}''$); 37.2 ($\text{C1}'$); 48.6 ($\text{N-CH}_2\text{-R}$); 50.6 (C5); 55.0 (C2); 56.0 (C6); 84.3, 84.4 (2x $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 97.7 (C3); 165.8 (C4); 167.0, 169.7 (C=O)

5.2.3.5 Synthese von 1-Allyl-4-hydroxy-2,6-dipropyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester (3e)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{NO}_5$	Ausbeute:	3.2 g (70 %)
M_r :	423.6 g/mol	Aussehen:	farblose Kristalle
M_p :	110 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2967; 1730; 1645; 1613; 1360; 1347; 1255; 1237; 1154; 1058; 957; 916; 827; 810

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

0.86 – 0.90 (2x t, 6H, $\text{H3}''/\text{H3}'$); 1.25 – 1.38 (m, 3H, $\text{H2}''/\text{H2}'$); 1.47 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 1.48 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 1.47 – 1.63 (m, 5H, $\text{H2}''/\text{H2}'$ und $\text{H1}''/\text{H1}'$); 2.58 (dd, 1H, $^2J = 13.9$, $\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 2.98 (d, 1H, $^3J = 10.8$, H5); 3.19 (d, 1H, $^2J = 13.9$, $\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 3.35 – 3.42 (m, 2H, $\text{H6}/\text{H2}$); 5.04 – 5.10 (dd, 2H, $\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.69 – 5.79 (m, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 12.23 (s, 1H, OH)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ [ppm]):

13.9 (**C3'**/ **C3''**); 19.0 (**C2'**); 19.8 (**C2''**); 28.1, 28.4 ($\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 32.8 (**C1'**); 35.5 (**C1''**); 48.3 ($\text{N}-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 48.9 (**C5**); 53.3 (**C6**); 54.2 (**C2**); 81.5, 81.6 ($\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 101.8 (**C3**); 116.4 ($\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}_2$); 137.6 ($\text{N}-\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}_2$); 166.5 (**C4**); 171.0, 172.1 (**C=O**)

5.3 Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediester 4 - 6

Allgemeine Synthesevorschrift: (modifiziert nach **Mannich C (1934) Arch Pharm 272, 323-359**):

Strategie 1: 10 mmol des Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters und 20 mmol des aromatischen Aldehyds werden in 15 - 20 ml MeOH gelöst und über dem Eisbad auf -5 bis -20 °C abgekühlt. 10 mmol des primärenamins werden in 10 ml MeOH/ H₂O (1:1) gelöst und in einem Zeitraum von 1 h dem gekühlten Ansatz zugetropft. Anschließend wird das Reaktionsgemisch bei RT für 48 h weitergerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der ölige Rückstand wird mit wenig Aceton angelöst und mit Diethylether bzw. MeOH überschichtet. Nach Aufbewahrung des Ansatzes bei 5 °C filtriert man die entstandenen Kristalle ab, wäscht mit Et₂O und kristallisiert aus MeOH um.

Strategie 2: 40 mmol des aromatischen Aldehyds werden in 20 ml THF abs. unter Argonschutzatmosphäre vorgelegt. 20 mmol des entsprechenden Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters und 10 mmol des primärenamins werden je nach eingesetztem Diester entweder in 10 – 15 ml absolutiertem MeOH oder EtOH gelöst und separat, aber simultan unter Eiskühlung innerhalb von 1 h dem Ansatz zugetropft. Danach wird 1 h unter 0 °C, anschließend für 8 bis 48 h bei RT weitergerührt. Fällt das Produkt während des Rührvorgangs aus, filtriert man den Feststoff ab, wäscht mit MeOH und Et₂O und trocknet ihn im Vakuum. Entsteht kein Niederschlag wird das Lösungsmittel i. Vak.

entfernt, der Rückstand mit wenig MeOH, EtOH oder Toluol überschichtet und der Ansatz bei 5 °C aufbewahrt. Der kristallisierte Feststoff wird abfiltriert, mit kaltem MeOH und Diethylether gewaschen und aus MeOH umkristallisiert.

Strategie 3: 10 - 20 mmol des jeweiligen Aceton-1,3-dicarbonsäurediesters werden in 10 - 15 ml MeOH abs. unter Argonschutzatmosphäre vorgelegt und auf -10 bis -25 °C abgekühlt. 20 - 40 mmol des aromatischen Aldehyds und 10 - 20 mmol des entsprechenden primären Amins werden in jeweils 10 - 15 ml MeOH gelöst und dem Ansatz getrennt, aber simultan zutropft.

Bei der Verwendung von Nitro- und Brombenzaldehyden werden diese in 15 – 20 ml THF abs. statt in MeOH gelöst. Bei Verwendung der Nitrobenzylamin-Hydrochloride als Aminkomponente wird eine äquimolare Menge an NaOAc hinzugefügt.

Nach dem Zutropfvorgang wird die Temperatur zunächst für 3 h bei -10 bis -25 °C gehalten und im Anschluss 24 h bei 25 °C gerührt. Danach wird der Ansatz bei 5 °C gelagert.

Fällt während der Lagerung ein Feststoff aus, wird dieser abfiltriert, mit wenig kaltem MeOH und DE gewaschen und im Vakuum getrocknet. **(A)**

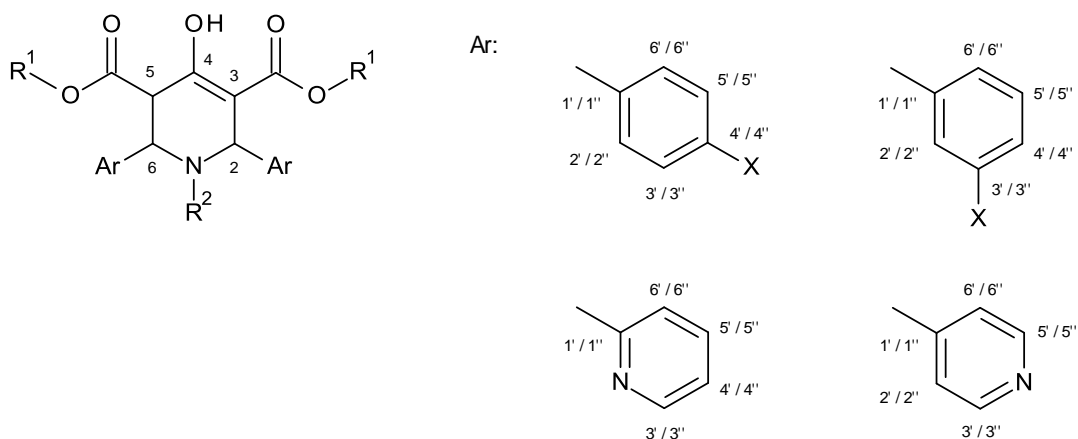
Bildet sich kein Niederschlag, wird die Lösung im Vakuum auf ca. 1/3 des Gesamtvolumens eingeeengt, mit Et₂O überschichtet und für mehrere Tage bei 5 °C gelagert, bis eine Kristallbildung einsetzt. Den erhaltenen Feststoff filtriert man ab, wäscht mit MeOH sowie Diethylether und trocknet ihn im Vakuum. **(B)**

Bildet sich ein öliger Rückstand wird das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Das erhaltene Öl löst man mit wenig Aceton an, überschichtet mit Diethylether und lagert den Ansatz bei 5 °C bis sich ein Niederschlag abscheidet. Dieser wird abfiltriert, mit kaltem MeOH und Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. **(C)**

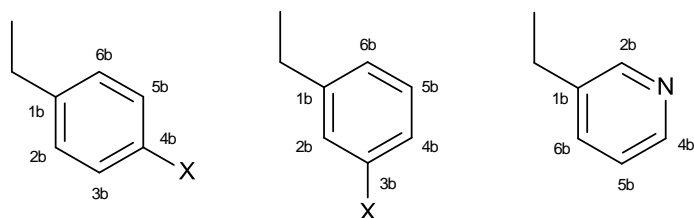
Die erhaltenen Feststoffe werden unter Umständen aus MeOH oder Toluol umkristallisiert.

Wird mit den oben beschriebenen Methoden **A – C** aus den öligen Rückständen kein Feststoff erhalten, versetzt man diese mit propanolischer HCl und isoliert das gewünschte Produkt als Hydrochlorid. **(D)**

Für das 4-Hydroxytetrahydropyridin-Ringsystem und für die Aromaten in den Positionen 2 und 6 werden bei der NMR-spektroskopischen Auswertung folgende Nummerierungen verwendet:



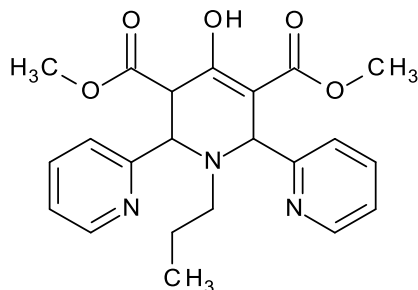
wenn R² = Benzylsubstitution:



5.3.1 Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-dimethylester **4**

5.3.1.1 4'-Hydroxy-1'-propyl-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (**4a**)

Verbindung **4a** wurde als *cis*-Keton-*trans*-Enol-Gemisch isoliert, wobei die Enolform stark überwiegt (Keto-Enol-Verhältnis 1:12).

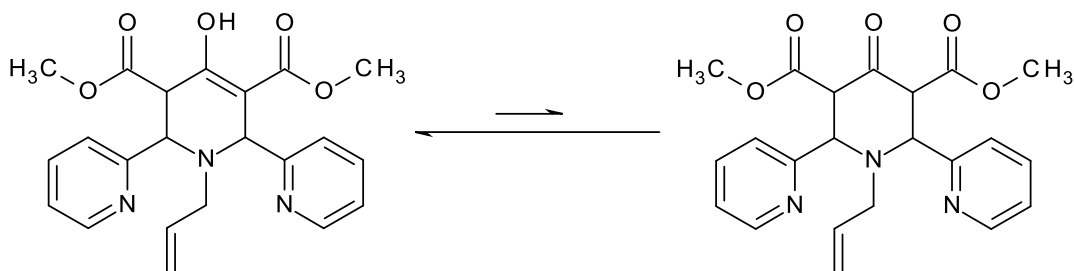


Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$C_{22}H_{25}N_3O_5$	Ausbeute:	3.6 g (88 %) (Lit.85 %)
M_r :	411.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	160 °C (Lit.: 128 °C)		

Die Verbindung ist literaturbekannt. Die spektroskopischen Daten entsprechen den in der Literatur angegebenen.¹³⁵

5.3.1.2 1'-Allyl-4'-hydroxy-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-dicarbonyldimethylester (**4b**)

Verbindung **4b** wurde als Gemisch aus der *cis*-Keto- und der *trans*-Enolform erhalten. Das Verhältnis der beiden tautomeren Formen beträgt ca. 1:12. Da die Menge des Ketons so gering ist, war eine Auswertung des ^{13}C -Spektrums aufgrund der geringen Signalstärke nicht möglich.



Synthesestrategie:	2 und 3-C	Ansatzgröße:	10 mmol
--------------------	-------------------------	--------------	---------

Summenformel:	$C_{22}H_{23}N_3O_5$	Ausbeute:	2.6 g (64 %) 2 , 3.6 g (80 %) 3C (Lit. 87 %)
M_f :	409.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	154-156 °C (Lit: 134 °C unter Zersetzung) ¹²¹		

Die Verbindung ist literaturbekannt. Die spektroskopischen Daten entsprechen den in der Literatur angegebenen.¹³⁵

trans-Enol:

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

2.96 – 3.07 (m, 2H, N-CH₂CH=CH₂); 3.60 (s, 3H, COOCH₃); 3.75 (s, 3H, COOCH₃); 4.18 (d, 1H, ³J = 10.1, **H5**); 4.69 (d, 1H, ³J = 10.1, **H6**); 4.98 (s, 1H, **H2**); 5.15 (d, 1H, ³J = 10.1, N-CH₂CH=CH₂); 5.25 (d, 1H, ³J = 17.2, N-CH₂CH=CH₂); 5.76 – 5.86 (m, 1H, N-CH₂CH=CH₂); 7.08 – 7.11 (m, 1H, **H4''**); 7.15 – 7.18 (m, 1H, **H4'**); 7.28 (d, 1H, ³J = 8.1, **H6''**); 7.55 (dt, 1H, **H5''**); 7.55 (d, 1H, ³J = 7.8, **H6'**); 7.68 (dt, 1H, ³J = 7.8, **H5'**); 8.44 (d, 1H, ³J = 4.0, **H3''**); 8.61 (d, 1H, ³J = 4.0, **H3'**); 12.51 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

44.5 (**C5**); 50.7 (N-CH₂CH=CH₂); 51.9 (COOCH₃); 52.6 (COOCH₃); 59.6 (**C6**); 60.6 (**C2**); 98.0 (**C3**); 117.9 (N-CH₂CH=CH₂); 122.1 (**C4''**); 122.4 (**C4'**); 123.0 (**C6''**); 123.3 (**C6'**); 136.2 (N-CH₂CH=CH₂); 136.3 (**C5''**); 136.4 (**C5'**); 148.4 (**C3''**); 149.2 (**C3'**); 158.6 (**C1''**); 161.7 (**C1'**); 167.7 (**C4**); 171.4, 172.4 (**C=O**)

cis-Keton:

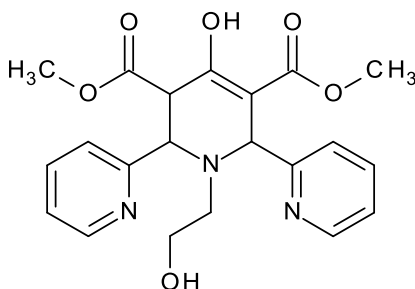
¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

2.80 – 2.95 (m, 2H, N-CH₂CH=CH₂); 3.76 (s, 6H, 2x COOCH₃); 4.23 (d, 2H, ³J = 6.6, **H2/H6**); 4.83 (d, 2H, ³J = 6.6, **H3/H5**); 5.14 – 5.26 (m, 2H, N-CH₂CH=CH₂); 5.68 – 5.80 (m, 1H, N-CH₂CH=CH₂); 7.16 – 7.19 (m, 2H, **H4'**); 7.38 (d, 2H, **H6'**); 7.65 – 7.70 (m, 2H, **H5'**); 8.54 (d, 2H, **H3'**)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ [ppm]):

keine Auswertung möglich

5.3.1.3 4'-Hydroxy-1'-(2-hydroxy-ethyl)-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (4c)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6$	Ausbeute:	3.5 g (85 %) (Lit.81%)
M_r :	413.4 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	146 °C (Lit.: 136 °C)		

Die Verbindung ist literaturbekannt. Die spektroskopischen Daten entsprechen den in der Literatur angegebenen.¹³⁵

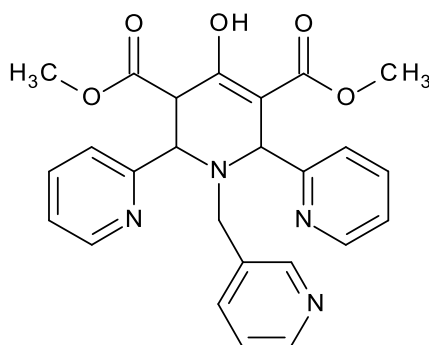
^1H -NMR (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

2.56 (m, 2H, N-CH₂CH₂OH); 3.39 (m, 1H, N-CH₂CH₂OH); 3.71 (m, 1H, N-CH₂CH₂OH); 3.63 (s, 3H, COOCH₃); 3.75 (s, 3H, COOCH₃); 4.26 (d, 1H, $^3J = 10.3$, **H5**); 4.45 (s, 1H, N-CH₂CH₂OH); 4.56 (d, 1H, $^3J = 10.3$, **H6**); 5.03 (s, 1H, **H2**); 7.10 – 7.12 (m, 1H, **H4''**); 7.11 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H6''**); 7.21 – 7.24 (m, 1H, **H4'**); 7.33 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H6'**); 7.55 (dt, 1H, $^3J = 7.7$, $^4J = 1.7$, **H5''**); 7.69 (dt, 1H, $^3J = 7.7$, $^4J = 1.8$, **H5'**); 8.44 (d, 1H, $^3J = 5.0$, **H3''**); 8.68 (d, 1H, $^3J = 4.5$, **H3'**); 12.62 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ [ppm]):

44.4 (**C5**); 48.7 (N-**CH**₂CH₂OH); 52.1, 52.7 (2x **OCH**₃); 59.6 (**C6**); 60.3 (N-**CH**₂CH₂OH); 61.0 (**C2**); 96.5 (**C3**); 122.8 (**C6'**); 122.9 (**C6''/C4''**); 124.0 (**C4'**); 136.7 (**C5'/C5''**); 148.4 (**C3'/C3''**); 157.4 (**C1'/C1''**); 169.9 (**C4**); 171.4, 172.0 (**C=O**)

5.3.1.4 4'-Hydroxy-1'-pyridin-2-yl-methyl-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (**4d**)



Synthesestrategie:	1	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5$	Ausbeute:	1.1 g (18 %)
M_r :	460.5 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M_p :	147 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3602; 3343; 2358; 1728; 1658; 1630; 1589; 1568; 1471; 1434; 1371; 1301; 1253; 1218; 1185; 1172; 1074; 994; 834; 777; 713

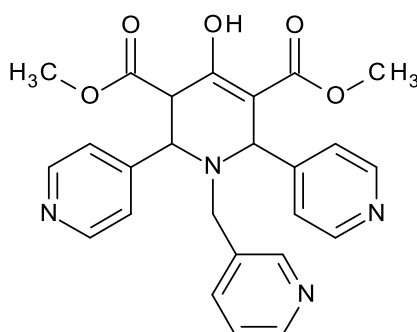
^1H -NMR (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

3.54 (s, 3H, **COOCH**₃); 3.61 (dd, 2H, N-**CH**₂-Ar); 3.73 (s, 3H, **COOCH**₃); 4.28 (d, 1H, $^3J = 9.4$, **H5**); 4.74 (d, 1H, $^3J = 9.4$, **H6**); 4.80 (s, 1H, **H2**); 7.11 – 7.17 (m, 2H, **H4'/H4''**); 7.23 (dd, 1H, $^3J = 7.8$, **H5b**); 7.31 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H6'**); 7.43 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H6b**); 7.58 – 7.70 (m, 3H, **H6'** und **H5'/H5''**); 8.46 – 8.51 (m, 3H, **H2b** und **H3'/H3''**); 8.56 (d, 1H, **H4b**); 12.54 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ [ppm]):

45.1 (**C5**); 49.4 (N-**CH**₂-Ar); 51.9, 52.7 (COO**CH**₃); 59.8 (**C6**); 61.2 (**C2**); 98.3 (**C3**); 122.3 (**C4'**); 122.8 (**C4''**); 122.9 (**C6''**); 123.4 (**C6'**); 123.5 (**C5b**); 134.9 (**C1b**); 136.5 (**C5''**); 136.6 (**C5'**); 136.6 (**C6b**); 148.5 (**C3'**); 148.7 (**C3''**); 148.9 (**C4b**); 150.1 (**C2b**); 158.1 (**C1''**); 161.3 (**C1'**); 167.3 (**C4**); 171.1, 172.1 (**C=O**)

5.3.1.5 4'-Hydroxy-1'-pyridin-2-ylmethyl-1',2',5',6'-tetrahydro-[4,2';6',4'']terpyridin-3',5'-dicarbonsäuredimethylester (**4e**)



Synthesestrategie:	3-C	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5$	Ausbeute:	5.9 g (64 %)
M_r :	460.5 g/mol	Aussehen:	hellgelbes Pulver
M_p :	188 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2950; 1734; 1660; 1633; 1597; 1438; 1411; 1371; 1256; 1120; 1077; 993; 811; 718

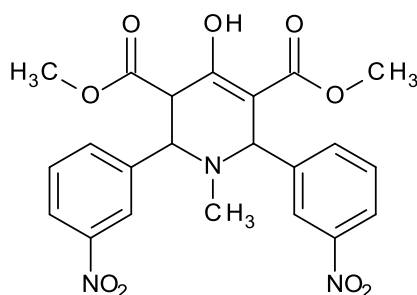
^1H -NMR (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

3.40 (s, 2H, N-**CH**₂-Ar); 3.61 (s, 3H, COO**CH**₃); 3.73 (s, 3H, COO**CH**₃); 4.00 (d, 1H, $^3J = 9.9$, **H5**); 4.36 (d, 1H, $^3J = 9.9$, **H6**); 4.55 (s, 1H, **H2**); 7.22 (t, 4H, $J = 6.06$ **H2'**/**H6'** und **H2''**/**H6''**); 7.28 (dd, 1H, $^3J = 4.8$, $^3J = 7.8$, **H5b**); 7.50 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H6b**); 8.44 (d, 1H, $^4J = 1.5$, **H2b**); 8.55 (dd, 1H, $^3J = 4.8$, $^4J = 1.5$, **H4b**); 8.60 (d, 4H, **H3'**/**H5'** und **H3''**/**H5''**); 12.53 (s, 1H, **OH**)

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

45.4 (**C5**); 48.6 (N-**CH**₂-Ar); 52.3, 53.2 (**COOCH**₃); 57.5 (**C6**); 57.7 (**C2**); 97.3 (**C3**); 123.0 (**C2''/ C6''**); 123.8 (**C5b**); 123.8 (**C2'/ C6'**); 133.6 (**C1b**); 136.5 (**C6b**); 146.7 (**C1'**); 149.5 (**C4b**); 150.0 (**C3'/ C5'**); 150.2 (**C2b**); 150.4 (**C1'**); 150.5 (**C3'/ C5'**); 167.4 (**C4**); 170.0, 171.4 (**C=O**)

5.3.1.6 Synthese von 4-Hydroxy-1-methyl-2,6-bis-(3-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4f)



Synthesestrategie: **2**

Ansatzgröße: 20 mmol

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_9$

Ausbeute: 2.5 g (27 %)

M_r : 471.4 g/mol

Aussehen: gelbes Pulver

M_p : 198 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2959; 1742; 1730; 1655; 1627; 1538; 1523; 1448; 1349; 1255; 1156; 1075; 837, 728; 685

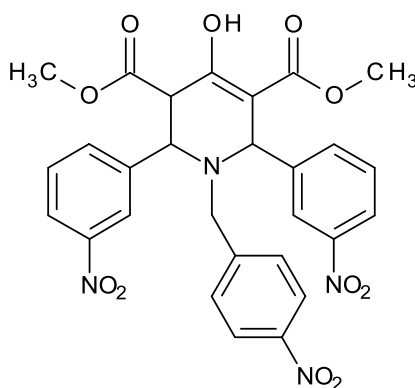
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

2.11 (s, 3H, N-**CH**₃); 3.66 (s, 3H, **COOCH**₃); 3.78 (s, 3H, **COOCH**₃); 3.92 (d, 1H, $^3J = 9.0$, **H5**); 4.29 (d, 1H, $^3J = 9.0$, **H6**); 4.75 (s, 1H, **H2**); 7.48 – 7.60 (m, 3H, **H5'/ H5''** und **H6''**); 7.69 (d, $J = 7.83$; **H6'**); 8.11 (d, 1H, **H2''**); 8.14 (d, 1H, **H4''**); 8.19 (d, 2H, **H4'**); 8.37 (d, 1H, **H2'**); 12.39 (s, 1H, **OH**)

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

38.0 (N-CH_3); 48.2 (**C5**); 52.3, 53.3 (COOCH_3); 59.8 (**C6**); 62.4 (**C2**); 99.0 (**C3**); 123.0 (**C4''/ C4'**); 123.3, 124.1 (**C2'/ C2''**); 129.3, 129.9 (**C5'/ C5''**); 134.3, 135.3 (**C6'/ C6''**); 140.5 (**C1''**); 142.9 (**C1'**); 148.5, 148.6 (**C3', C3''**); 166.6 (**C4**); 170.2, 171.1 (**C=O**)

5.3.1.7 Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-nitro-benzyl)-2,6-bis-(3-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4g)



Synthesestrategie: **3-A**

Ansatzgröße: 15 mmol

Summenformel: $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{11}$

Ausbeute: 7.5 g (84 %)

M_r : 592.5 g/mol

Aussehen: gelbes Pulver

M_p : 190 °

IR-Daten [cm^{-1}]: 3734; 2360; 1736; 1652; 1634; 1527; 1513; 1443; 1340; 1261; 1171; 1076; 840; 738; 681

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

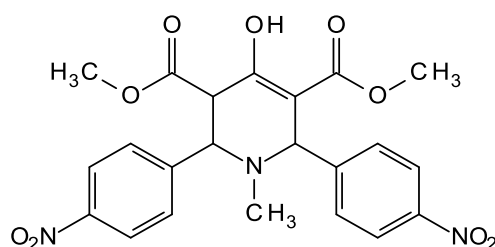
3.48 (d, 1H, $^2J = 14.2$, $\text{N-CH}_2\text{-Ar}$); 3.56 (d, 1H, $^2J = 14.2$, $\text{N-CH}_2\text{-Ar}$); 3.62 (s, 3H, COOCH_3); 3.81 (s, 3H, COOCH_3); 4.04 (d, 1H, $^3J = 9.3$, **H5**); 4.52 (d, 1H, $^3J = 9.3$, **H6**); 4.67 (s, 1H, **H2**); 7.40 (d, 2H, $J = 8.6$, **H2b/ 6b**); 7.55 – 7.61 (m, 2H, **H5'/ H5''**); 7.63 (d, 1H, $^3J = 7.83$, **H6''**); 7.69 (d, $^3J = 7.83$, **H6'**); 8.18 (d, 1H, $^3J = 7.83$, **H4''**); 8.20 (d, 2H,

$^3J = 7.83$, **H4'** und **H2''**); 8.22 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H3b/ 5b**); 8.24 (d, 1H, **H2'**); 12.52 (s, 1H, **OH**)

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

47.0 (**C5**); 51.0 (N-**CH**₂-Ar); 52.5, 53.5 (COO**C**H₃); 57.8 (**C6**); 58.6 (**C2**); 98.0 (**C3**); 122.9, 123.2 (**C4'/ C4''**); 123.7, 123.8 (**C2'/ C2''**); 124.2 (**C3b/ C5b**); 129.3 (**C2b/ C6b**); 129.7, 130.2 (**C5'/ C5''**); 134.3, 135.0 (**C6'/ C6''**); 139.7 (**C1''**); 143.2 (**C1'**); 145.5 (**C3''**); 147.9 (**C4b**); 148.6 (**C1b**); 148.7 (**C3'**); 167.1 (**C4**); 169.8, 171.1 (**C=O**)

5.3.1.8 Synthese von 4-Hydroxy-1-methyl-2,6-bis-(4-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4h)



Synthesestrategie:	2	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_9$	Ausbeute:	5.3 g (56 %)
M_r :	471.4 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	132 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3734; 2852; 2360; 1738; 1663; 1623; 1598; 1514; 1344; 1245; 1228; 1125, 1067; 1013; 854; 836; 752; 700

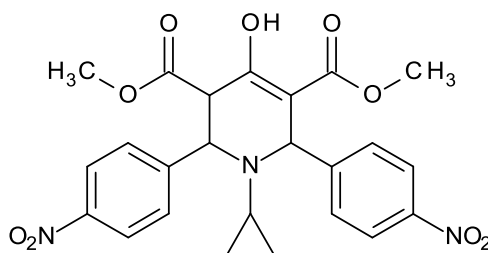
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

2.05 (s, 3H, N-**CH**₃); 3.59 (s, 3H, COO**C**H₃); 3.62 (s, 3H, COO**C**H₃); 4.13 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H5**); 4.25 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H6**); 4.82 (s, 1H, **H2**); 7.48 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H2''/ H6''**); 7.69 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H2'/ H6'**); 8.18 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H3''/ H5''**); 8.28 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H3'/ H5'**); 12.12 (s, 1H, **OH**)

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

37.9 (N-CH_3); 47.7 (**C5**); 52.3, 53.2 (COOCH_3); 59.8 (**C6**); 62.4 (**C2**); 98.8 (**C3**); 123.6 (**C3''/ C5''**), 124.0 (**C3'/ C5'**); 129.1 (**C2''/ C6''**); 130.1 (**C2'/ C6'**); 147.7 (**C4', C4''**); 147.9 (**C1''/ C1'**); 166.6 (**C4**); 170.2, 171.1 (**C=O**)

5.3.1.9 Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4i)



Synthesestrategie:	2	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_9$	Ausbeute:	4.6 g (46 %)
M_f :	497.5 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M_p :	213 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2952; 1745; 1649; 1614; 1596; 1510; 1442; 1341; 1254; 1228; 1164; 1066; 996; 838; 756

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

-0.14 – -0.37 (m, 4H, $\text{N-CH}(\underline{\text{H}}_2)_2$); 1.77 – 1.82 (m, 1H, $\text{N-CH}(\underline{\text{H}})(\text{CH}_2)_2$); 3.65 (s, 3H, COOCH_3); 3.68 (s, 3H, COOCH_3); 4.18 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H5**); 4.38 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H6**); 4.86 (s, 1H, **H2**); 7.33 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H2''/ H6''**); 7.56 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H2'/ H6'**); 8.13 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H3'/ H5'**); 8.24 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H3''/ H5''**); 12.46 (s, 1H, **OH**)

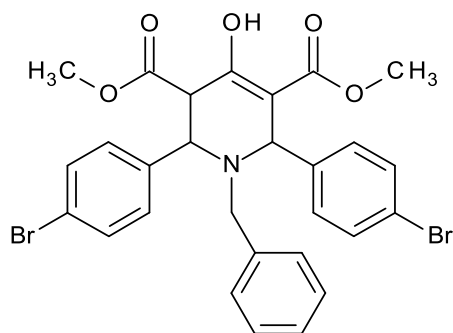
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm]):

8.5, 8.8 ($\text{N-CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 32.1 ($\text{N-CH}(\underline{\text{C}}\text{H})(\text{CH}_2)_2$); 46.8 (**C5**); 52.3, 53.1 (COOCH_3); 59.6 (**C6**); 62.1 (**C2**); 99.2 (**C3**); 123.4, 123.5 (**C2''/ C6''** und **C2'/ C6'**), 129.8, 129.9 (**C3''/ C5''**)

und C3'/C5'); 144.7 (C1''); 147.6, 147.7 (C4''/C4'); 148.8 (C1''); 167.2 (C4); 170.1, 171.3 (C=O)

5.3.1.10 4-Hydroxy-1-benzyl-2,6-bis-(4-bromphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (4j)

Substanz **4j** zersetzte sich bei der Umkristallisation aus Methanol.



Synthesestrategie:	2	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	C ₂₈ H ₂₅ Br ₂ NO ₅	Ausbeute:	4.3 g (47 %)
M _r :	615.3 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	172 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3076; 2985; 2360; 1727; 1650; 1626; 1589; 1567; 1467; 1437; 1298; 1251; 1223; 1150; 1126; 1062; 842; 786

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

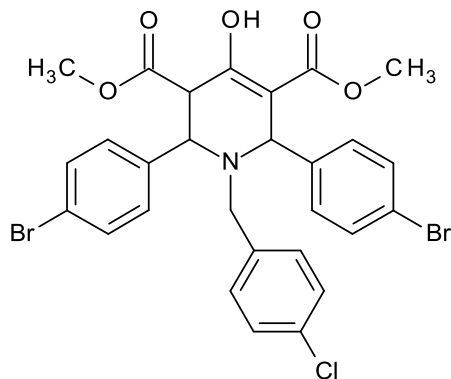
3.35 (dd, 2H, ²J = 13.2, CH₂-Aryl); 3.59 (s, 3H, COOCH₃); 3.70 (s, 3H, COOCH₃); 3.96 (d, 1H, ³J = 9.9, H5); 4.36 (d, 1H, ³J = 9.9, H6); 4.56 (s, 1H, H2); 7.15 – 7.20 (m, 6H, H2b/ 6b, H2''/ H6'', H2'/ H6'); 7.27 – 7.38 (m, 3H, H4b, H3b/ 5b); 7.44 (d, 2H, ³J = 8.5, H3''/ H5''); 7.46 (d, 2H, ³J = 8.4, H3'/ H5'); 12.48 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

46.3 (C5); 50.6 (CH₂-Aryl); 52.1, 52.9 (COOCH₃); 57.4 (C6); 57.5 (C2); 98.5 (C3); 121.4, 122.1 (C4'/ C4''); 127.5 (C4b); 128.6 (C2b/ C6b); 129.8 (C2''/ C6''); 130.0

(**C3b/ C5b**); 130.8 (**C2'/ C6'**); 131.3 (**C3''/ C5''**); 131.8 (**C3'/ C5'**); 137.3 (**C1''**); 138.8 (**C1'**); 140.9 (**C1b**); 167.3 (**C4**); 170.7, 172.0 (**C=O**)

5.3.1.11 4-Hydroxy-1-(4-chlorbenzyl)-2,6-bis-(4-bromphenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäuredimethylester (**4k**)



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	$C_{28}H_{24}Br_2ClNO_5$	Ausbeute:	8.3 g (85 %)
M_r :	649.8 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	188 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2951; 2835; 1741; 1661; 1629; 1483; 1440; 1353; 1270; 1240; 1218; 1164; 1092; 1007; 826; 808; 757

1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]):

3.31 (dd, 2H, $^2J = 13.5$, N-CH₂-Ar); 3.59 (s, 3H, COOCH₃); 3.70 (s, 3H, COOCH₃); 3.95 (d, 1H, $^3J = 9.8$, **H5**); 4.36 (d, 1H, $^3J = 9.8$, **H6**); 4.51 (s, 1H, **H2**); 7.12 (d, 2H, $^3J = 8.4$, **H3b/ 5b**); 7.15 (d, 2H, **H2''/ H6''**); 7.17 (d, 2H, **H2'/ H6'**); 7.29 (d, 2H, **H2b/ 6b**); 7.45 (d, 2H, **H3''/ H5''**); 7.46 (d, 2H, **H3'/ H5'**); 12.47 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm]):

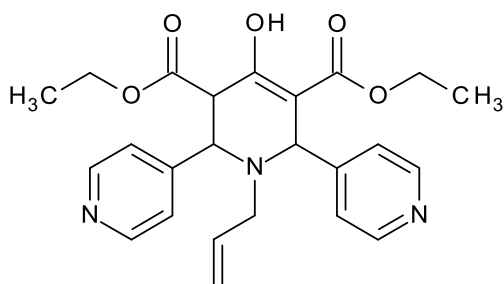
46.4 (**C5**); 50.0 (N-CH₂-Ar); 52.2, 53.0 (COOCH₃); 57.4 (**C6**); 57.6 (**C2**); 98.4 (**C3**); 121.5, 122.2 (**C4'/ C4''**); 128.8 (**C2b/ C6b**); 129.9 (**C2''/ C6''**); 130.1 (**C3b/ C5b**);

130.7 (C2'/ C6'); 131.4 (C3''/ C5''); 131.9 (C3'/ C5'); 133.2 (C4b); 137.2 (C1b); 137.4 (C1''); 140.5 (C1'); 167.2 (C4); 170.5, 171.8 (C=O)

5.3.2 Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester 5

Im Allgemeinen ließen sich die Ethylester nur sehr schwer kristallisieren, so dass die eingegangenen Mutterlaugen mehrmals mit verschiedenen Lösungsmitteln versetzt werden mussten, um nach mehr oder weniger langer Lagerung bei ca. 5 °C Kristalle zu erhalten. In vielen Fällen war es nicht möglich, aus der zähen, öligen Mutterlauge Substanz zu kristallisieren.

5.3.2.1 Synthese von 1-Allyl-4-hydroxy-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3',5'-dicarbonsäurediethylester (5a)



Synthesestrategie:	2	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₅	Ausbeute:	8.3 g (85 %)
M _r :	437.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	152 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 2978; 2366; 1734; 1649; 1627; 1597; 1469; 1411; 1372; 1304; 1253; 1218; 1176; 1065; 1018; 938; 838; 808

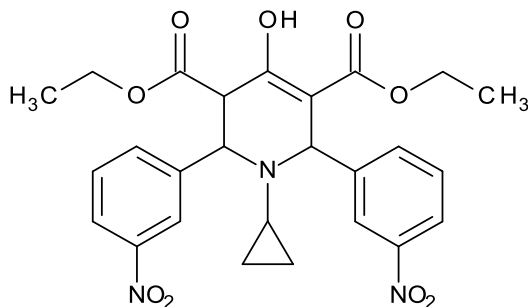
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

1.06 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.06 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 2.86 (d, 2H, $\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 3.86 (d, 1H, $^3J = 9.9$, H_5); 4.06 – 4.25 (m, 4H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 4.32 (d, 1H, $^3J = 9.9$, H_6); 4.77 (s, 1H, H_2); 5.14 – 5.20 (m, 2H, $\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.65 – 5.75 (m, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.19 (d, 2H, $^3J = 5.8$, $\text{H}_2''/\text{H}_6''$); 7.37 (d, 2H, $^3J = 6.1$, H_2'/H_6'); 8.54 (d, 2H, $^3J = 6.1$, H_3'/H_5'); 8.61 (d, 2H, $^3J = 5.8$, $\text{H}_3''/\text{H}_5''$); 12.52 (s, 1H, OH)

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

14.0, 14.1 (2x OCH_2CH_3); 46.0 (C_5); 50.1 ($\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 57.5 (C_6 und C_2); 61.3, 62.2 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 97.8 (C_3); 118.8 ($\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 123.1 (C_2'/C_6'); 124.1 ($\text{C}_2''/\text{C}_6''$); 135.6 ($\text{N-CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 147.3 (C_1''); 149.9 (C_3'/C_5'); 150.2 ($\text{C}_3''/\text{C}_5''$); 151.0 (C_1'); 167.5 (C_4); 169.9, 171.2 ($\text{C}=\text{O}$)

5.3.2.2 Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5b)



Synthesestrategie: **2**

Ansatzgröße: 20 mmol

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_9$

Ausbeute: 6.3 g (60 %)

M_r : 525.5 g/mol

Aussehen: gelbliches Pulver

M_p : 122 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 3648; 2989; 1731; 1652; 1623; 1525; 1348; 1250; 1181; 1016; 808; 734

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

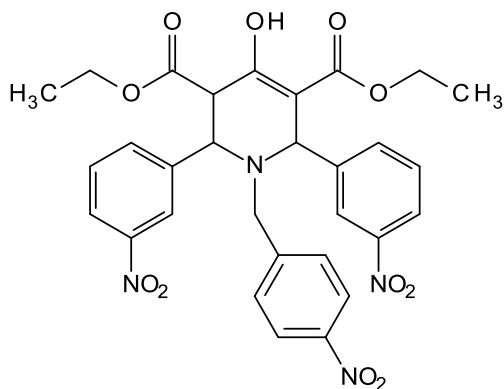
-0.02 - 0.07 (m, 2H, N-CH(CH₂)₂); 0.26 - 0.39 (m, 2H, N-CH(CH₂)₂); 1.03 (t, 3H, $^3J = 7.1$, COOCH₂CH₃); 1.19 (t, 3H, $^3J = 7.1$, COOCH₂CH₃); 1.74 (m, 1H, N-CH(CH₂)₂); 4.03 - 4.23 (m, 5H, COOCH₂CH₃ und H5); 4.47 (d, 1H, $^3J = 8.6$, H6); 4.84 (s, 1H, H2); 7.45-7.57 (m, 3H, H5'/ H5'', H6'); 7.76 (d, 1H, H6''); 8.13-8.19 (m, 3H, H4'/ H4'', H2'); 8.26 (s, 1H, H2''); 12.51 (s, 1H, OH)

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

8.2, 9.1 (N-CH(CH₂)₂); 14.0, 14.1 (2x OCH₂CH₃); 32.4 (N-CH(CH₂)₂); 48.0 (C5); 60.1 (C6); 61.2 (COOCH₂CH₃); 62.1 (C2); 62.2 (COOCH₂CH₃); 99.7 (C3); 122.7, 123.3 (C4''/ C4'); 123.6, 124.2 (C2'/ C2''); 129.1, 129.4 (C5'/ C5''); 139.6 (C6'/ C6''); 139.6 (C1''); 143.9 (C1'); 148.2, 148.3 (C3', C3''); 167.1 (C4); 169.5, 170.7 (C=O)

5.3.2.3 Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-chlorbenzyl)-2,6-bis-(4-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5c)

Bei der Synthese von Verbindung **5c** wurde ein Gemisch aus *trans*- und *cis*-Enol isoliert. Das Verhältnis beträgt ca. 3:1.



Synthesestrategie: **3-A**

Ansatzgröße: 15 mmol

Summenformel: $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_{11}$

Ausbeute: 4.8 g (52 %)

M_r : 620.6 g/mol

Aussehen: weiße Kristalle

M_p : 149-151 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2978; 1736; 1655; 1622; 1518; 1456; 1346; 1238; 1220; 1135; 1090; 1018; 831; 722

trans-Enol:

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

1.01 (t, 3H, $^3J = 7.1$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.26 (t, 3H, $^3J = 7.1$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 3.48 (d, 1H, $^2J = 14.1$, N- CH_2 -Aryl); 3.57 (d, 1H, $^2J = 14.1$, N- CH_2 -Aryl); 4.00 (d, 1H, $^3J = 9.0$, **H5**); 4.00 – 4.19 (m, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 4.25 (qd, 2H, $^3J = 7.1$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 4.51 (d, 1H, $^3J = 9.0$, **H6**); 4.65 (s, 1H, **H2**); 7.39 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H2b/ 6b**); 7.57 (d, 1H, $^3J = 7.9$, **H5''**); 7.58 (t, 1H, $^3J = 7.9$, **H5'**); 7.64 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H6''**); 7.73 (d, 1H, $^3J = 7.7$, **H6'**); 8.15 – 8.22 (m, 4H, **H4''/ H4'**, **H2'/ H2''**); 8.22 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H3b/ 5b**); 12.60 (s, 1H, **OH**)

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

14.1, 14.1 (2x OCH_2CH_3); 47.0 (**C5**); 51.1 (N- CH_2 -Aryl); 61.5, 62.6 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 58.0 (**C6**); 58.7 (**C2**); 98.2 (**C3**); 122.9, 123.1 (**C4''/ C4'**); 123.7, 123.9 (**C2''/ C2'**); 124.1 (**C3b/ C5b**); 129.4 (**C2b/ C6b**); 129.5 (**C5''**); 130.2 (**C5'**); 134.5 (**C6''**); 135.0 (**C6'**); 139.8 (**C1''**); 143.5 (**C1'**); 145.6 (**C3''**); 147.9 (**C4b**); 148.5 (**C1b**); 148.6 (**C3'**); 167.2 (**C4**); 169.4, 170.1 (**C=O**)

cis-Enol:

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

1.01 – 1.10 (t, 6H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 3.67 (d, 1H, $^2J = 15.5$, N- CH_2 -Aryl); 3.83 (d, 1H, $^2J = 15.5$, N- CH_2 -Aryl); ca. 4.08^{VI} (durch Multiplett der $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ -Gruppe verdeckt, 1H, **H5**); 4.05 – 4.18 (verdeckt, m, 4H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 4.46 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H6**); 4.78 (d, 1H, $^5J_{\text{H2,H5}} = 1.6$, **H2**); 6.85 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H2b/ 6b**); 7.34 (t, 1H, $^3J = 7.9$, **H5''**); 7.44 (t, 1H, $^3J = 7.9$, **H5'**); 7.56 – 7.60 (**H6''**, verdeckt), 7.69 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H6'**); 7.83 (d,

^{VI} durch HMQC-Spektrum gesichert

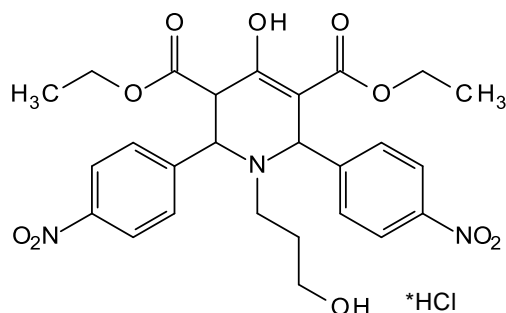
2H, $^3J = 8.7$, **H3b/ 5b**); 8.00 - 8.05 (m, 2H) und 8.07 – 8.12 (m, 2H) (**H4''/ H4'** und **H2''/ H2'**); 12.42 (s, 1H, **OH**)

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

13.9 (2x OCH_2CH_3); 54.1 (**C5**); 57.1 (N- CH_2 -Aryl); 61.5, 61.9 (2x $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 64.3 (**C2**); 65.8 (**C6**); 101.1 (**C3**); 122.7 (**C4''**); 123.2 (**C3b/ C5b**); 123.8 (**C4'**); 124.2, 124.6 (**C2''/ C2''**); 128.6 (**C2b/ C6b**); 129.2 (**C5'**); 129.6 (**C5'**); 135.2 (**C6''/ C6'**); 140.3 (**C1''**); 145.5 (**C1'**); 146.1 (**C3''**); 146.8 (**C4b**); 147.9 (**C1b**); 148.2 (**C3'**); 166.2 (**C4**); 167.9, 170.0 (**C=O**)

5.3.2.4 Synthese von 1-(3-Hydroxypropyl)-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5d)

Die Verbindung 5c wurde als Hydrochlorid isoliert, da die freie Base in verschiedenen Lösungsmitteln nicht auskristallisierte.



Synthesestrategie:	3-D	Ansatzgröße:	15 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_{10} \cdot \text{HCl}$	Ausbeute:	3.6 g (41 %)
M_r :	580.0 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M_p :	152 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 3622; 2986; 1740; 1651; 1620; 1588; 1512; 1445; 1356; 1249; 1210; 1155; 1048; 1009; 921; 840; 801

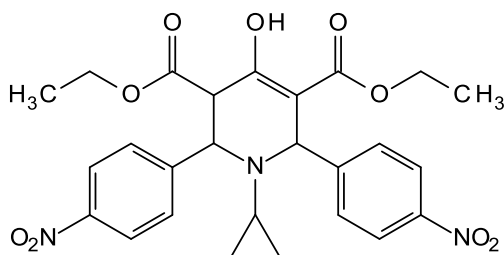
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

1.00 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.09 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.48 (quin, 2H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 2.29 - 2.36 (quin, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 2.39 - 2.45 (quin, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 3.08 - 3.12 (sex, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 3.21 - 3.27 (sex, 1H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 4.02 - 4.19 (m, 4H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 4.25 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H5**); 4.30 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H6**); 4.89 (s, 1H, **H2**); 6.25 (br, 3H, $\text{R}_3\text{N}^+\text{-H}$); 7.48 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H2''/ H6''**); 7.68 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H2'/ H6'**); 8.18 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H3''/ H5''**); 8.29 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H3'/ H5'**); 12.31 (s, 1H, **OH**)

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

13.7, 13.8 (2x OCH_2CH_3); 31.3 ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 43.6 ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 45.3 (**C5**); 58.1 (**C6**); 58.5 ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH}$); 58.5 (**C2**); 60.9, 61.4 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 97.9 (**C3**); 123.3, 123.4 (**C3''/ C5''**, **C3'/ C5'**); 129.5 (**C2''/ C6''**); 129.9 (**C2'/ C6'**); 146.8 (**C1''**, **C1'**); 147.0 (**C4'**, **C4''**); 166.8 (**C4**); 169.6, 170.3 (**C=O**)

5.3.2.5 Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5e)



Synthesestrategie: **2**

Ansatzgröße: 20 mmol

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_9$

Ausbeute: 3.2 g (30 %)

M_r : 525.5 g/mol

Aussehen: hellgelbes Pulver

M_p : 158 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2996; 1740; 1644; 1603; 1515; 1342; 1248; 1227; 1155; 1012; 839; 754; 696

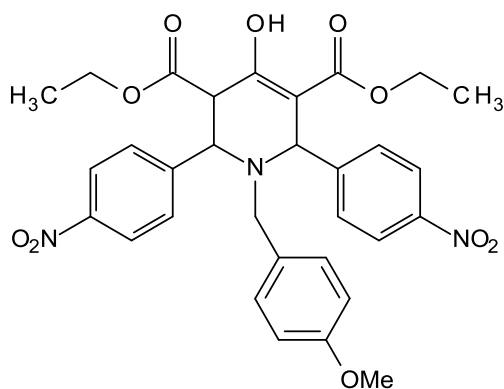
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

-0.09 - -0.05 (m, 1H, N-CH(CH₂)₂); -0.04 – 0.12 (m, 1H, N-CH(CH₂)₂); 0.27 – 0.36 (m, 2H, N-CH(CH₂)₂); 1.03 (t, 3H, COOCH₂CH₃); 1.18 (t, 3H, COOCH₂CH₃); 1.77 (quin, 1H, N-CH(CH₂)₂); 4.03 – 4.19 (m, 4H, COOCH₂CH₃); 4.15 (d, 1H, $^3J = 8.8$, H5); 4.43 (d, 1H, $^3J = 8.8$, H6); 4.80 (s, 1H, H2); 7.36 (d, 2H, $^3J = 8.8$, H2''/H6''); 7.57 (d, 2H, $^3J = 8.6$, H2'/H6'); 8.14 (d, 2H, $^3J = 8.8$, H3''/H5''); 8.22 (d, 2H, $^3J = 8.6$, H3'/H5'); 12.51 (s, 1H, OH)

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

8.4, 9.0 (N-CH(CH₂)₂); 14.0, 14.2 (2x OCH₂CH₃); 32.4 (N-CH(CH₂)₂); 47.5 (C5); 60.1 (C6); 61.3, 62.1 (COOCH₂CH₃); 62.1 (C2); 99.7 (C3); 123.3, 123.4 (C3''/C5'', C3'/C5'); 129.8 (C2''/C6''); 130.0 (C2'/C6'); 144.8 (C1''); 147.5, 147.7 (C4', C4''); 149.3 (C1'); 167.2 (C4); 169.6, 170.8 (C=O)

5.3.2.6 Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-methoxy-benzyl)-2,6-bis-(4-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5f)



Synthesestrategie: **2**

Ansatzgröße: 15 mmol

Summenformel: $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_{10}$

Ausbeute: 3.2 g (36 %)

M_r : 605.6 g/mol

Aussehen: gelbes Pulver

M_p : 169 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 3649; 2960; 1731; 1653; 1609; 1511; 1441; 1375; 1345; 1320; 1235; 1213; 1176; 1157; 1097; 1036; 825; 739

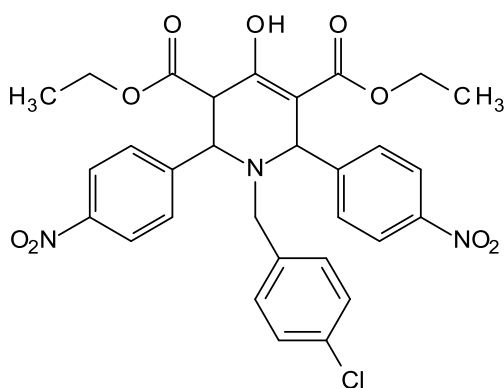
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

1.03 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.09 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 3.44 (d, 1H, $^2J = 14.6$, N- CH_2 -Aryl); 3.60 (d, 1H, $^2J = 14.6$, N- CH_2 -Aryl); 3.71 (s, 3H, OCH_3); 3.90 (dd, 1H, $^3J = 9.6$, $^5J_{\text{H2/H5}} = 1.8$, **H5**); 3.96 – 4.09 (m, 4H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 4.44 (d, 1H, $^3J = 9.6$, **H6**); 4.84 (s, 1H, $^5J_{\text{H2/H5}} = 1.8$, **H2**); 6.62 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H3b/ 5b**); 6.70 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H2b/ 6b**); 7.45 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H2''/ H6''**); 7.50 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H2'/ H6'**); 8.08 (d, 4H, $^3J = 8.8$, **H3''/ H5''**, **H3'/ H5'**); 12.38 (s, 1H, **OH**)

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

14.0, 14.1 (2x OCH_2CH_3); 54.7 (**C5**); 55.4 (OCH_3); 55.6 (N- CH_2 -Aryl); 61.3, 61.4 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 61.7 (**C2**); 64.6 (**C6**); 101.2 (**C3**); 113.7 (**C3b/ C5b**); 123.1, 123.6 (**C3''/ C5''**, **C3'/ C5'**); 128.9 (**C1b**); 129.8 (**C2''/ C6''**); 130.1 (**C2'/ C6'**); 130.2 (**C2b/ C6b**); 146.7, 147.0 (**C4'**, **C4''**); 147.9 (**C1''**); 151.7 (**C1'**); 159.1 (**C4b**); 166.0 (**C4**); 169.1, 170.1 (**C=O**)

5.3.2.7 Synthese von 4-Hydroxy-1-(4-chlorbenzyl)-2,6-bis-(4-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäurediethylester (5g)



Synthesestrategie: **3-B**

Ansatzgröße: 15 mmol

Summenformel: $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_9$

Ausbeute: 6.5 g (71 %)

M_r : 610.0 g/mol

Aussehen: gelbe Kristalle

M_p : 192 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2986; 1741; 1729; 1654; 1623; 1514; 1488; 1344; 1241; 1092; 1063; 1014; 840; 701

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

1.05 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 1.10 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 3.50 (d, 1H, $^2J = 15.4$, N- CH_2 -Aryl); 3.65 (d, 1H, $^2J = 15.4$, N- CH_2 -Aryl); 3.95 (dd, 1H, $^3J = 9.9$, $^5J_{\text{H}_2/\text{H}_5} = 1.5$, **H5**); 3.98 – 4.11 (m, 4H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 4.47 (d, 1H, $^3J = 9.9$, **H6**); 4.82 (d, 1H, $^5J_{\text{H}_2/\text{H}_5} = 1.5$, **H2**); 6.72 (d, 2H, $^3J = 8.3$, **H3b/ 5b**); 7.06 (d, 2H, $^3J = 8.3$, **H2b/ 6b**); 7.47 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H2''/ H6''**); 7.50 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H2'/ H6'**); 8.10 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H3''/ H5''**); 8.12 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H3'/ H5'**); 12.41 (s, 1H, **OH**)

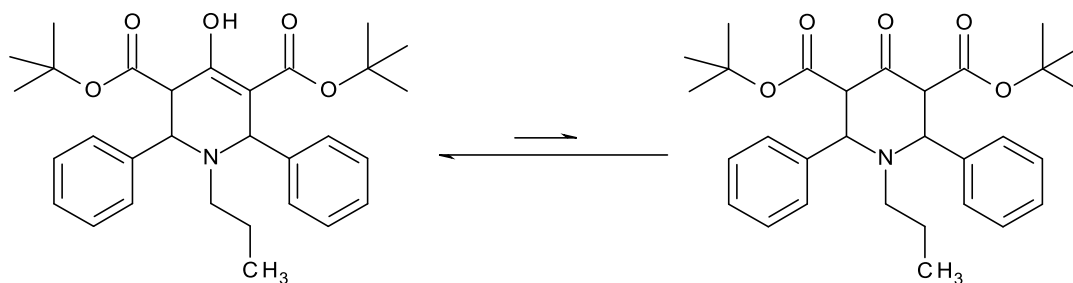
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm]):

14.0, 14.0 (2x OCH_2CH_3); 54.6 (**C5**); 55.8 (N- CH_2 -Aryl); 61.4, 61.8 ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$); 62.1 (**C2**); 64.9 (**C6**); 101.1 (**C3**); 123.2, 123.7 (**C3''/ C5''**, **C3'/ C5'**); 128.3 (**C2b/ C6b**); 129.9 (**C2''/ C6''**); 130.0 (**C2'/ C6'**); 130.1 (**C3b/ C5b**); 133.2 (**C4b**); 135.9 (**C1b**); 146.2 (**C1''**); 147.1 (**C4'**); 147.9 (**C4''**); 151.3 (**C1'**); 166.0 (**C4**); 167.9, 170.0 (**C=O**)

5.3.3 Synthese der 2,6-Diaryl-4-hydroxytetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-*tert*-butylester **6**

5.3.3.1 4-Hydroxy-2,6-diphenyl-1-propyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäure-di-*tert*-butylester (**6a**)

Die Verbindung **140** wurde als Gemisch der *cis*-Keton- und *trans*-Enolform erhalten. Dabei überwiegt das Enolisomer bei einem Keto-Enol-Verhältnis von 1:4.



Synthesestrategie: **3-A**

Ansatzgröße: 10 mmol

Summenformel: $C_{30}H_{39}NO_5$

Ausbeute: 1.6 g (32 %)

M_r : 493.7 g/mol

Aussehen: farblose Kristalle

M_p : 121-123 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2976; 1719; 1645; 1621; 1449; 1370; 1306; 1252; 1145; 1113; 1060; 1029; 831; 746; 697

trans-Enol:

1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]):

0.72 (t, 3H, $N(CH_2)_2CH_3$); 1.30 (s, 9H, $COOC(CH_3)_3$); 1.45 (s, 9H, $COOC(CH_3)_3$); 1.47 – 1.50 (q, 2H, $NCH_2CH_2CH_3$); 2.16 – 2.23 (m, 1H, $NCH_2C_2H_5$); 2.30 – 2.37 (m, 1H, $NCH_2C_2H_5$); 3.82 (d, 1H, $^3J = 10.4$, **H5**); 4.38 (d, 1H, $^3J = 10.4$, **H6**); 4.73 (s, 1H, **H2**); 7.20-7.50 (m, 10H, **H_{benzyl}**); 12.58 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm]):

11.7 ($N(CH_2)_2CH_3$); 21.7 ($NCH_2CH_2CH_3$); 27.9, 28.1 ($COOC(CH_3)_3$); 47.9 ($NCH_2C_2H_5$); 48.1 (**C5**); 58.4 (**C6**); 59.2 (**C2**); 81.8, 81.9 ($COOC(CH_3)_3$); 100.0 (**C3**); 127.4 (**C4'**/**C4''**); 127.7 (**C2''**/**C6''**); 128.0 (**C2'**/**C6'**); 128.6 (**C3''**/**C5''**); 129.3 (**C3'**/**C5'**); 139.3 (**C1''**); 142.6 (**C1'**); 167.6 (**C4**); 169.9, 171.7 (**C=O**)

cis-Keton:

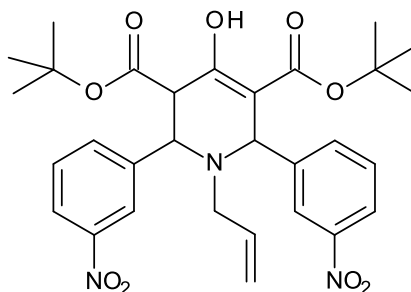
1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]):

0.31 (t, 3H, $N(CH_2)_2CH_3$); 1.23 – 1.25 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_3$); 1.25 (s, 9H, $COOC(CH_3)_3$); 2.16 – 2.21 (m, 2H, $NCH_2C_2H_5$); 3.75 (d, 1H, $^3J = 10.9$, **H3**/**H5**); 4.30 (d, 2H, $^3J = 10.9$, **H2**/**H6**); 7.20-7.50 (m, 10H, **H_{benzyl}**)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ [ppm]):

11.4 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$); 14.3 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 27.8 ($\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 50.4 ($\text{NCH}_2\text{C}_2\text{H}_5$); 65.5 (**C3/ C5**); 66.9 (**C2/ C6**); 81.8 ($\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 126.8 (**C4'**); 128.2 (**C2'/ C6'**); 128.5 (**C3'/ C5'**); 139.7 (**C1'**); 166.3 (2x $\text{C}=\text{O}$); 198.6 (**C4**)

5.3.3.2 Synthese von 1-Allyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester (6b)



Synthesestrategie:	2	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	$\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_9$	Ausbeute:	2.3 g (20 %)
M_r :	581.6 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	132 °C		

IR-Daten [cm^{-1}]: 2955; 1728; 1665; 1623; 1520; 1445; 1372; 1336; 1254; 1145; 1076; 1030; 832; 744; 690

^1H -NMR (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

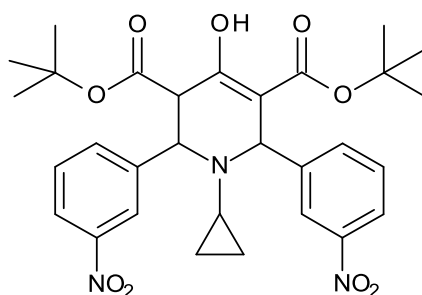
1.29 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 1.43 (s, 9H, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 2.84 – 2.94 (m, 1H, $\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 3.82 (dd, 1H, $^3J = 9.8$, $^3J = 0.7$, **H5**); 4.40 (d, 1H, $^3J = 9.8$, **H6**); 4.81 (s, 1H, **H2**); 5.16 – 5.23 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.69 – 5.79 (m, 1H, $\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.49 (t, 1H, **H5''**); 7.56 (t, 1H, **H5'**); 7.60 (d, 1H, **H6'**); 7.85 (d, 1H, **H6''**); 8.13 (d, 1H, **H4''**); 8.14 (d, 1H, **H4'**); 8.23 (s, 1H, **H2'/ H2''**); 8.31 (s, 1H, **H2'/ H2''**); 12.66 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ [ppm]):

27.9, 28.1 ($\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 47.4 (**C5**); 50.2 ($\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 57.7 (**C6**); 58.2 (**C2**); 83.0, 83.2 ($\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$); 98.8 (**C3**); 118.9 ($\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 122.5 (**C2'**); 122.6 (**C2''**);

123.1 (C4'); 124.1 (C4''); 129.2 (C5'); 129.6 (C5''); 134.9 (C6'); 134.9 (C6''); 135.7 (NCH₂CH=CH₂); 140.1 (C1'); 144.9 (C1''); 148.4 (C3'/ C3''); 167.6 (C4); 169.2, 170.9 (C=O)

5.3.3.3 Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäuredi-tert-butylester (6c)



Synthesestrategie:	2	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	C ₃₀ H ₃₅ N ₃ O ₉	Ausbeute:	3.7 g (32 %)
M _r :	581.6 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M _p :	179 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3648; 2945; 1725; 1671; 1653; 1624; 1523; 1456; 1368; 1348; 1336; 1269; 1253; 1144; 1084; 1032; 831; 686

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

-0.25 (m, 1H, NCH(CH₂)₂); -0.15 (m, 1H, NCH(CH₂)₂); 0.11 (m, 2H, NCH(CH₂)₂); 1.04 (s, 9H, COOC(CH₃)₃); 1.15 (s, 9H, COOC(CH₃)₃); 1.54 (m, 1H, NCH(CH₂)₂); 3.76 (d, 1H, ³J = 8.8, H5); 4.19 (d, 1H, ³J = 8.8, H6); 4.52 (s, 1H, H2); 7.24-7.34 (m, 3H, H5'/H5'', H6'); 7.57 (d, 1H, H6''); 7.92-8.01 (m, 4H, H4'/H4'', H2'/H2''); 12.43 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

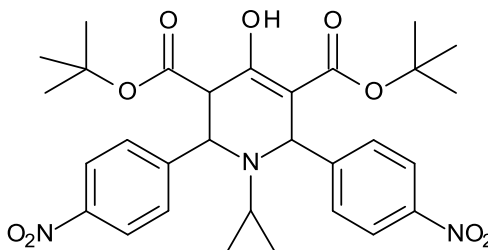
8.2 (NCH(CH₂)₂); 8.9 (NCH(CH₂)₂); 27.9, 28.1 (COOC(CH₃)₃); 32.3 (NCH(CH₂)₂); 48.7 (C5); 60.2 (C6); 62.5 (C2); 82.8, 82.9 (COOC(CH₃)₃); 100.4 (C3); 122.5 (C4'); 123.1

(**C4''**); 123.5 (**C2'**); 124.2 (**C2''**); 129.1 (**C5'**); 129.2 (**C5''**); 135.0 (**C6'**); 135.5 (**C6''**); 140.0 (**C1'**); 144.6 (**C1''**); 148.1 (**C3'**); 148.2 (**C3''**); 167.2 (**C4**); 168.9, 170.5 (**C=O**)

5.3.3.4 Synthese von 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(4-nitro-phenyl)-1,2,3,6-tetrahydro-pyridin-3,5-dicarbonsäure-di-tert-butylester (**6d**)

Bei Verbindung **6d** erhält man im NMR-Spektrum einen doppelten enolischen Signalsatz (*cis-trans*-Enol), sowie einen halben Signalsatz für das *cis*-Keton. Die Menge des Ketons nahm bei weiteren Messungen ab. Dafür entstand umso mehr *cis*-Enol. Die 2. Messung wurde 2 d nach der 1. vorgenommen.

(Verhältnis *trans*-Enol : *cis*-Enol : *cis*-Keton = 1 : 0.67 : 0.24 [1. Messung] → 1 : 0.72 : 0.1 [2. Messung])



Synthesestrategie:	3-A	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	C ₃₀ H ₃₅ N ₃ O ₉	Ausbeute:	3.7 g (64 %)
M _r :	581.6 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	201-204 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 3552; 2967; 1739; 1661; 1630; 1526; 1452; 1411; 1362; 1332; 1248; 1203; 1150; 1119; 1065; 1034; 840; 828; 752; 715; 693

trans-Enol:

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

-0.20 – 0.12 (m, 2H, NCH(**CH**₂)₂); 0.25 – 0.36 (m, 2H, NCH(**CH**₂)₂); 1.25 (s, 9H, COOC(**CH**₃)₃); 1.35 (s, 9H, COOC(**CH**₃)₃); 1.73 (m, 1H, N**CH**(CH₂)₂); 3.96 (d, 1H, ³J =

9.0, **H5**); 4.37 (d, 1H, $^3J = 9.0$, **H6**); 4.70 (s, 1H, **H2**); 7.37 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H2''/H6''**); 7.57 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H2'/H6'**); 8.14 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H3''/H5''**); 8.22 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H3'/H5'**); 12.62 (s, 1H, **OH**)

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

8.3 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 9.3 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 28.0, 28.1 ($\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 32.6 ($\text{NCH}(\text{CH}_2)_2$); 48.7 (**C5**); 60.4, 62.5 (**C6/C2**); 82.9, 83.1 ($\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 100.4 (**C3**); 123.2 (**C3''/ C5''**); 123.3 (**C3'/ C5'**); 130.0 (**C2''/ C6''**); 130.1 (**C2'/ C6'**); 145.1, 147.7, 149.6, 151.6 (**C1'/ C1'', C4'/C4''**); 167.1 (**C4**); 168.8, 170.6 (**C=O**)

cis-Enol:

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

-0.20 – 0.12 (m, 2H, $\text{NCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 0.25 – 0.36 (m, 2H, $\text{NCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 1.23 (s, 9H, $\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 1.29 (s, 9H, $\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 2.01 (m, 1H, $\text{NCH}(\text{CH}_2)_2$); 3.85 (dd, 1H, $^3J = 7.5$, $^5J = 1.3$, **H5**); 4.45 (d, 1H, $^3J = 7.5$, **H6**); 4.76 (d, 1H, $^5J = 1.3$, **H2**); 7.27 (d, 2H, $^3J = 8.6$, **H2''/H6''**); 7.42 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H2'/H6'**); 7.99 (d, 2H, $^3J = 8.8$, **H3''/H5''**); 8.07 (d, 2H, $^3J = 8.7$, **H3'/H5'**); 12.62 (s, 1H, **OH**)

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

8.1 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 9.2 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 27.8, 27.9 ($\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 37.9 ($\text{NCH}(\text{CH}_2)_2$); 52.2 (**C5**); 64.2, 65.5 (**C6/C2**); 82.7, 83.3 ($\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 101.7 (**C3**); 123.2 (**C3''/ C5''**); 123.3 (**C3'/ C5'**); 130.0 (**C2''/ C6''**); 130.1 (**C2'/ C6'**); 146.7, 147.4, 150.4, 151.7 (**C1'/ C1'', C4'/C4''**); 167.6 (**C4**); 167.7, 167.9 (**C=O**)

cis-Keton:

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

-0.20 – 0.36 (m (verdeckt), 4H, $\text{NCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$); 1.24 (s, 18H, $\text{COOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 1.85 (quin, 1H, $\text{NCH}(\text{CH}_2)_2$); 3.85 (d (verdeckt), 2H, **H3/H5**); 4.41 (d, 2H, $^3J = 11.2$, **H2/H6**); 7.61 (d, 4H, $^3J = 8.7$, **H2'/H6'**, **H2''/H6''**); 8.21 (d, 4H, $^3J = 8.8$, **H3''/H5''**, **H3'/H5'**)

Die Stärke der Signale des *cis*-Ketons im ^{13}C -Spektrum war so gering, dass es nicht komplett ausgewertet werden konnte. Nur die Signale für C3/C5 bei 62.9 ppm sowie für C2/C6 bei 70.4 ppm lassen sich schwach erkennen.

5.4 Synthese der 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-diaryl-piperidinmonoester 7

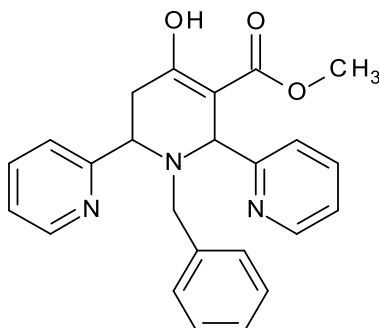
Allgemeine Synthesevorschrift (modifiziert nach^{114,122}):

10 bis 20 g (69 bis 138 mmol) Acetondicarbonsäure wird in eine auf ca. 0 °C gekühlte Mischung aus Acetanhydrid (25 ml) und konzentrierter Essigsäure (30 ml) suspendiert und 3 h bei unter 10 °C gerührt. Der entstandene beige Feststoff wird filtriert und mit Eisessig sowie Diethylether gewaschen. Nach Trocknung des Produktes wird es unter Argonatmosphäre bei ca. – 7 °C gelagert. (2,4,6-Trioxotetrahydropyran¹⁵⁹, Ausbeute: 75%)

10 bis 20 mmol 2,4,6-Trioxotetrahydropyran werden bei Raumtemperatur je nach gewünschter Veresterung mit dem entsprechenden wasserfreien Lösungsmittel (Methanol oder Ethanol abs.) versetzt und ca. 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt, um den Acetondicarbonsäuremonoester zu erhalten. Der Reaktionsansatz wird auf eine Temperatur von -20 bis -35 °C abgekühlt und 20 bis 40 mmol des entsprechenden Aldehyds sowie 10 bis 20 mmol der Aminkomponente simultan über einen Zeitraum von ca. 1 h langsam zugetropft. Bei Verwendung der Nitrobenzaldehyde werden diese vorher in 15 ml THF abs. gelöst. Alle anderen Komponenten werden in 10 bis 12 ml absolutierten MeOH oder EtOH in Lösung gebracht.

Nach dem Zutropfen rührt man für 2 weitere Stunden bei -10 bis -20 °C. Anschließend wird für 1 bis 2 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Die Lösung wird für mehrere Tage bei 5 °C bzw. -10 °C gelagert, bis ein Feststoff ausfällt. Dieser wird abfiltriert und mit MeOH gewaschen. Bildet sich kein Niederschlag wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das entstandene Öl mit verschiedenen Lösungsmitteln (Toluol, Cyclohexan, Diethylether) versetzt und bei 5 °C gelagert, um eine Kristallisation zu erreichen.

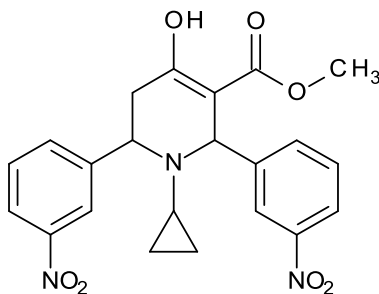
5.4.1 1'-Benzyl-4'-hydroxy-1',2',5',6'-tetrahydro-[2,2';6',2'']terpyridin-3'-carbonsäuremethylester (7a)



Kristallisation aus:	Methanol	Ansatzgröße:	10 mmol
Summenformel:	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₃	Ausbeute:	2.5 g (63 %) (Lit. 53%)
M _r :	401.5 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M _p :	165 °C (Lit. 163-164 °C) ¹²²		

Verbindung **7a** wurde als Gemisch aus *trans*-Keton und *trans*-Enol isoliert; das Keto-Enolverhältnis beträgt ca. 1:3. Die spektroskopischen Daten entsprechen den in der Literatur beschriebenen.^{122,114,128}

5.4.2 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester (7b)



Kristallisation aus:	Methanol	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₇	Ausbeute:	3.2 g (36 %)

M_r : 439.4 g/mol Aussehen: beiges Pulver

M_p : 183 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2979; 1730; 1663; 1626; 1603; 1521; 1458; 1393; 1340; 1287; 1246; 1149; 1109; 1057; 1031; 831; 760; 715

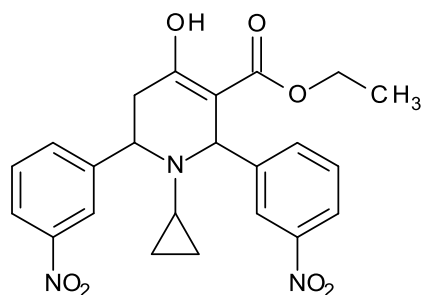
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]):

0.46 – 0.72 (m, 4H, $\text{NCH}(\underline{\text{H}}_2)_2$); 2.40 – 2.46 (m, 1H, $\text{NCH}(\underline{\text{H}}_2)_2$); 2.86 (dd, $^2J = 18.5$, $^3J = 4.0$, 1H, $\underline{\text{H}}_5^a$); 3.04 (dd, 1H, $^2J = 18.5$, $^3J = 5.9$, $\underline{\text{H}}_5^b$); 3.60 (t, 3H, OCH_3); 4.36 (dd, 1H, $^3J = 4.1$, $^3J = 5.8$, $\underline{\text{H}}_6$); 4.92 (s, 1H, $\underline{\text{H}}_2$); 7.28 (d, 1H, $\underline{\text{H}}_5'$); 7.37 (d, 1H, $\underline{\text{H}}_5''$); 7.53 – 7.57 (m, 2H, $\underline{\text{H}}_6'/\underline{\text{H}}_6''$); 7.71 – 7.78 (m, 4H, $\underline{\text{H}}_2'/\underline{\text{H}}_2''$ und $\underline{\text{H}}_4'/\underline{\text{H}}_4''$); 12.53 (s, 1H, OH)

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

8.9, 9.0 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}_2)_2$); 28.7 ($\underline{\text{C}}_5$); 38.7 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}_2)_2$); 51.7 (OCH_3); 59.6 ($\underline{\text{C}}_6$); 61.3 ($\underline{\text{C}}_2$); 98.0 ($\underline{\text{C}}_3$); 121.3 ($\underline{\text{C}}_6'$); 122.0 ($\underline{\text{C}}_6''$); 122.8 ($\underline{\text{C}}_4'$); 123.9 ($\underline{\text{C}}_4''$); 128.3 ($\underline{\text{C}}_5'$); 128.8 ($\underline{\text{C}}_5''$); 133.7 ($\underline{\text{C}}_2'$); 134.4 ($\underline{\text{C}}_2''$); 142.6 ($\underline{\text{C}}_3'$); 145.1 ($\underline{\text{C}}_3''$); 147.5 ($\underline{\text{C}}_1'$); 147.9 ($\underline{\text{C}}_1''$); 170.9 ($\underline{\text{C}}_4$); 171.3 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$)

5.4.3 1-Cyclopropyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäureethylester (7c)



Kristallisation aus: Methanol Ansatzgröße: 20 mmol

Summenformel: $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_7$ Ausbeute: 2.8 g (31 %)

M_r : 453.5 g/mol Aussehen: beiges Pulver

M_p : 176 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2984; 1722; 1665; 1650; 1607; 1519; 1455; 1345; 1276; 1248; 1148; 1103; 1069; 856; 754; 721

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

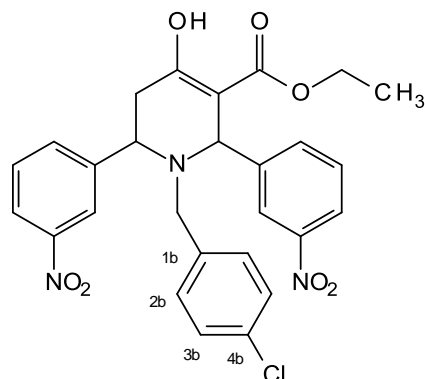
0.38 - 0.66 (m, 4H, $\text{NCH}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$); 1.02 (t, 3H, $\text{OCH}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$); 2.38 (quin, 1H, $\text{NCH}(\text{CH}_2)_2$); 2.90 (dd, 1H, $^2J = 18.4$, $^3J = 4.3$, $\underline{\text{H}}5^a$); 3.02 (dd, 1H, $^2J = 18.4$, $^3J = 5.8$, $\underline{\text{H}}5^b$); 4.05 (dq, 2H, OCH_2); 4.34 (t, 1H, $\underline{\text{H}}6$); 4.88 (s, 1H, $\underline{\text{H}}2$); 7.14 (t, 1H, $\underline{\text{H}}5'$); 7.20 (t, 1H, $\underline{\text{H}}5''$); 7.31 (d, 1H, $\underline{\text{H}}6'$); 7.40 (d, 1H, $\underline{\text{H}}6''$); 7.62 (s, 1H, $\underline{\text{H}}2'$); 7.77 (2x d, 2H, $\underline{\text{H}}4'/\underline{\text{H}}4''$); 7.81 (s, 1H, $\underline{\text{H}}2''$); 12.56 (s, 1H, $\underline{\text{O}}\underline{\text{H}}$)

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

8.8 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$); 9.1 ($\text{NCH}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$); 14.0 ($\text{OCH}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 29.2 ($\underline{\text{C}}5$); 38.7 ($\text{NCH}(\text{CH}_2)_2$); 59.7 ($\underline{\text{C}}6$); 60.9 (OCH_2CH_3); 61.5 ($\underline{\text{C}}2$); 98.3 ($\underline{\text{C}}3$); 121.1 ($\underline{\text{C}}6'$); 122.1 ($\underline{\text{C}}6''$); 122.9 ($\underline{\text{C}}4'$); 123.9 ($\underline{\text{C}}4''$); 128.1 ($\underline{\text{C}}5'$); 128.8 ($\underline{\text{C}}5''$); 133.7 ($\underline{\text{C}}2'$); 134.4 ($\underline{\text{C}}2''$); 143.0 ($\underline{\text{C}}3'$); 145.7 ($\underline{\text{C}}3''$); 147.5 ($\underline{\text{C}}1'$); 147.9 ($\underline{\text{C}}1''$); 170.7 ($\underline{\text{C}}4$); 170.9 ($\underline{\text{C}}=\underline{\text{O}}$)

5.4.4 1-Chlorbenzyl-4-hydroxy-2,6-bis-(3-nitro-phenyl)-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäureethylester (7d)

Bei dem nach der oben beschriebenen Synthesestrategie erhaltenen, gelben Feststoff handelte es sich nicht um das gewünschte Produkt, sondern um die Ausgangssubstanz 3-Nitrobenzaldehyd. Deshalb wird mit dem nach der Filtration erhaltenen Filtrat weitergearbeitet. Das Filtrat wird solange mit eiskaltem Wasser versetzt, bis ein weißer Feststoff ausfällt. Dieser wird filtriert und mit kaltem Diethylether gewaschen. Man erhält Verbindung **7d** in geringer Ausbeute.



Kristallisation aus: Ethanol Ansatzgröße: 15 mmol
 Summenformel: $C_{27}H_{24}ClN_3O_7$ Ausbeute: 0.9 g (11 %)
 M_r : 538.0 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 174 °C

IR-Daten [cm^{-1}]: 2964; 1738; 1660; 1645; 1608; 1520; 1461; 1422; 1341; 1269; 1239;
 1151; 1110; 1052; 858; 821; 763; 731

1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]):

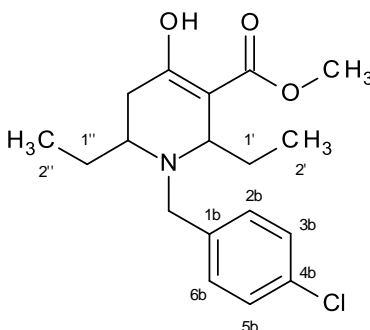
0.96 (t, 3H, $^3J = 7.1$, OCH_2CH_3); 2.75 (dd, 1H, $^2J = 18.0$, $^3J = 4.9$, **H5^a** [eq]); 2.93 (dd, 1H, $^2J = 18.0$, $^3J = 11.8$, **H5^b** [axial]); 3.36 (s, 2H, CH_2 -Aryl); 3.92 – 4.34 (m, 3H, OCH_2 und **H6**); 4.66 (s, 1H, **H2**); 7.20 – 7.32 (m, 4H, **H3b/5b** und **H2b/6b**); 7.32 – 7.63 (m, 4H, **H5'/H5''** und **H6'/H6''**); 8.04 – 8.10 (m, 2H, **H4'/H4''**); 8.21 (s, 1H, **H2''**); 8.23 (s, 1H, **H2'**); 12.61 (s, 1H, **OH**)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm]):

14.2 (**CH₃**), 28.1 (**C5**); 49.7 (**CH₂-Aryl**); 53.0 (**OCH₂**); 57.5 (**C6**); 61.0 (**C2**); 96.2 (**C3**); 122.1 (**C4'**); 122.6 (**C4''**); 123.0 (**C2'**); 123.2 (**C2''**); 128.9 (**C2b**); 129.5 (**C3b**); 129.8 (**C5'**); 130.4 (**C5''**); 133.2 (**C4b**); 133.6, 133.7 (**C6'/C6''**); 137.8 (**C1b**); 142.3 (**C1'**); 145.0 (**C1''**); 148.4 (**C3'**); 148.6 (**C3''**); 169.1 (**C4**); 171.7 (**C=O**)

5.5 Synthese der 4-Hydroxytetrahydropyridin-2,6-dialkyl-piperidin-3-monocarbonsäureester **8**

5.5.1 Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester **8a**



Kristallisation aus:	Methanol	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	C ₁₈ H ₂₄ ClNO ₃	Ausbeute:	0.85 g (13 %)
M _r :	337.9 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M _p :	129 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 2958; 1645; 1606; 1489; 1438; 1348; 1314; 1262; 1213; 1194; 1049; 1015; 851; 830; 808; 764

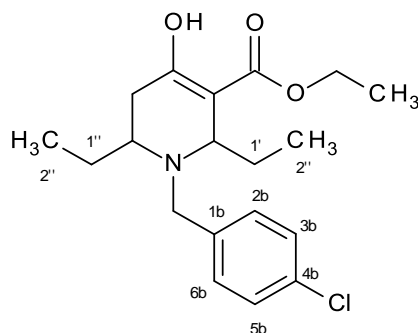
¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

0.81 (t, 3H, **H2''**); 1.05 (t, 3H, **H2'**); 1.35 – 1.67 (m, 4H, **H1''/H1'**); 2.10 (dd, 1H, ²J = 18.4, ³J = 5.1, **H5^a** [eq]); 2.20 (dd, 1H, ²J = 18.4, ³J = 11.6, **H5^b** [axial]); 3.10 (m, 2H, **H2/H6**); 3.14 (d, 1H, ²J = 13.9, **CH₂-Aryl**); 3.72 (d, 1H, ²J = 13.9, **CH₂-Aryl**); 3.69 (s, 3H, COO**H₃**); 7.25 – 7.31 (dd, 4H, ³J = 8.6, **H3b/5b, H2b/6b**); 12.21 (s, 1H, **OH**)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

11.2 (**C2'**); 11.6 (**C2''**); 26.0 (**C1'**); 26.8 (**C1''**); 30.1 (**C5**); 48.3 (**CH₂-Aryl**); 51.4 (**C6**); 51.5 (**C2**); 56.8 (COO**CH₃**); 100.0 (**C3**); 128.3 (**C2b/C6b**); 130.3 (**C3b/C5b**); 132.3 (**C4b**); 139.2 (**C1b**); 171.0 (**C4**); 173.0 (**C=O**)

5.5.2 Synthese von 1-(4-Chlorbenzyl)-2,6-diethyl-4-hydroxy-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3-carbonsäuremethylester 8b



Kristallisation aus:	Methanol	Ansatzgröße:	20 mmol
Summenformel:	C ₁₉ H ₂₆ ClNO ₃	Ausbeute:	0.6 g (8 %)
M _r :	351.9 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M _p :	138 °C		

IR-Daten [cm⁻¹]: 2955; 1650; 1612; 1493; 1445; 1411; 1346; 1309; 1279; 1215; 1189; 1045; 1018; 881; 852; 827; 764

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

0.78 (t, 3H, H2''); 1.01 (t, 3H, H2'); 1.17 (t, 3H, COOCH₂CH₃); 1.35 – 1.62 (m, 4H, H1''/H1'); 2.04 (dd, 1H, ²J = 17.4, ³J = 5.08, H5^a [eq]); 2.11 (dd, 1H, ²J = 17.4, ³J = 11.6, H5^b [axial]); 2.93 - 3.01 (m, 1H, H6); 3.12 (dd, 1H, ²J = 3.6, ³J = 10.4, H2); 3.04 (d, 1H, ²J = 13.6, CH₂-Aryl); 3.65 (d, 1H, ²J = 13.6, CH₂-Aryl); 3.92 – 4.07 (m, 2H, COOCH₂CH₃); 7.21 – 7.34 (m, 4H, H3b/5b, H2b/6b); 12.20 (s, 1H, OH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

11.2 (C2''); 11.7 (C2''); 26.2 (C1'); 27.0 (C1''); 27.4 (C5); 48.2 (CH₂-Aryl); 50.8 (C2); 57.5 (C6); 58.8 (COOCH₃); 93.1 (C3); 128.1, 128.2 (C2b/C6b); 129.1, 130.3 (C3b/C5b); 133.2 (C4b); 139.6 (C1b); 170.9 (C4); 172.2 (C=O)

5.6 Synthese der 4-Piperidinoxime 14 und 16

5.6.1 Synthese der 2,6-Dialkylpiperidinoximderivate 14

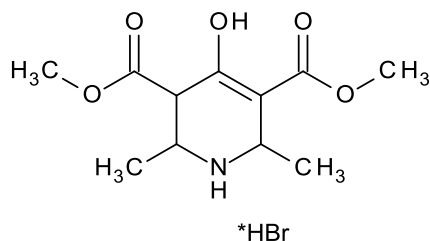
5.6.1.1 Synthese der Vorstufen 12 und 13

Vorschrift zur Synthese der 2,6-Dialkyl-4-oxo-3,5-dicarbonsäuredimethylester 12 (modifiziert nach^{119,160}):

2.24 g (15 mmol) Aceton-1,3-dicarbonsäuredimethylester und 30 mmol des aliphatischen Aldehyds werden in 10 ml Methanol gelöst. 1.48 g (30 mmol) Ammoniumbromid werden in einem Gemisch aus 5 ml MeOH und 5 ml dem. Wasser gelöst und bei Raumtemperatur über einem Zeitraum von 30 min dem Ansatz zugetropft. Man rührt 2 Tage bei Raumtemperatur und entfernt anschließend das Lösungsmittel im Vakuum fast vollständig. Die restliche Suspension wird mit ca. 5 ml Diethylether überschichtet und 6 h bei 5 °C gelagert. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit Chloroform und Diethylether gewaschen.

Die spektroskopischen Daten stimmen jeweils mit den in der Literatur angegebenen überein.¹⁶⁰

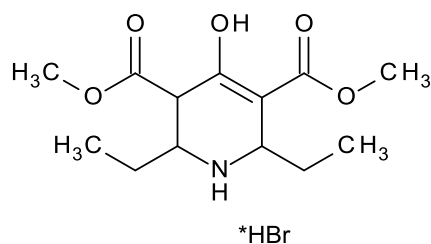
(2*R*,6*S*)-2,6-Dimethyl-3,5-dicarbonsäuredimethylester-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-hydrobromid 12a



Summenformel: $C_{11}H_{18}BrNO_5$ Ausbeute: 55 % (Lit: 62 %)¹⁶⁰

M_r : 324.2 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 175 °C (Lit. 178-182 °C Zers.)¹⁶⁰

(2*R*,6*S*)-2,6-Diethyl-3,5-dicarbon säuredimethylester-4-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydropyridin-hydrobromid 12b

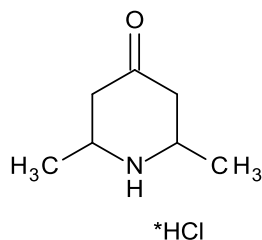


Summenformel: $C_{13}H_{22}BrNO_5$ Ausbeute: 42 % (Lit: 29 %)¹⁶⁰
 M_r : 352.2 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 147 °C (Lit. 146-150 °C Zers.)¹⁶⁰

Vorschrift zur Synthese der 2,6-Dialkylpiperidone 13 (nach¹⁶⁰):

Die Diesterderivate (40 bis 60 mmol) werden mit 100 ml HCl konz. versetzt und 12 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird die erhaltene Suspension filtriert, der gewonnene Feststoff im Exsikkator über KOH getrocknet und mit Aceton gewaschen.

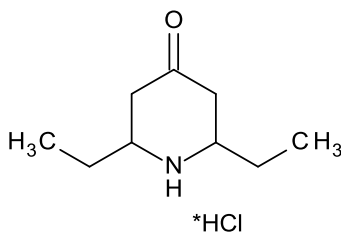
(2*R*,6*S*)-2,6-Dimethyl-4-oxo-piperidiniumchlorid 13a



Summenformel: $C_7H_{14}ClNO$ Ausbeute: 83 % (Lit: 95 %)¹⁶⁰
 M_r : 163.7 g/mol Aussehen: weißes Pulver

M_p : 201 °C Zers. (Lit. 204-205 °C Zers.)¹⁶⁰

(2*R*,6*S*)-2,6-Diethyl-4-oxo-piperidiniumchlorid 13b



Summenformel: $C_9H_{18}ClNO$ Ausbeute: 79 % (Lit: 91 %)¹⁶⁰

M_f : 191.7 g/mol Aussehen: weißes Pulver

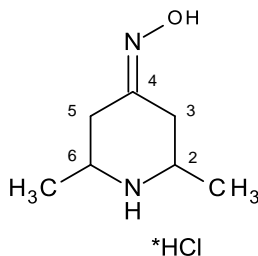
M_p : 180-182 °C Zers. (Lit. 181-183 °C Zers.)¹⁶⁰

5.6.1.2 Synthese der 2,6-Dialkylpiperidinoxime 14

Allgemeine Vorschrift zur Synthese:

20 mmol des jeweiligen 2,6-Dialkylpiperidons werden in Ethanol suspendiert. Nach dem Hinzufügen von doppelmolaren Mengen an Hydroxylamin-Hydrochlorid sowie Natriumacetat wird die Mischung für 1 bis 2 Stunden unter Rückfluß ($T = 90\text{ °C}$) erhitzt. Der Reaktionsansatz wurde anschließend für 3 h bei 5 °C aufbewahrt. Nach Filtration des erhaltenen weißen Feststoffes wird dieser mit Ethanol und kaltem Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

4-Hydroxyimino-2,6-dimethyl-piperidinium-chlorid 14a



Summenformel: $C_7H_{15}ClN_2O$ Ausbeute: 2.2 g (60 %)
 M_r : 178.7 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 248 °C
 IR-Daten [cm^{-1}]: 3255; 2971; 1723; 1577; 1519; 1473; 1451; 1379; 1345; 1287; 1149; 970; 932; 840

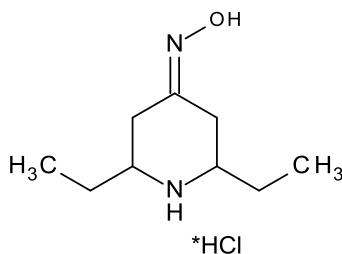
1H -NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

1.32 (d, 3H, $^3J = 6.0$, **CH**₃); 1.33 (d, 3H, $^3J = 6.0$, **CH**₃); 1.89 (dd, 1H, $^2J = 14.7$, $^3J = 12.9$, **H3** axial); 2.30 (dd, 1H, $^2J = 14.9$, $^3J = 12.8$, **H5** axial); 2.46 (dd, 1H, $^2J = 14.9$, $^3J = 2.8$, **H5** eq); 3.16 – 3.35 (m, 2H, **H2/H6**); 3.31 (d, 1H, $^2J = 14.8$, $^3J = 2.9$, **H3** eq); 9.03 (br, 1H, N^+ -**H**₂ eq); 9.20 (br, 1H, N^+ -**H**₂ axial); 10.78 (br, 1H, N=**OH**)

^{13}C -NMR (DMSO, δ [ppm]):

18.5 (-**C**₃); 18.6 (-**C**₃); 27.8 (**C3**); 34.6 (**C5**); 50.8 (**C2**); 52.2 (**C6**); 150.2 (**C**=N-OH)

2,6-Diethyl-4-hydroxyimino-piperidinium-chlorid 14b



Summenformel: $C_9H_{19}ClN_2O$ Ausbeute: 3.6 g (87 %)
 M_r : 206.7 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 246 °C
 IR-Daten [cm^{-1}]: 3201; 2937; 1720; 1589; 1574; 1523; 1470; 1449; 1367; 1338; 1285; 1258; 1181; 1116; 1092; 996; 923; 821; 756

1H -NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

0.93 (dt, 6H, $^3J = 7.5$, $^3J = 2.0$, 2x -**CH**₂**CH**₃); 1.51 – 1.69 (m, 2H, -**CH**₂**CH**₃); 1.83 – 1.95 (m, 3H, **H5** axial, -**CH**₂**CH**₃); 2.28 (dd, 1H, $^3J = 14.3$, $^3J = 13.0$, **H3** axial); 2.55 (dd, 1H, $^3J =$

14.8, $^3J = 2.3$, $\underline{\text{H3}}_{\text{eq}}$); 3.03 – 3.14 (m, 2H, $\underline{\text{H6/H2}}$); 3.41 (dd, 1H, $^3J = 15.2$, $^3J = 2.8$, $\underline{\text{H5}}_{\text{eq}}$); 8.96 (br, 1H, $\text{N}^+ - \underline{\text{H2}}_{\text{eq}}$); 9.18 (br, 1H, $\text{N}^+ - \underline{\text{H2}}_{\text{axial}}$); 10.83 (br, 1H, $\text{N} = \underline{\text{OH}}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, δ [ppm]):

9.3 ($-\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 9.4 ($-\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 25.2 ($\underline{\text{C5}}$); 25.5 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$); 25.6 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$); 32.3 ($\underline{\text{C3}}$); 56.2 ($\underline{\text{C6}}$); 57.5 ($\underline{\text{C2}}$); 150.1 ($\underline{\text{C}}=\text{N-OH}$)

5.6.2 Synthese der 2,6-Diaryl-3,5-dimethylpiperidinoximderivate 16

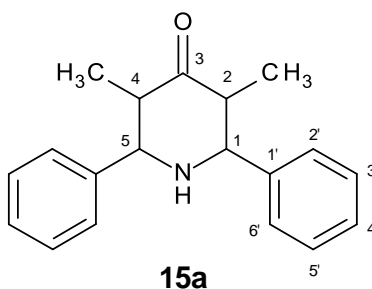
5.6.2.1 Synthese der Vorstufen 15a, 15b und 15c

Allgemeine Vorschrift zur Synthese (modifiziert nach¹²³):

2.16 g (25 mmol) 3-Pentanon, 50 mmol aromatisches Aldehyd sowie 2.75 g (30 mmol) Ammoniumacetat werden mit 7 ml Eisessig versetzt und 30 Minuten unter Rückfluss erhitzt. Nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle: Kieselgel, Cyclohexan/ Ethylacetat 2:1, R_f -Werte siehe Analytische Daten) wird der Reaktionsansatz ca. 10 Minuten im Eisbad gekühlt. Man filtriert den erhaltenen Niederschlag und wäscht mit Wasser und Diethylether. Die Produkte werden aus Ethanol umkristallisiert.

Analytische und spektroskopische Daten der Vorstufen 15:

3,5-Dimethyl-2,6-diphenylpiperidin-4-on 15a



Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}$

Ausbeute: 74 %

M_r : 279.4 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 140 °C R_f -Wert: 0.80
 IR-Daten [cm^{-1}]: 3308; 2979; 1701; 1491; 1455; 1436; 1376; 1335; 1269; 1206; 1142;
 1095; 985; 882; 819; 750; 698 670

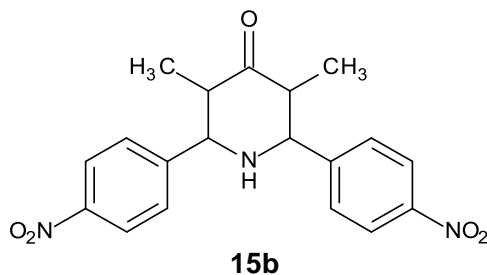
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

0.67 (d, 6H, $^3J = 6.5$, 2x CH_3); 2.75 (s, 1H, NH); 2.84 (dq, 2H, $^3J = 10.4$, $^3J = 6.5$, H_3/H_5); 3.56 (d, 2H, $^3J = 10.4$, H_2/H_6); 7.27 (t, 2H, H_4'); 7.35 (t, 2H, H_3'/H_5'); 7.47 (d, 2H, $^3J = 7.6$, H_2'/H_6')

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, δ [ppm]):

10.7 (2x CH_3); 50.8 (C_3/C_5); 68.1 (C_2/C_6); 127.4 (C_4'); 127.7 (C_2'/C_6'); 128.2 (C_3'/C_5'); 142.4 (C_1'); 210.5 (C_4)

3,5-Dimethyl-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-piperidin-4-on 15b



Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$ Ausbeute: 67 %
 M_r : 369.4 g/mol Aussehen: hellgelbes Pulver
 M_p : 205 °C R_f -Wert: 0.48
 IR-Daten [cm^{-1}]: 3310; 2819; 1700; 1607; 1597; 1521; 1457; 1342; 1268; 1105; 1010;
 988; 857; 749; 701

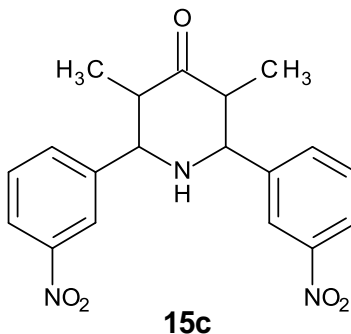
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

0.68 (d, 6H, $^3J = 6.5$, 2x CH_3); 2.87 (dq, $^3J = 10.4$, $^3J = 6.5$, H_3/H_5); 3.78 (d, 2H, $^3J = 10.4$, H_2/H_6); 7.77 (d, 2H, $^3J = 8.6$, H_2'/H_6'); 8.23 (t, 2H, $^3J = 8.6$, H_3'/H_5')

^{13}C -NMR (DMSO, δ [ppm]):

10.5 (2x CH_3); 50.4 (C3/ C5); 67.0 (C2/ C6); 123.5 (C3'/ C5'); 129.2 (C2'/ C6'); 147.0 (C4'); 149.9 (C1'); 209.3 (C4)

3,5-Dimethyl-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-piperidin-4-on **15c**



Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$ Ausbeute: 70 %

M_r : 369.4 g/mol Aussehen: gelbes Pulver

M_p : 198 °C R_f -Wert: 0.42

IR-Daten [cm^{-1}]: 3507; 2961; 1718; 1700; 1522; 1431; 1348; 1321; 1201; 1160; 1098; 987; 806; 735; 691

^1H -NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

0.71 (d, 6H, $^3J = 6.5$, 2x CH_3); 2.95 (dq, 2H, $^3J = 10.5$, $^3J = 6.5$, H3/ H5); 3.45 (s, 1H, NH); 3.80 (d, 2H, $^3J = 10.5$, H2/ H6); 7.67 (t, 2H, H5'); 7.93 (d, 2H, $^3J = 7.6$, H6'); 8.16 (d, 2H, $^3J = 8.1$, H4'); 8.39 (t, 2H, H2')

^{13}C -NMR (DMSO, δ [ppm]):

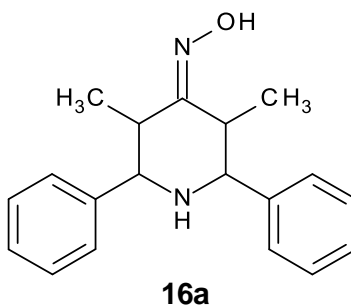
10.6 (2x CH_3); 50.3 (C3/ C5); 66.9 (C2/ C6); 122.4 (C2'); 122.6 (C4'); 129.8 (C5'); 135.0 (C6'); 144.5 (C1'); 147.9 (C3'); 209.5 (C4)

5.6.2.2 Synthese der 2,6-Diaryl-3,5-dimethylpiperidinoxime 16

Allgemeine Synthesevorschrift: 2.00 g (5-8 mmol) des jeweiligen 2,6-Diaryl-4-piperidons (**15a**, **b** und **c**), 1.64 g (20 mmol) Natriumacetat sowie 1.51 g (20 mmol) Hydroxylamin-Hydrochlorid werden in 30 ml Methanol bzw. Ethanol suspendiert und 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle: Kieselgel, Cyclohexan/ Ethylacetat 2:1, R_f -Werte siehe Analytische Daten) lässt man den Reaktionsansatz abkühlen, filtriert den erhaltenen Feststoff ab und wäscht mit Wasser und Methanol bzw. Ethanol.

Analytische und spektroskopische Daten der Oxime 16:

3,5-Dimethyl-2,6-diphenyl-piperidin-4-on-oxim 16a



Summenformel:	$C_{19}H_{22}N_2O$	Ausbeute:	86%
M_r :	294.4 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver
M_p :	165 °C	R_f -Wert:	0.72

IR-Daten [cm^{-1}]: 3505; 2961; 1744; 1721; 1469; 1430; 1375; 1352; 1319; 1199; 1176; 1160; 1104; 1036; 1001; 890; 777; 736

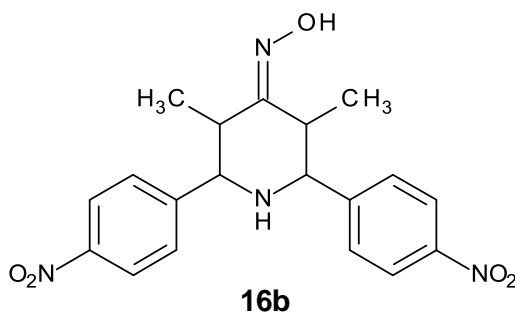
1H -NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

1.08 (d, 3H, $^3J = 7.1$, $\underline{CH_3}$); 1.21 (d, 3H, $^3J = 7.4$, $\underline{CH_3}$); 2.49 (m, *verdeckt durch DMSO-Signal*, 1H, $\underline{H3}$); 3.03 (m, 1H, $^3J = 8.0$, $^3J = 7.1$, $\underline{H5}$); 3.73 (d, 1H, $^3J = 9.0$, $\underline{H6}$); 3.81 (d, 1H, $^3J = 5.4$, $\underline{H2}$); 7.21 – 7.44 (m, 10H, $\underline{H_{benzyl}}$); 10.28 (s, 2H, =N- \underline{OH})

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, δ [ppm]):

15.2 (CH₃); 20.6 (CH₃); 39.1 (C5); 42.5 (C3); 64.7 (C6); 66.1 (C2); 126.9 (C2''/ C6''); 126.9 (C4''); 127.2 (C4'); 127.3 (C2'/ C6'); 128.1 (C3''/ C5''); 128.2 (C3'/ C5'); 144.4 (C1''); 145.9 (C1'); 161.3 (C4)

3,5-Dimethyl-2,6-bis-(4-nitrophenyl)-piperidin-4-on-oxim 16b



Summenformel:	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5$	Ausbeute:	80 %
M_r :	384.4 g/mol	Aussehen:	gelbes Pulver
M_p :	215 °C	R_f -Wert:	0.40

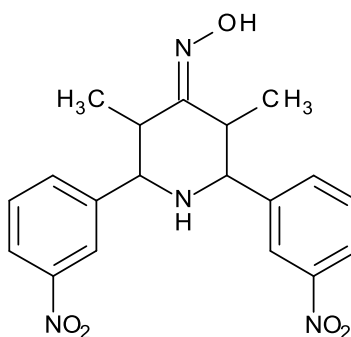
IR-Daten [cm^{-1}]: 3258; 2969; 1604; 1513; 1455; 1343; 1319; 1261; 1106; 1012; 943; 852; 740; 699

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

1.10 (d, 3H, $^3J = 7.1$, CH₃); 1.27 (d, 3H, $^3J = 7.4$, CH₃); 2.48 (m, teilweise verdeckt durch DMSO-Signal, 1H, $^3J = 7.4$, H3); 3.04 (m, 1H, $^3J = 7.7$, $^3J = 7.1$, H5); 3.21 (s, 1H, NH); 3.99 (d, 1H, $^3J = 8.9$, H2); 4.05 (d, 1H, $^3J = 7.7$, H6); 7.72 (d, 2H, $^3J = 8.7$, H2''/ H6''); 7.75 (d, 2H, $^3J = 8.7$, H2'/ H6'); 8.21 (2x d, 4H, H3''/ H5'' und H3'/ H5'); 10.46 (s, 2H, =N-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, δ [ppm]):

14.9 (CH₃); 20.5 (CH₃); 39.0 (C5); 42.1 (C3); 63.0 (C6); 64.5 (C2); 123.4 (C3'/ C5'); 128.1 (C2''/ C6''); 128.7 (C2'/ C6'); 146.5 (C4''); 146.7 (C4'); 152.1 (C1''); 153.7 (C1'); 159.9 (C4)

3,5-Dimethyl-2,6-bis-(3-nitrophenyl)-piperidin-4-on-oxim 16c**16c**

Summenformel: $C_{19}H_{20}N_4O_5$ Ausbeute: 83 %
 M_r : 384.4 g/mol Aussehen: gelbes Pulver
 M_p : 206 °C R_f -Wert: 0.36
 IR-Daten [cm^{-1}]: 3347; 2956; 1715; 1501; 1471; 1425; 1351; 1322; 1245; 1102; 1040;
 971; 801; 731 ;695

1H -NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

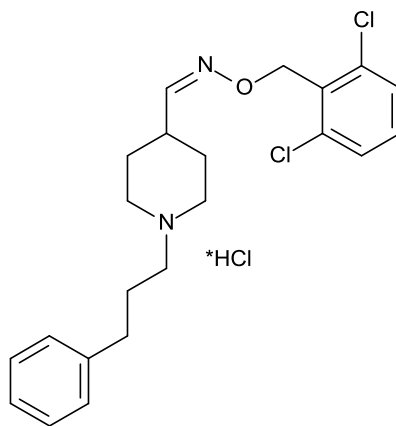
1.12 (d, 3H, $^3J = 7.1$, **CH₃**); 1.28 (d, 3H, $^3J = 7.6$, **CH₃**); 2.51 (m, 1H, **H₃**); 3.08 (m, 1H, **H₅**); 3.25 (s, 1H, **NH**); 4.02 (d, 1H, $^3J = 8.6$, **H₆**); 4.07 (d, 1H, $^3J = 8.6$, **H₂**); 7.63 (d, 1H, $^3J = 8.1$, **H_{5''}**); 7.68 (d, 1H, $^3J = 8.1$, **H_{5'}**); 7.89 (d, 1H, $^3J = 7.8$, **H_{6''}**); 7.93 (d, 1H, $^3J = 8.1$, **H_{6'}**); 8.11 – 8.17 (m, 2H, **H_{4'}**/ **H_{4''}**); 8.28 (s, 1H, **H_{2''}**); 8.31 (s, 1H, **H_{2'}**); 10.46 (s, 2H, =N-O**H**)

^{13}C -NMR (DMSO, δ [ppm]):

14.9 (**CH₃**); 20.3 (**CH₃**); 38.8 (**C₅**); 42.1 (**C₃**); 62.7 (**C₆**); 64.2 (**C₂**); 121.5 (**C_{2''}**); 122.0 (**C_{2'}**/ **C_{4''}**); 122.3 (**C_{4'}**); 129.7 (**C_{5''}**); 129.8 (**C_{5'}**); 134.0 (**C_{6''}**); 134.3 (**C_{6'}**); 146.5 (**C_{1''}**); 147.7 (**C_{1'}**); 147.8 (**C_{3''}**); 148.1 (**C_{3'}**); 160.1 (**C₄**)

5.7 Synthese des Oximeters 17

5.7.1 Synthese von 4-[(2,6-Dichlorbenzyloxyimino)methyl]-1-(3-phenylpropyl)-piperidinium-hydrochlorid (17)¹⁰⁸



Die spektroskopischen Daten entsprechen den Literaturangaben.¹⁰⁸

Summenformel:	C ₂₂ H ₂₇ Cl ₃ N ₂ O
M _r :	441.8 g/mol
M _p :	197 °C (Lit. 198 °C) unter Zersetzung
Aussehen:	weißes Pulver
Ausbeute:	1.17 g (55 %)

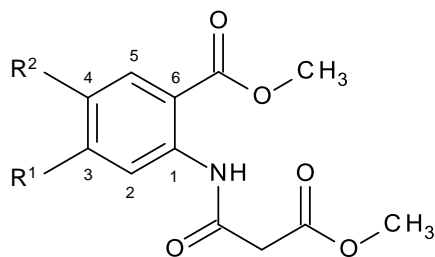
5.8 Synthese der Chinolonderivate 20 und 23

5.8.1 Synthese der Hydroxychinolonderivate 20

5.8.1.1 Synthese der Vorstufen 19

Allgemeine Synthesevorschrift: (analog zu¹⁵⁰)

20 – 30 mmol des entsprechenden 2-Aminobenzoessäuremethylesters und doppelmolare Mengen Triethylamin werden unter Argonschutzatmosphäre in 20 ml wasserfreies Dichlormethan vorgelegt. 20 – 30 mmol Malonsäurechlorid, gelöst in 15 ml Dichlormethan abs., werden dem Reaktionsansatz unter Rühren langsam zugetropft. Man lässt für 3 bis 4 Tage bei Raumtemperatur rühren, bis eine vollständige Umsetzung der Edukte erreicht ist (DC-Reaktionskontrolle: Kieselgel, Cyclohexan / EtOAc 2:1). Bei der Reaktion entstandenes Triethylamin-Hydrochlorid wird abfiltriert, vom Filtrat das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der erhaltene Feststoff säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Cyclohexan / Ethylacetat 2:1). Das gewünschte Produkt **19** wird als weißer Feststoff isoliert und im Vakuum getrocknet.



	R ¹	R ²
19a	H	H
19b	Cl	H
19c	OCH ₃	OCH ₃

5.8.1.2 Analytische und spektroskopische Daten der Vorstufen 19

2-(2-Methoxycarbonyl-acetylamino)-benzoessäuremethylester 19a

Summenformel:	C ₁₂ H ₁₃ NO ₅	Ausbeute:	7.1 g (92 %)
M _r :	251.2 g/mol	Aussehen:	weißes Pulver

M_p : 103 °C R_f -Wert: 0.41

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

3.53 (s, 2H, $\text{COCH}_2\text{COOCH}_3$); 3.81 (s, 1H, $\text{NHCOCH}_2\text{COOCH}_3$); 3.94 (s, 1H, Ar- COOCH_3); 7.11 (t, 1H, **H4**); 7.54 (t, 1H, **H3**); 8.03 (d, 1H, **H2**); 8.67 (d, 1H, **H5**); 11.44 (s, 1H, **NH**)

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

44.7 ($\text{COCH}_2\text{COOCH}_3$); 52.6 ($\text{NHCOCH}_2\text{COOCH}_3$); 52.8 (Ar- COOCH_3); 115.8 (**C6**); 120.9 (**C5**); 123.2 (**C4**); 131.0 (**C2**); 134.7 (**C3**); 140.9 (**C1**); 164.0 (**CONH**); 168.2, 168.6 (2x COOCH_3)

4-Chlor-2-(2-methoxycarbonyl-acetylamino)-benzoesäuremethylester **19b**

Summenformel: $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{ClNO}_5$ Ausbeute: 3.5 g (50 %)
 M_r : 285.7 g/mol Aussehen: weißes Pulver
 M_p : 111 °C R_f -Wert: 0.28

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

3.54 (s, 2H, $\text{COCH}_2\text{COOCH}_3$); 3.81 (s, 1H, $\text{NHCOCH}_2\text{COOCH}_3$); 3.94 (s, 1H, Ar- COOCH_3); 7.09 (dd, 1H, $^3J = 10.6$, $^4J = 2.0$, **H5**); 7.96 (d, 1H, $^3J = 10.6$, **H5**); 8.79 (d, 1H, $^4J = 2.0$, **H2**); 11.52 (**NH**)

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

44.6 ($\text{COCH}_2\text{COOCH}_3$); 52.7 ($\text{NHCOCH}_2\text{COOCH}_3$); 52.8 (Ar- COOCH_3); 114.0 (**C6**); 120.9 (**C5**); 123.5 (**C4**); 132.0 (**C2**); 141.1 (**C1**); 141.8 (**C3**); 164.2 (**CONH**); 167.9, 168.0 (2x COOCH_3)

4,5-Dimethoxy-2-(2-methoxycarbonyl-acetylamino)-benzoesäuremethylester 19c

Summenformel:	C ₁₄ H ₁₇ NO ₇	Ausbeute:	4.4 g (57 %)
M _r :	311.2 g/mol	Aussehen:	beiges Pulver
M _p :	117 °C	R _f -Wert:	0.18

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]):

3.53 (s, 2H, COCH₂COOCH₃); 3.81 (s, 1H, NHCOCH₂COOCH₃); 3.89 (s, 1H, C₃-OCH₃); 3.92 (s, 1H, Ar-COOCH₃); 3.95 (s, 1H, C₄-OCH₃); 7.46 (s, 1H, **H2**); 8.44 (s, 1H, **H5**); 11.51 (s, 1H, **NH**)

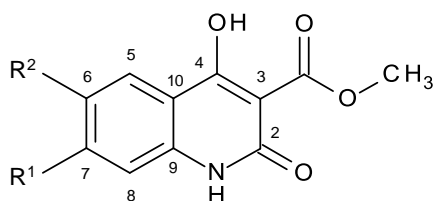
¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm]):

44.8 (COCH₂COOCH₃); 52.4 (Ar-COOCH₃); 52.8 (NHCOCH₂COOCH₃); 56.2 (C₃-OCH₃); 56.3 (C₄-OCH₃); 103.9 (**C5**); 107.3 (**C6**); 112.3 (**C2**); 137.1 (**C1**); 144.4 (**C4**); 154.0 (**C3**); 164.0 (**CONH**); 168.1, 168.3 (2x **COOCH3**)

5.8.1.3 Cyclisierung der Vorstufen

8-15 mmol der Vorstufen **19a**, **19b** bzw. **19c** werden jeweils in 20 ml MeOH abs. suspendiert und mit 15 - 20 ml frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung (5 g Natrium in 80 ml MeOH abs.) versetzt. Der Reaktionsansatz wird ca. 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis ein heller Niederschlag ausfällt. Nach Filtration des erhaltenen Produktes wird mit MeOH gewaschen und der weiße Feststoff im Vakuum getrocknet.

5.8.1.4 Analytische und spektroskopische Daten von 20a, 20b und 20c



	R ¹	R ²
20a	H	H
20b	Cl	H
20c	OCH ₃	OCH ₃

4-Hydroxy-2-oxo-1H-chinolin-3-carbonsäuremethylester 20a

Summenformel: C₁₁H₉NO₄ Ausbeute: 1.55 g (83 %)

M_r: 219.2 g/mol Aussehen: weißes Pulver

M_p: > 290 °C

IR-Daten [cm⁻¹]: 3223; 2990; 1688; 1625; 1608; 1577; 1513; 1491; 1464; 1434; 1405; 1352; 1274; 1230; 1082; 811; 746; 676

¹H-NMR (D₂O, δ [ppm], J [Hz]):

3.88 (s, 3H, COOCH₃); 7.20 – 7.25 (m, 2H, **H5/ H7**); 7.54 (t, 1H, **H6**); 7.97 (dd, ³J = 1.2, ³J = 8.1, 1H, **H8**)

¹³C-NMR (D₂O, δ [ppm]):

52.0 (COOCH₃); 101.7 (**C3**); 115.6 (**C7**); 120.9 (**C9**); 122.0 (**C5**); 124.7 (**C8**); 131.8 (**C7**); 138.1 (**C10**); 164.7 (=C-OH); 170.8 (COOCH₃); 175.8 (CONH)

7-Chlor-4-hydroxy-2-oxo-1H-chinolin-3-carbonsäuremethylester 20b

Summenformel: C₁₁H₈ClNO₄ Ausbeute: 2.1 g (72 %)

M_r: 253.7 g/mol Aussehen: weißes Pulver

M_p: > 290 °C

IR-Daten [cm⁻¹]: 3261; 2940; 1676; 1621; 1577; 1549; 1495; 1436; 1417; 1370; 1263; 1226; 1078; 935; 838; 797; 674

¹H-NMR (D₂O, δ [ppm], *J* [Hz]):

3.87 (s, 3H, COOCH₃); 7.12 – 7.13 (m, 2H, **H5/ H8**); 7.85 (d, 1H, ³*J* = 9.1, **H6**)

¹³C-NMR (D₂O, δ [ppm]):

51.9 (COOCH₃); 101.6 (**C3**); 114.9 (**C8**); 119.6 (**C10**); 122.1 (**C5**); 126.3 (**C6**); 136.9 (**C7**); 138.8 (**C9**); 164.9 (=C-OH); 170.5 (COOCH₃); 175.3 (CONH)

4-Hydroxy-6,7-dimethoxy-2-oxo-1H-chinolin-3-carbonsäuremethylester 20c

Summenformel: C₁₃H₁₃NO₆ Ausbeute: 3.2 g (78 %)

M_r: 279.3 g/mol Aussehen: weißes Pulver

M_p: 291 °C

IR-Daten [cm⁻¹]: 3248; 2963; 1680; 1624; 1574; 1553; 1491; 1457; 1430; 1412; 1365; 1271; 1194; 1085; 909; 849; 787; 689

¹H-NMR (D₂O, δ [ppm], *J* [Hz]):

3.71 (s, 3H, COOCH₃); 3.76, 3.85 (2x s, 2x 3H, 2x Aryl-OCH₃); 6.36 (s, 1H, **H5**); 7.21 (s, 1H, **H8**)

¹³C-NMR (D₂O, δ [ppm]):

51.7 (COOCH₃); 55.4, 55.5 (2x Aryl-OCH₃); 97.4 (**C5**); 100.4 (**C3**); 105.0 (**C8**); 113.9 (**C10**); 133.6 (**C9**); 144.1 (**C6**); 151.8 (**C7**); 164.3 (=C-OH); 170.8 (COOCH₃); 175.3 (CONH)

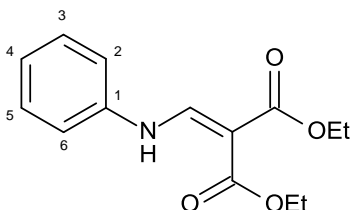
5.8.2 Synthese der 4-Oxo-1H-chinolin-3-carbonsäuren

5.8.2.1 Synthese des Anilinomethylenmalonsäurediethylesters 22

Allgemeine Synthesevorschrift: (analog zu^{161,162})

22 mmol Anilin wird mit Diethylethoxymethylenmalonat in 100 ml Toluol gelöst und für 30-40 min unter Rückfluss erhitzt (DC-Reaktionskontrolle: Kieselgel, Petrolether /

EtOAc 1:1). Anschließend lässt man den Reaktionsansatz auf Raumtemperatur abkühlen und versetzt ihn mit kaltem Cyclohexan, bis ein heller Feststoff ausfällt. Nach 5-stündiger Lagerung bei 5 °C, wird der Feststoff filtriert, mit Cyclohexan sowie Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

**22**

Summenformel:	C ₁₄ H ₁₇ NO ₄	Ausbeute:	5.1 g (89 %) (Lit: 92 %) ¹⁶¹
M _r :	263.3 g/mol	Aussehen:	farblose Kristalle
M _p :	50 °C (Lit. 49 °C) ¹⁶¹		

¹H-NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

1.24 (t, 3H, ³J = 7.2, COOCH₂**CH**₃); 1.26 (t, 3H, ³J = 7.2, COOCH₂**CH**₃); 4.12 (quar, 2H, ³J = 7.1, COO**CH**₂CH₃); 4.21 (quar, 2H, ³J = 7.1, COO**CH**₂CH₃); 7.14 – 7.18 (m, 1H, **H**₄); 7.35 – 7.42 (m, 4H, **H**_{2/6} und **H**_{3/5}); 8.41 (d, 1H, ³J = 13.9, NH-**CH**=C-); 10.70 (d, 1H, ³J = 13.9, **NH**)

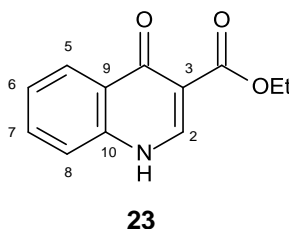
¹³C-NMR (DMSO, δ [ppm]):

14.2 (COOCH₂**CH**₃); 14.3 (COOCH₂**CH**₃); 59.4 (COO**CH**₂CH₃); 59.6 (COO**CH**₂CH₃); 93.2 (CH=**C**-(CO₂Et)₂); 117.6 (**C**_{2/6}); 124.7 (**C**₄_{Aromat}); 129.7 (**C**_{3/5}); 139.4 (**C**₁_{Aromat}); 151.1 (NH-**CH**=C-); 164.9 (**C**OOCH₂CH₃); 167.3 (**C**OOCH₂CH₃)

5.8.2.2 Synthese des 4-Oxo-1H-chinolin-3-carbonsäureethylesters **23**

Allgemeine Synthesevorschrift: (analog zu¹⁶¹)

Die Substanz **22** wird mit soviel Diphenylether versetzt, dass der Feststoff bedeckt ist. Man rührt das Gemisch für ca. 30 min bei 200 °C unter Rückfluss. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle: Kieselgel, Cyclohexan / EtOAc 2:1) lässt man auf Raumtemperatur abkühlen und versetzt den Reaktionsansatz mit kaltem Cyclohexan, bis ein heller Feststoff ausfällt. Nach 5-stündiger Lagerung bei 5 °C, wird der Feststoff filtriert, aus Cyclohexan umkristallisiert, mit Cyclohexan sowie Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Man erhält Verbindung **23**.



Summenformel: $C_{12}H_{11}NO_3$ Ausbeute: 2.9 g (69 %) (Lit: 55 %)¹⁶¹

M_r : 217.2 g/mol Aussehen: weißes Pulver

M_p : 272 °C (Lit. 271 °C)¹⁶¹

IR-Daten [cm^{-1}]: 3103; 2980; 1691; 1618; 1587; 1377; 1260; 1196; 1089; 859

¹H-NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

1.28 (t, 3H, $^3J = 7.1$, COOCH₂**H**₃); 4.22 (quar, 2H, $^3J = 7.1$, COO**C**₂H₃); 7.41 (t, 1H, $^3J = 8.0$, **H**₆); 7.62 (d, 1H, $^3J = 8.0$, **H**₈); 7.70 (dd, 1H, $^3J = 8.1$, $^4J = 1.2$, **H**₇); 8.16 (dd, 1H, $^3J = 8.1$, $^4J = 1.2$, **H**₅); 8.54 (s, 1H, **H**₂); 12.30 (s, 1H, **NH**)

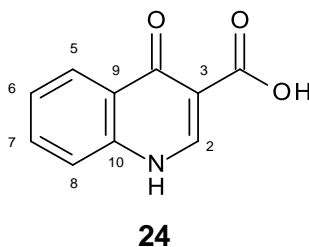
¹³C-NMR (DMSO, δ [ppm]):

14.3 (COO**C**₂H₃); 59.5 (COO**C**₂H₃); 109.8 (**C**₃); 118.7 (**C**₈); 124.6 (**C**₅); 125.6 (**C**₆); 127.2 (**C**₉); 132.3 (**C**₇); 139.0 (**C**₁₀); 144.8 (**C**₂); 164.8 (**C**OOCH₂CH₃); 173.4 (**C**=O)

5.8.2.3 Synthese der 4-Oxo-1H-chinolin-3-carbonsäure **24**

Allgemeine Synthesevorschrift: (analog zu¹⁶¹)

Zur Hydrolyse des 4-Oxo-1H-chinolin-3-carbonsäureethylesters **23** wird dieser mit 10%-iger NaOH-Lösung für 3 h unter Rückfluss erhitzt, bis das Edukt komplett umgesetzt ist (DC-Reaktionskontrolle: Kieselgel, EtOAc / EtOH 1:1). Nach beendeter Hydrolyse lässt man auf Raumtemperatur abkühlen und fällt die freie Säure durch tropfenweise Zugabe von konzentrierter HCl. Der erhaltene Feststoff wird abfiltriert, mit Eiswasser und kaltem Cyclohexan gewaschen und unter Vakuum getrocknet.



Summenformel: $C_{10}H_7NO_3$ Ausbeute: 85 % (Lit: 94 %)¹⁶¹

M_r : 189.2 g/mol Aussehen: weißes Pulver

M_p : 264 °C (Lit. 265 °C)¹⁶¹

IR-Daten [cm^{-1}]: 3219; 3098; 2992; 1665; 1620; 1583; 1367; 1178; 991; 771

¹H-NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]):

7.60 (ddd, 1H, ³ J = 8.1, ³ J = 6.5, ⁴ J = 1.60, **H6**); 7.84 – 7.91 (m, 2H, **H8**, **H7**); 8.29 (d, 1H, ³ J = 8.33, **H5**); 8.85 (s, 1H, =**CH**); 13.66 (br, 1H, **NH**)

¹³C-NMR (DMSO, δ [ppm]):

107.3 (**C3**); 119.5 (**C8**); 124.2 (**C9**); 124.9 (**C5**); 126.1 (**C6**); 133.9 (**C7**); 139.3 (**C10**); 145.0 (**C2**); 166.3 (**COOH**); 178.2 (**C4**)

5.9 Bestimmung der $\log k'$ -Werte

5.9.1 Geräte und Reagenzien

Phosphatpuffer pH 7.4

DMSO (ACS, HPLC-Qualität, Sigma-Aldrich, Deutschland)

Methanol LiChrosolv[®] (Merck, Deutschland)

Referenzsubstanzen: 2-Phenylethanol, Benzol, N,N-Dimethylanilin, Chlorbenzol, Toluol, Ethylbenzol, Biphenyl, Anthracen

Agilent-HPLC 1100-Serie (Agilent-Technologies, Böblingen, Deutschland)

- Säule: Inertsil ODS-2, RP 18 (5 μ m, 150 x 4.6 mm)
(MZ-Analysentechnik, Mainz, Deutschland)
- Druck: 190 bar
- Flussrate: 1.5 ml/min
- Temperatur: 30 °C
- Fließmittel: Methanol/Phosphatpuffer 10mM (pH 7.4) / N,N-Dimethylhexylamin (70:30:0.02)
- Detektion: UV bei 254 nm

5.9.2 Durchführung

Zur Herstellung des Phosphatpuffers (10 mM) werden 1,361 g KH_2PO_4 in Millipore-Wasser gelöst. Zur Entgasung stellt man die Lösung für ca. 60 Minuten ins Ultraschallbad. Anschließend wird der pH-Wert mittels pH-Meter überprüft und mit 0,1 M NaOH-Lösung auf pH 7.4 eingestellt. Man fügt 0.02 % N,N-Dimethylhexylamin hinzu, um ein zu starkes Tailing der Peaks im Chromatogramm zu unterdrücken.

Zur Kalibrierung des Systems verwendet man Lösungen einfach gebauter, aromatischer Referenzsubstanzen, deren logP-Werte aus der Literatur bekannt sind (verwendete Referenzsubstanzen siehe unter 5.9.1). Ungefähr 4 mg jeder Testsubstanz werden in je 1 ml mobiler Phase gelöst (Ausnahmen: Biphenyl und Anthracen werden in 1 ml DMSO gelöst). 10 µl dieser Testlösungen werden jeweils mit 990 µl mobiler Phase verdünnt.

Ca. 4 mg der jeweiligen Testsubstanz werden in 1 ml DMSO gelöst. 10 µl dieser Lösung werden mit 990 µl mobiler Phase verdünnt, so dass man eine Endkonzentration von 4 µg/ml erhält.

Jeweils 40 µl der zu vermessenden Lösungen werden in die HPLC-Säule bei einer Flussrate von 1.5 ml/min injiziert. Die UV-Detektion erfolgt bei einer Wellenlänge von 254 nm.

5.9.3 Auswertung

Aus den ermittelten Retentionszeiten T_r der Referenz- und Testsubstanzen lässt sich der Kapazitätsfaktor k' nach folgender Formel berechnen:

$$k' = \frac{(T_r - T_0)}{T_0}$$

k' ... Kapazitätsfaktor

T_r ... Retentionszeit der Testsubstanz

T_0 ... Totzeit (= Retentionszeit der mobilen Phase, Methanol-Peak)

Für die Bestimmung des Kapazitätsfaktors k' wurde die Retentionszeit des Lösungsmittels als Totzeit T_0 zugrunde gelegt.

Die bestimmten log k' -Werte der Referenzsubstanzen lassen sich auf den entsprechenden, durch Ausschütteln experimentell bestimmten logP-Wert zurückführen. Durch lineare

Regression wird nun aus den ermittelten $\log k'$ -Werten und den literaturbekannten dazugehörigen $\log P$ -Werten¹⁶³ eine Kalibriergerade ermittelt ($y = 2.3417x + 1.8415$; $r^2 = 0.9803$; siehe Abbildung 5-1). Anhand der dadurch erhaltenen Regressionsgleichung können die $\log P$ -Werte der Testsubstanzen nach experimenteller Bestimmung ihrer Retentionszeiten und Berechnung der $\log k'$ -Werte errechnet werden. Der für jede Testsubstanze angegebene $\log P$ -Wert ist der Mittelwert aus mehreren Messungen ($n = 3$).

Referenzsubstanz	$\log k'$	$\log P$
2-Phenylethanol	-0.27	1.36
Benzol	0.20	2.13
Chlorbenzol	0.41	2.89
Toluol	0.43	2.73
Ethylbenzol	0.62	3.15
Cumol	0.79	3.66
Biphenyl	0.84	4.01
Anthracen	1.10	4.45

Tabelle 5-1 Lipophilie der Referenzsubstanzen

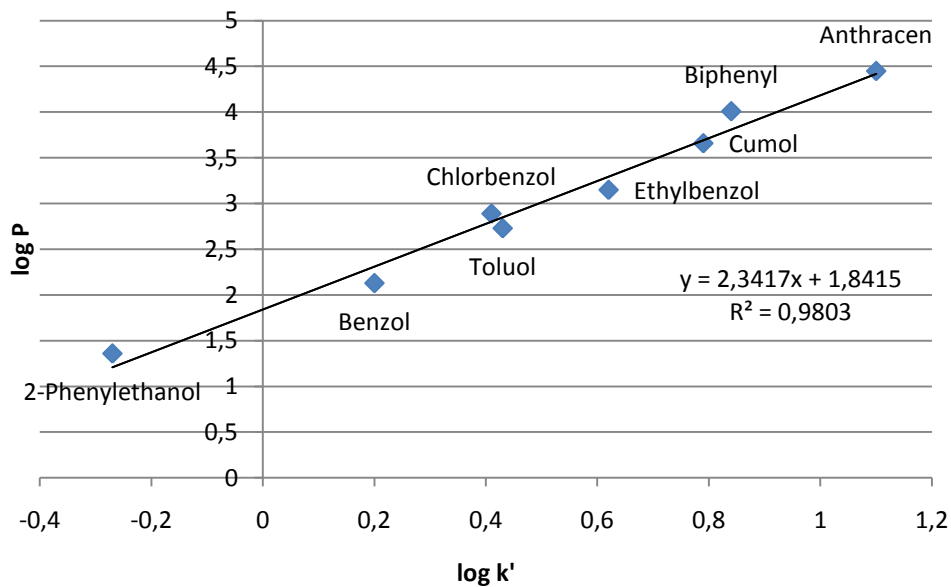


Abbildung 5-1 Kalibriergerade der Referenzsubstanzen

6 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1-1</i> Verbreitungsgebiete der Malaria (modifiziert nach ⁴)	3
<i>Abbildung 1-2</i> Entwicklungszyklus der Malariaerreger (modifiziert nach ⁵)	5
<i>Abbildung 1-3</i> 4-Aminochinoline als Hemmstoffe der Hämozoin-Bildung	7
<i>Abbildung 1-4</i> Arylaminoalkohole mit der Leitstruktur Chinin	8
<i>Abbildung 1-5</i> Vereinfachtes Schema der Folsäuresynthese	9
<i>Abbildung 1-6</i> Hemmstoffe der Dihydropteroat-Synthase (Sulfadoxin, Dapson) sowie der Dihydrofolat- Reduktase (Pyrimethamin, Proguanil)	10
<i>Abbildung 1-7</i> Artemisinin mit seinen semi-synthetischen Derivaten	11
<i>Abbildung 1-8</i> Atovaquon und das 8-Aminochinolin Primaquin als Hemmstoffe der Atmungskette	14
<i>Abbildung 1-9</i> Beispiele von in der klinischen Entwicklung befindlichen, neuen Malariatherapeutika	15
<i>Abbildung 1-10</i> Entwicklungszyklus der Schlafkrankheitserreger <i>T. brucei rhodesiense</i> und <i>gambiense</i> (modifiziert nach ⁵²)	17
<i>Abbildung 1-11</i> Entwicklungszyklus des Erregers der Amerikanischen Chagas-Krankheit <i>Trypanosoma</i> <i>cruzi</i> (modifiziert nach ⁵²)	19
<i>Abbildung 1-12</i> Wirkstoffe zur Behandlung der Amerikanischen Trypanosomeninfektion (Chagas- Krankheit)	20
<i>Abbildung 1-13</i> Strukturen der Wirkstoffe gegen die Afrikanische Schlafkrankheit	21
<i>Abbildung 1-14</i> Trypanothion-/ Trypanothion-Reduktase-System in Trypanosomatiden	23
<i>Abbildung 1-15</i> Das O-Methylamidoxim-Prodrug Pafuramidin	24
<i>Abbildung 1-16</i> Entwicklungszyklus der Leishmanien (modifiziert nach ⁵²)	25
<i>Abbildung 1-17</i> Antileishmanielle Antimonverbindungen (A: traditionelle Struktur für Natrium- Stibogluconat; B: nach neueren Untersuchungen angenommene Struktur des Natrium-Stibogluconat-2:2- Komplexes)	27
<i>Abbildung 1-18</i> Wirkweise der Sb-Verbindungen und Resistenzmechanismus ^{53,56}	28
<i>Abbildung 1-19</i> Die Leishmanientherapeutika Miltefosin und Paromomycin	30
<i>Abbildung 1-20</i> Sitamaquin	31
<i>Abbildung 1-21</i> Struktur der Polyamine Putrescin, Spermidin sowie Spermin	32
<i>Abbildung 1-22</i> Die Polyaminbiosynthese in Plasmodien, Trypanosomen und Leishmanien mit Schlüsselenzymen und ihren Inhibitoren	34
<i>Abbildung 1-23</i> ODC-Inhibitoren	38
<i>Abbildung 1-24</i> Inhibitoren der AdoMetDC (S-Adenosylmethionin-Decarboxylase)	39
<i>Abbildung 1-25</i> Spermidin-Synthase Inhibitoren	40
<i>Abbildung 1-26</i> Aktivierung von eIF-5A und potenzielle Hemmstoffe der beteiligten Schlüsselenzyme ⁵⁰	41
<i>Abbildung 1-27</i> DHS-Inhibitoren	43
<i>Abbildung 1-28</i> Der für die antiretrovirale Therapie interessante DHS-Inhibitor Semapimod	44
<i>Abbildung 1-29</i> Inhibitoren der Deoxyhypusin-Hydroxylase (DOHH)	46

<i>Abbildung 1-30</i> Ciclopirox (1) und Mimosin (2) als Leitstrukturen für die Entwicklung der 4-Oxopiperidinmono- (3) und –diester (4) mit ihrer Keto-Enol-Tautomerie.....	47
<i>Abbildung 1-31</i> Eisenkomplexierung durch die α -Hydroxyketonstruktur.....	53
<i>Abbildung 2-1</i> Die für die optimale Wirksamkeit vorgeschlagenen Verbindungen (Zielverbindungen).....	57
<i>Abbildung 2-2</i> 4-Hydroxychinoloncarbonsäureester (B) als 4-Hydroxytetrahydropyridinester- (A) enthaltende Strukturen.....	58
<i>Abbildung 3-1</i> Die 4 möglichen Isomere bei der Piperidonsynthese.....	62
<i>Abbildung 3-2</i> Die 2 Isomere des trans-Enols.....	65
<i>Abbildung 3-3</i> Syntheschema der 2,6-dialkylsubstituierten 4-Piperidondiesterderivate.....	69
<i>Abbildung 3-4</i> Syntheschema der 2,6-diarylsubstituierten 4-Hydroxytetrahydropyridin-diesterderivate.....	72
<i>Abbildung 3-5</i> isoliertes Nebenprodukt (Azomethin).....	75
<i>Abbildung 3-6</i> ^1H und ^{13}C -Spektrum von Verbindung 1d und 4f als Beispiele für reine trans-Enole.....	77
<i>Abbildung 3-7</i> Struktur, ^1H - und ^{13}C -Spektrum von Verbindung 6a.....	79
<i>Abbildung 3-8</i> ^1H - und ^{13}C -Spektrum von Verbindung 5c (cis-/trans-Enol-Gemisch).....	81
<i>Abbildung 3-9</i> isolierte Nebenprodukte.....	83
<i>Abbildung 3-10</i> Struktur des Cyclohexenons.....	84
<i>Abbildung 3-11</i> Struktur des Nebenproduktes 2,4,6-Tri(methoxycarbonyl)-3-methoxycarbonylmethyl-3-hydroxy-5-(3-nitrophenyl)cyclohexan-1-on.....	85
<i>Abbildung 3-12</i> ^1H -Spektrum des Nebenproduktes 2,4,6-Tri(methoxycarbonyl)-3-methoxycarbonylmethyl-3-hydroxy-5-(3-nitrophenyl)cyclohexan-1-on.....	86
<i>Abbildung 3-13</i> Sesselkonformation des Cyclohexanon-Derivates.....	87
<i>Abbildung 3-14</i> Syntheschema der (a) 2,6-Diaryl- und (b) 2,6-Dialkyl-4-hydroxytetrahydropyridin-3-monocarbonsäureester.....	88
<i>Abbildung 3-15</i> Struktur und Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung 7d.....	91
<i>Abbildung 3-16</i> Struktur und Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung 8a.....	92
<i>Abbildung 3-17</i> Struktur und ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung 7c.....	93
<i>Abbildung 3-18</i> Strategie 2 zum Aufbau der 2,6-Diaryl-4-oxo-piperidinmonoester.....	96
<i>Abbildung 3-19</i> Strategie 3a: Syntheseversuche mit Ammoniak und L-Prolin.....	97
<i>Abbildung 3-20</i> Strategie 3b: Syntheseversuche mit Methylamin und L-Prolin.....	98
<i>Abbildung 3-21</i> isoliertes Nebenprodukt.....	99
<i>Abbildung 3-22</i> Strategie 4: Versuch einer einseitigen Veresterung mit der Schweineleberesterase.....	100
<i>Abbildung 3-23</i> Syntheseversuche der 2,6-Diaryl-3-(arythio)-4-piperidone.....	100
<i>Abbildung 3-24</i> Syntheschema der 2,6-Dialkylpiperidinoximderivate.....	102
<i>Abbildung 3-25</i> Vergleich der ^1H -Spektren von 13a und dem dazugehörigen Oxim 14a.....	103
<i>Abbildung 3-26</i> Vergleich der ^{13}C -Spektren von 13a und dem dazugehörigen Oxim 14a.....	104
<i>Abbildung 3-27</i> Syntheschema der 2,6-Diaryl-4-piperidone und deren Oximderivate.....	105
<i>Abbildung 3-28</i> Struktur der 2,6-Diarylpiperidone 15.....	106

<i>Abbildung 3-29</i> Vergleich der ¹ H-Spektren (Ausschnitt) von 15a und dem dazugehörigen Oxim 16a.....	107
<i>Abbildung 3-30</i> Vergleich der ¹³ C-Spektren von 15a und dem dazugehörigen Oxim 16a.....	108
<i>Abbildung 3-31</i> Struktur des Oximethers 17.....	109
<i>Abbildung 3-32</i> Entwicklung der Parasitämie von <i>P.falciparum</i> nach Behandlung mit verschiedenen Konzentrationen des Oximethers 10 im Vergleich zu Chloroquin (CQ).....	109
<i>Abbildung 3-33</i> Syntheseversuch des Piperidinoximethers 18.....	110
<i>Abbildung 3-34</i> Synthese der 4-Hydroxy-2-oxochinolinester 20 (modifiziert nach).....	111
<i>Abbildung 3-35</i> Amidierungsversuche der 4-Hydroxy-2-oxochinolinester 20.....	111
<i>Abbildung 3-36</i> HIV-Integrase-Inhibitoren: allgemein wichtiges Strukturelement der Metallkomplexbildner mit 2 Beispielsubstanzen ¹⁵¹	112
<i>Abbildung 3-37</i> Syntheseversuch der Hydroxamsäure über die Chinoloncarbonsäure.....	113
<i>Abbildung 3-38</i> Das Azomethin-Nebenprodukt.....	122
<i>Abbildung 3-39</i> Inhibitorische Aktivität der Substanzen 14a, 14b, 15a, 16a und dem Azomethin-Nebenprodukt im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA).....	127
<i>Abbildung 3-40</i> Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen.....	127
<i>Abbildung 3-41</i> Inhibitorische Aktivität der Substanzen 13a, 13b, 16b und 20a im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA).....	128
<i>Abbildung 3-42</i> Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen.....	128
<i>Abbildung 3-43</i> Inhibitorische Aktivität der Substanzen 3b, 3e, 4c, 4d, 4i, und 15b im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA).....	129
<i>Abbildung 3-44</i> Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen.....	129
<i>Abbildung 3-45</i> Inhibitorische Aktivität der Substanzen 15c, 22 und 24 im Vergleich zu Chloroquin (CQ) und Dihydroartemisinin (DHA).....	130
<i>Abbildung 3-46</i> Strukturen der eingesetzten Testsubstanzen.....	130
<i>Abbildung 3-47</i> Parasitämie am 3. Tag nach Behandlung der Kultur mit verschiedenen Substanzkonzentrationen von 3e, 15c und 22.....	131
<i>Abbildung 3-48</i> Parasitämie am 3. Tag nach Behandlung der Kultur mit verschiedenen Substanzkonzentrationen des Nebenproduktes Azomethin sowie von 16b und 3b.....	132
<i>Abbildung 3-49</i> Strukturformeln der an HIV-infizierten Zellen getesteten Derivate.....	134
<i>Abbildung 3-50</i> In-vitro-Effekte von 17 und 16a auf HIV-1 BaL.....	135
<i>Abbildung 3-51</i> Strukturen zur logP-Wert-Bestimmung herangezogener Verbindungen.....	141
<i>Abbildung 4-1</i> Erfolgreich synthetisierte Zielverbindungen.....	145
<i>Abbildung 4-2</i> Die 4-Hydroxychinoloncarbonsäureester 20.....	146
<i>Figure 5-1</i> Successfully synthesized lead compounds.....	148
<i>Figure 5-2</i> 4-Hydroxychinoloncarboxylic acid esters 20.....	149
<i>Abbildung 6-1</i> Kalibriergerade der Referenzsubstanzen.....	233

7 LITERATURVERZEICHNIS

- ¹ <http://www.mmv.org>: MMV-Annual Report **2008**
- ² WHO, World Malaria Report **2009**, http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2009/en
- ³ Snow R.W.; Guerra C.A.; Noor A.M.; Myint H.Y.; Hay S.I. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature* (**2005**) 434, 214-217
- ⁴ WHO-Website:
http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_Malaria_ITHRiskMap.JPG
- ⁵ <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/Malaria.htm>
- ⁶ Fitch C.D. Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids and the antimalarial actions of quinoline drugs. *Life Sciences* (**2004**) 74, 1957-1972
- ⁷ Stich A.; Schlitzer M. Wirkstoffe zur Therapie und Prophylaxe der Malaria. *Chemother J* (**2008**) 17, 37-56
- ⁸ Schwedhelm K.F.; Horstmann M.; Faber J.H.; Reichert Y.; Büchner M.; Bringmann G.; Faber C. Spin state chloroquine-heme complexes: formation of a hemin tetramer adduct. *The Open Spectroscopy J* (**2008**) 2, 10-18
- ⁹ Schlitzer M. Malaria Chemotherapeutics Part I: History of antimalarial drug development, currently used therapeutics and drugs in clinical development. *ChemMedChem* (**2007**) 2, 944-986
- ¹⁰ Schlitzer M. Antimalarial drugs - what is in use and what is in the pipeline. *Arch Pharm Chem Life Sci* (**2008**) 341, 149-163
- ¹¹ Ridley R.G. Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. *Nature* (**2002**) 415, 686-693
- ¹² Adjei G.O.; Goka B.Q.; Rodrigues O.P.; Hoegberg L.C.G.; Alifrangis M.; Kurtzhals J.A.L. Amodiaquine-associated adverse effects after inadvertent overdose and after a standard therapeutic dose. *Ghana Med J* (**2009**) 43, 135-138
- ¹³ Bray P.G.; Martin R.E.; Tilley L.; Ward S.A.; Kirk K.; Fidock D.A. Defining the role of PfCRT in *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance. *Mol Microbiol* (**2005**) 56, 323-333
- ¹⁴ Valderramos S.G.; Fidock D.A. Transporters involved in resistance to antimalarial drugs. *Trends Pharmacol Sci* (**2006**) 27 (11), 594-601
- ¹⁵ Nzila A. The past, present and future of antifolates in the treatment of *Plasmodium falciparum* infection. *J Antimicrob Chemother* (**2006**) 57, 1043- 1054
- ¹⁶ O'Neill P.M.; Posner G.H. A medicinal chemistry perspective on artemisinin and related endoperoxides. *J Med Chem* (**2004**) 47, 2945-2964
- ¹⁷ Krishna S.; Woodrow C.J.; Staines H.M.; Haynes R.K.; Mercereau-Puijalon O. Re-evaluation of how artemisinins work in light of emerging evidence of *in vitro* resistance. *Trends Mol Medicine* (**2006**) 12, 201-205
- ¹⁸ Wang J.; Huang L.; Li J.; Fan Q.; Long Y.; Li Y.; Zhou B. Artemisinin directly targets malarial mitochondria through its specific mitochondrial activation. *Plos one* (2010) 5, e9582

- ¹⁹ Golenser J.; Waknine J.H.; Krugliak M.; Hunt N.H.; Grau G.E. Current perspectives on the mechanism of action of artemisinin and related endoperoxides. *Int J Parasitol* (2006), 1427-1441
- ²⁰ Grellier P.; Depoix D.; Schrével J.; Florent I. Discovery of new targets for antimalarial chemotherapy. *Parasite* (2008) 15, 219-225
- ²¹ Moore C.M.; Hoey E.M.; Trudgett A.; Timson D.J. Artemisinins act through at least two targets in a yeast model. *FEMS Yeast Research* (2011) 11, 233-237
- ²² Newton P.N.; Barnes K.I.; Smith P.J.; Evans A.C.; Chierakul W.; Ruangveerayuth R.; White N.J. The pharmacokinetics of intravenous artesunate in adults with severe falciparum malaria. *Eur J Clin Pharmacol* (2006) 62, 1003-1009
- ²³ Nosten F.; White N.J. Artemisinin-based combination treatment of falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg* (2007) 77, 181-192
- ²⁴ Saralamba S.; Pan-Ngum W.; Maude R.J.; Lee S.J.; Tarning J.; Lindegardh N.; Chotivanich K.; Nosten F.; Day N.P.; Socheat D.; White N.J.; Dondorp A.M.; White L.J. Intrahost modeling of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci USA* (2011) 108, 397-402
- ²⁵ siehe WHO-Webseite: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr02/en/index.html>
- ²⁶ WHO 2010: Global Malaria Programme: Good procurement practices for artemisinin-based antimalarial medicines. Siehe WHO-Website:
<http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241598927/en/index.html>
- ²⁷ Schlitzer M. Malaria: Lebensrettende Prophylaxe und Therapie. *Pharm Ztg* (2010) 155, 1114-1121
- ²⁸ Eastman R.T.; Fidock D.A. Artemisinin-based combination therapies: a vital tool in efforts to eliminate malaria. *Nature Rev Microbiol* (2009) 7, 864-874
- ²⁹ Greenwood B.M.; Bojang K.; Whitty C.J.M.; Targett G.A.T. Malaria. *Lancet* (2005) 365, 1487-1498
- ³⁰ WHO 2010: Guidelines for the treatment of malaria, 2nd edition. Siehe WHO-Website:
<http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241547925/en/index.html>
- ³¹ Kaiser A.; Maier W. Neue Therapieansätze zur Behandlung der Malaria. *Dtsch Med Wochenschr* (2002) 127, 1595-1600
- ³² Olliaro P.L.; Taylor W.R. Developing artemisinin based drug combinations for the treatment of drug resistant falciparum malaria: A review. *J Postgrad Med* (2004) 50, 40-44
- ³³ Painter H.J.; Morrisey J.M.; Mather M.W.; Vaidya A.B. Specific role of mitochondrial electron transport in blood-stage *Plasmodium falciparum*. *Nature* (2007) 446, 88-91
- ³⁴ Beutler E.; Duparc S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and antimalarial drug development. *Am J Trop Med Hyg* (2007) 779-789
- ³⁵ Burgoine K.L.; Bancone G.; Nosten F. The reality of using primaquine. *Malar J* (2010) 9, 376-381

- ³⁶ Poravuth Y.; Socheat D.; Rueangweerayut R.; Uthaisin C.; Phyo A.P.; Valecha N.; Rao B.H.K.; Tjitra E.; Purnama A.; Borghini-Fuhrer I.; Duparc S.; Shin C.-S.; Fleckenstein L. Pyronaridine-artesunate versus chloroquine in patients with acute *Plasmodium vivax* malaria: a randomized, double-blind, non-inferiority trial. *Plos one* (2011) 6, e14501
- ³⁷ Simarro P.P.; Jannin J.; Cattand P. Eliminating human African Trypanosomiasis: where do we stand and what comes next? *Plos Medicine Negl Dis* (2008) 5, e55, 174-180
- ³⁸ siehe WHO-Webseite:
http://www.who.int/neglected_diseases/integrated_media/integrated_media_hat_june_2010/en/index.html
- ³⁹ Clayton J.; Coura J.R.; Vinas; Petherick A. Chagas disease: a new hope for this neglected disease. *Nature* (2010) 465, No. 7301 Suppl, S3-S22
- ⁴⁰ Hall B.S.; Bot C.; Wilkinson S.R. Nifurtimox activation by trypanosomal type I nitroreductases generates cytotoxic nitrile metabolites. *J Biol Chem* (2011) article in press doi/10.1074/jbc.M111.230847
- ⁴¹ Maya J.D.; Cassels B.K.; Iturriaga-Vásquez P.; Ferreira J.; Faúndez M.; Galanti N.; Ferreira A.; Morello A. Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host. *Comp Biochem and Physiol, Part A* (2007) 146, 601-620
- ⁴² Cavalli A.; Bolognesi M.L.; Neglected tropical diseases: multi-target-directed ligands in the search for novel lead candidates against *Trypanosoma* and *Leishmania*. *J Med Chem* (2009) 52, 7339-7359
- ⁴³ Buckner F.S.; Navabi N. Advances in Chagas disease drug development: 2009-2010. *Curr Opin Infect Dis* (2010) 23, 609-616
- ⁴⁴ Docampo R.; Moreno S.N.J. Current chemotherapy of human African trypanosomiasis. *Parasitol Res* (2003) 90, S10-S13
- ⁴⁵ Stich A.; Barrett M.P.; Krishna S. Waking up to sleeping sickness. *Trends Parasitol* (2003) 19, 195-197
- ⁴⁶ Krauth-Siegel R.L.; Meiering S.K.; Schmidt H. The parasite-specific trypanothione metabolism of *Trypanosoma* and *Leishmania*. *Biol Chem* (2003) 384, 539-549
- ⁴⁷ Krauth-Siegel R.L.; Bauer H.; Schirmer R.H. Dithiolproteine als Hüter des intrazellulären Redoxmilieus bei Parasiten: alte und neue Wirkstoff-Targets bei Trypanosomiasis und Malaria. *Angew Chem* (2005) 117, 698-724
- ⁴⁸ Barrett M.P.; Boykin D.W.; Brun R.; Tidwell R.R Human African trypanosomiasis: pharmacological re-engagement with neglected disease. *Br J Pharmacol* (2007) 152, 1155-1171
- ⁴⁹ Croft S.L.; Barrett M.P.; Urbina J.A. Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. *Trends in Parasitol* (2005) 21, 508-512
- ⁵⁰ Kaiser A.; Gottwald A. M.; Wiersch C. S.; Maier W. A.; Seitz H. M. Spermidine metabolism in parasitic protozoa – a comparison to the situation in prokaryotes, viruses, plants and fungi. *Folia Parasitologica* (2003) 50, 3-18
- ⁵¹ http://www.who.int/leishmaniasis/burden/magnitude/burden_magnitude/en/index.html
- ⁵² <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

- ⁵³ Frézard F.; Martins P.; Barbosa M.; Pimenta A.; Ferreira W.; de Melo J.; Mangrum J.; Demicheli C. New insights into the chemical structure and composition of the pentavalent antimonial drugs, meglumine antimonate and sodium stibogluconate. *J Inorg Biochem* (2008) 102, 656-665
- ⁵⁴ Wyllie S.; Cunningham M.L.; Fairlamb A.H. Dual action of antimonial drugs on thiol redox metabolism in the human pathogen *Leishmania donovani*. *J Biol Chem* (2004) 279, 39925-39932
- ⁵⁵ Baiocco P.; Colotti G.; Franceschini S.; Ilari A. Molecular basis of antimony treatment in leishmaniasis. *J Med Chem* (2009) 52, 2603-2612
- ⁵⁶ Croft S.L.; Sundar S.; Fairlamb A.H. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* (2006) 19, 111-126
- ⁵⁷ Basselin M.; Coombs G.H.; Barrett M.P. Putrescine and spermidine transport in *Leishmania*. *Mol. Biochem. Parasitol* (2000) 109, 37-46
- ⁵⁸ Murray H.W.; Berman J.D.; Davies C.R.; Saravia N.G. Advances in leishmaniasis. *Lancet* (2005) 366, 1561-1577
- ⁵⁹ Das Manandhar K.; Yadav T.P.; Prajapati V.K.; Kumar S.; Rai M.; Dube A.; Srivastava O.N.; Sundar S. Antileishmanial activity of nano-amphotericin B deoxycholate. *J Antimicrob Chem* (2008) 62, 376-380
- ⁶⁰ Fernandez M.M.; Malchiodi E.L.; Algranati I.D. Differential effects of paromomycin of *Leishmania mexicana* and mammalian cells. *Antimicrob Agents Chemother* (2011) 55, 86-93
- ⁶¹ Casero R.A.; Marton L.J. Targeting polyamine metabolism and function in cancer and other hyperproliferative diseases. *Nat Rev Drug Discov* (2007) 6, 373-390
- ⁶² Kaiser A.; Gottwald A.; Maier W.; Seitz H.M. Effect of drug inhibiting spermidine biosynthesis and metabolism on the in vitro development of *P. falciparum*. *Parasitol Res* (2001) 87, 963-972
- ⁶³ Müller S.; Coombs G. H.; Walter R. D. Targeting polyamines of parasitic protozoa in chemotherapy. *Trends Parasitol* (2001) 17 (5), 242-249
- ⁶⁴ Das Gupta R.; Krause-Ihle T.; Bergmann B.; Müller I.B.; Khomutov A.R.; Müller S.; Walter R.D.; Lüersen K. 3-Aminoxy-1-aminopropane and derivatives have an antiproliferative effect on cultured *Plasmodium falciparum* by decreasing intracellular polyamine concentrations. *Antimicrob Agents Chemother* (2005) 49 (7) 2857-2864
- ⁶⁵ Kaiser A.; Ulmer D.; Goebel T.; Holzgrabe U.; Saefel M.; Hoerauf A. Inhibition of hypusine biosynthesis in plasmodia: a possible, new strategy in prevention and therapy of malaria. *Mini-Rev Med Chem* (2006) 6, 1231-1241
- ⁶⁶ Kaiser A.; Gottwald A.; Maier W.; Seitz H.M. Targeting enzymes involved in spermidine metabolism of parasitic protozoa – a possible new strategy for anti-parasitic treatment *Parasitol Res* (2003) 91, 508-516
- ⁶⁷ Seiler N. Catabolism of polyamines. *Amino Acids* (2004) 26, 217-233
- ⁶⁸ Müller S.; Da`dara A.; Lüersen K.; Wrenger K.; Das Guptas R.; Madhubala R.; Walter R.D. In the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*, polyamines are synthesized by a bifunctional ornithine decarboxylase, S-adenosylmethionine decarboxylase. *J Biol Chem* (2000) 275 (11) 8097-8102

- ⁶⁹ Willert E. K.; Phillips M. A. Regulated expression of an essential allosteric activator of polyamine biosynthesis in African Trypanosomes. *Plos Pathogens* (2008) 4 (10), 1-12
- ⁷⁰ Haider N.; Eschbach M.-L.; Dias S.S.; Gilberger T.-W.; Walter R.D.; Lüersen K. The spermidine synthase of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*: molecular and biochemical characterisation of the polyamine synthesis enzyme. *Mol Biochem Parasitol* (2005) 142, 224-236
- ⁷¹ Birkholtz L.-M.; Wrenger C.; Joubert F.; Wells G.A.; Walter R.D.; Louw A.I. Parasite-specific inserts in the biofunctional S-adenosylmethionine decarboxylase/ornithine decarboxylase of *Plasmodium falciparum* modulate catalytic activities and domain interactions. *Biochem J* (2004) 377, 439-448
- ⁷² Oza S.L.; Tetaud E.; Ariyanayagam M.R.; Warnon S.S.; Fairlamb A.H. A single enzyme catalyses formation of Trypanothione from Glutathione and Spermidine in *Trypanosoma cruzi*. *J Biol Chem* (2002) 277, 35853-35861
- ⁷³ Krauth-Siegel L.R. The trypanthione system. *Subcell Biochem* (2007) 44, 231-251
- ⁷⁴ Krauth-Siegel R.L.; Coombs G.H. Enzymes of parasite thiol metabolism as drug targets. *Parasitology Today* (1999) 15 (10) 404-409
- ⁷⁵ Torrie L.S.; Wyllie S.; Spinks D.; Oza S.L.; Thompson S.; Harrison J.R.; Gilbert I.H.; Wyatt P.G.; Fairlamb A.H.; Frearson J.A. Chemical validation of Trypanothione Synthetase: a potential drug target for human Trypanosomiasis. *J Biol Chem* (2009) 284, 36137-36145
- ⁷⁶ Molitor I.M.; Knöbel S.; Dang C.; Spielmann T.; Alléra A.; König G.M. Translation initiation factor eIF-5A from *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* (2004) 137, 65-74
- ⁷⁷ Smithson D.C.; Lee J.; Shelat A.A.; Phillips M.A.; Guy R.K. Discovery of potent and selective inhibitors of *Trypanosoma brucei* ornithine decarboxylase. *J Biol Chem* (2010) 285, 16771-16781
- ⁷⁸ Casara P.; Marchal P.; Wagner J.; Danzin C. 5'-[(Z)-4-Amino-2-butenyl]methylamino-5'-deoxyadenosine: a potent enzyme-activated irreversible inhibitor of S-Adenosyl-L-methionine decarboxylase from *Escherichia coli*. *J Am Chem Soc* (1989) 111, 9111-9113
- ⁷⁹ Barker R.H.; Liu H.; Bradford H.; Celatka C.A.; Fitzpatrick R.; Xiang Y.; Willert E.K.; Phillips M.A.; Kaiser M.; Bacchi C.J.; Rodriguez A.; Yarlett N.; Klinger J.D.; Sybertz E. Novel S-Adenosylmethionine decarboxylase inhibitors for the treatment of human African trypanosomiasis. *Antimicrob Ag Chemother* (2009) 53, 2052-2058
- ⁸⁰ Moritz E.; Seidensticker S.; Gottwald A.; Maier W.; Hoerauf A.; Njuguana J.T.; Kaiser A. The efficacy of inhibitors involved in spermidine metabolism in *Plasmodium falciparum*, *Anopheles stephensi* and *Trypanosoma evansi*. *Parasitol Res* (2004) 94, 37-48
- ⁸¹ Park M.H.; Wolff E.C. Cell-free synthesis of deoxyhypusine. *J Biol Chem* (1988) 263, 15264-15269
- ⁸² Abbruzese A.; Park M.H.; Folk J.E. Deoxyhypusine hydroxylase from rat testis. *J Biol Chem* (1986) 261, 3085-3089
- ⁸³ Wolff E.C.; Kang K.R.; Kim Y.S.; Park M.H. Posttranslational synthesis of hypusine: evolutionary progression and specificity of the hypusine modification. *Amino Acids* (2007) 33 (2), 341-350

- ⁸⁴ Rosorius O.; Reichert B.; Kratzer F.; Heger P.; Dabauvalle M.C.; Hauber J. Nuclear pore localization and nucleocytoplasmic transport of eIF-5A: evidence for direct interaction with the export receptor CRM1. *J Cell Sci* (1999) 112, 2369-2380
- ⁸⁵ Zanelli C.F.; Maragno A.L.C.; Gregio A.P.B.; Komili S.; Pandolfi J.R.; Mestriner C.A.; Lustrì W.R.; Valentini S.R. eIF5A binds to translational machinery components and effects translation in yeast. *Biochem Biophys Res Commun* (2006) 348, 1358-1366
- ⁸⁶ Park M.H.; Wolff E.C.; Lee Y.B.; Folk J.E. Antiproliferative effects of inhibitors of deoxyhypusine synthase: inhibition of growth of Chinese hamster ovary cells by guanyl diamines. *J Biol Chem* (1994) 269 27827-27832
- ⁸⁷ Hanauske-Abel H.M.; Park M.H.; Hanauske A.R.; Popowitz A.M.; Lalande M.; Folk J.E. Inhibition of the G1-S transition of the cell cycle by inhibitors of deoxyhypusine hydroxylation. *Biochim Biophys Acta* (1994) 1221, 115-124
- ⁸⁸ Umland T.C.; Wolff E.C.; Park M.H.; Davies D.R. A new crystal structure of deoxyhypusine synthase reveals the configuration of the active enzyme and of an enzyme-NAD-inhibitor ternary complex. *J Biol Chem* (2004) 279, 28697-28705
- ⁸⁹ Lee Y.B.; Folk J.E. Branched chained and unsaturated 1,7-diaminoheptane derivatives as deoxyhypusine synthase inhibitors. *Bioorg Med Chem* (1998) 6, 253-270
- ⁹⁰ Lee Y.; Kim H.K.; Park H.-E.; Park M.H.; Joe Y.A. Effect of N1-guanyl-1,7-diaminoheptane, an inhibitor of deoxyhypusine synthase, on endothelial cell growth, differentiation and apoptosis. *Mol Cell Biochem* (2002) 237, 69-76
- ⁹¹ Njuguna J.T.; Nassar M.; Hoerauf A.; Kaiser A. Cloning, expression and functional activity of deoxyhypusine synthase from *Plasmodium vivax*. *BMC Microbiol* (2006) 6, 91
- ⁹² Ruhl M.; Himmelspach M.; Bahr G.M.; Hammerschmid F.; Jaksche H.; Wolff B.; Aschauer H.; Farrington G.K.; Probst H.; Bevec D.; Hauber J. Eukaryotic initiation factor 5A is a cellular target of the human immunodeficiency virus type 1 Rev activation domain mediating trans-activation. *J Cell Biol* (1993) 123, 1309-1320
- ⁹³ Hauber I.; Bevec D.; Heukeshoven J.; Krätzer F.; Horn F.; Choidas A.; Harrer T.; Hauber J. Identification of cellular deoxyhypusine synthase as a novel target for antiretroviral therapy. *J Clin Invest* (2005) 115, 76-85
- ⁹⁴ Andrus L.; Szabo P.; Grady R.W.; Hanauske A.-R.; Huima-Byron T.; Slowinska B.; Zagulska S.; Hanauske-Abel H.M. Antiretroviral effects of deoxyhypusyl hydroxylase inhibitors. *Biochem Pharmacol* (1998) 55, 1807-1818
- ⁹⁵ Kim A.S.; Kang K.R.; Wolff E.C.; Bell J.K.; McPhie P.; Park M.H. Deoxyhypusine hydroxylase is an Fe(II)-dependent, heat-repeat enzyme. *J Biol Chem* (2006) 281 (19) 13217-13225
- ⁹⁶ Park M.H. The post-translational synthesis of a polyamine-derived amino acid, hypusine, in the eukaryotic translation initiation factor 5A (eIF5A). *J Biochem* (2006) 139, 1-9

- ⁹⁷ Kang K. R.; Kim Y.S.; Wolff E.C.; Park M.H. Specificity of the deoxyhypusine hydroxylase-eukaryotic translation initiation factor (eIF5A) interaction. *J Biol Chem* (2007) 282 (11), 8300-8308
- ⁹⁸ Park J.-H.; Aravind L.; Wolff E.C.; Kaevel J.; Kim Y.S.; Park M.H. Molecular cloning, expression and structural prediction of deoxyhypusine hydroxylase: a HEAT-repeat-containing metalloenzyme. *PNAS (Proc Natl Acad Sci USA)* (2006) 103 (1), 51-56
- ⁹⁹ Kerscher B.; Nzukou E.; Kaiser A. Assessment of deoxyhypusine hydroxylase as a putative, novel drug target. *Amino Acids* (2010) 38, 471-477
- ¹⁰⁰ Frommholz D.; Kusch P.; Blavid R.; Scheer H.; Tu J.M.; Marcus K.; Zhao K.H.; Atemnkeng V.; Marciniak J.; Kaiser A. Completing the hypusine pathway in *Plasmodium*. *FEBS J* (2009) 276, 5881-5891
- ¹⁰¹ Clement P.M.J.; Hanauske-Abel H.M.; Wolff E.C.; Kleinmann H.K.; Hee Park M. The antifungal drug ciclopirox inhibits deoxyhypusine and proline hydroxylation, endothelial cell growth and angiogenesis *in vitro*. *Int J Cancer* (2002) 100, 491-498
- ¹⁰² Csonga R.; Ettmayer P.; Auer M.; Eckerskorn C.; Eder J.; Klier H. Evaluation of the metal ion requirement of the human deoxyhypusine hydroxylase from HeLa cells using a novel enzyme assay. *FEBS Letters* (1996) 380, 209-214
- ¹⁰³ Abbruzzese A.; Hanauske-Abel H.M.; Park M.H.; Henke S.; Folk J.E. The active site of deoxyhypusyl hydroxylase: use of catecholpeptides and their component chelator and peptide moieties as molecular probes. *Biochim Biophys Acta* (1991) 1077, (2) 159-166
- ¹⁰⁴ du Moulinet d'Hardemare A.; Torelli S.; Serratrice G.; Pierre J.-L. Design of iron chelators: syntheses and iron (III) complexing abilities of tripodal bis-bidentate ligands. *BioMetals* (2006) 19, 349-366
- ¹⁰⁵ Dong Z.; Arnold R.J.; Yang Y.; Park M.H.; Hrnčirova P.; Mechref Y.; Novotny M.V.; Zhang J.-T. Modulation of differentiation-related Gene 1 expression by cell cycle blocker mimosine, revealed by proteomic analysis. *Mol Cell Proteomics* (2005) 4, 993-1001
- ¹⁰⁶ Sigle H.-C.; Thewes S.; Niewerth M.; Korting H. C.; Schäfer-Korting M.; Hube B. Oxygen accessibility and iron levels are critical factors for the antifungal action of ciclopirox against *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother* (2005) 55, 663-673
- ¹⁰⁷ Saefel M.; Sarite R.S.; Njuguna T.; Holzgrabe U.; Ulmer D.; Hoerauf A.; Kaiser A. Piperidones with activity against *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Res* (2006) 99, 281-286
- ¹⁰⁸ Goebel T.; Ulmer D.; Hoerauf A.; Kaiser A.; Hauber J.; Holzgrabe U. In search of novel agents for therapy of tropical diseases and human immunodeficiency virus. *J Med Chem* (2008) 51, 238-250
- ¹⁰⁹ Ashauer-Holzgrabe U.; Haller R. Zur Umsetzung von N-benzylsubstituierten Piperidincarbonsäureestern mit Cer(IV)-sulfat. *Arch Pharm (Weinheim)* (1986) 319, 1079-1083
- ¹¹⁰ Holzgrabe U.; Piening B.; Kohlmorgen R.; Stoll E. Synthese verschieden substituierter 5-Oxo-2,6-methano-2-benzazocine. *Arch Pharm (Weinheim)* (1988) 321, 917-920
- ¹¹¹ Hänsel W.; Haller R. Metallchelate substituierter heterocyclischer β -Keto-dicarbonsäureester. *Chem Ber* (1970) 103, 3737-3743

- ¹¹² Petrenko-Kritschenko P.; Zoneff N. Über die Condensation von Aceton-dicarbonssäureester mit Benzaldehyd unter Anwendung von Ammoniak. *Ber Dtsch chem Ges* (1906) 39, 1358-1361
- ¹¹³ Haller R. Metallchelat pyridyl-(2)-substituierter Piperidone und Piperidinole. *Arch Pharm (Weinheim)* (1968) 301, 741-749
- ¹¹⁴ Haller R.; Kohlmorgen R. Synthese und Struktur substituierter N-Benzyl-piperidon-carbonsäureester. *Arch Pharm (Weinheim)* (1976) 309, 206-214
- ¹¹⁵ Börzel H.; Comba P.; Hagen K.S.; Lampeka Y.D.; Lienke A.; Linti G.; Merz M.; Pritzkow H.; Tsybal L.V. Iron coordination chemistry with tetra-, penta- and hexadentate bispidine-type ligands. *Inorg Chim Acta* (2002) 337, 407-419
- ¹¹⁶ Bissett D.L.; McBride J.F. Synergistic topical photoprotection by a combination of the iron chelator 2-furildioxime and sunscreen. *J Am Acad Dermatol* (1996) 35 (4), 546-549
- ¹¹⁷ Petrenko-Kritschenko P.; Lewin M. Über die Kondensation der Aceton-dicarbonssäureester mit Aldehyden vermittelt Ammoniak und Aminen. 2. Mitteilung. *Ber Dtsch chem Ges* (1907) 40, 2882-288
- ¹¹⁸ Petrenko-Kritschenko P. Über die Kondensation der Aceton-dicarbonssäureester mit Aldehyden vermittelt Ammoniak und Aminen. 5. Mitteilung. *Ber Dtsch chem Ges* (1909) 42, 3683-3694
- ¹¹⁹ Mannich C. Über offenes Ekgonin und Tropin. *Arch Pharm (Weinheim)* (1934) 272, 323-359
- ¹²⁰ Merz K.W.; Räuchle K. Synthesen mit Pyridin- und Chinolinaldehyden. III. Mitt.: 2,6-disubstituierte Piperidonderivate. *Arch Pharm (Weinheim)* (1960) 293, 968-985
- ¹²¹ Merz K.W.; Haller R. Synthesen mit Pyridin- und Chinolinaldehyden. 4.Mitt.: Heterocyclisch substituierte Piperidondicarbonssäureester. *Pharm Acta Helv* (1963) 38, 442-456
- ¹²² Haller R. Zur Synthese 2,6-disubstituierter Piperidonmonocarbonssäureester. *Arch Pharm (Weinheim)* (1965) 298, 787-794
- ¹²³ Noller C.R.; Baliah V. The preparation of some piperidine derivatives by the Mannich reaction *J Am Chem Soc* (1948) 70, 3853-3855
- ¹²⁴ Merz K. W.; Müller E.; Haller R. Zur Desmotropie bei Piperidon-dicarbonssäureestern. *Chem Ber* (1965) 98, 2317-2321
- ¹²⁵ Hänsel W.; Haller R. Zur Keto-Enol-Tautomerie bei heterocyclischen β -Ketocarbonssäureestern. 4. Mitteilung: Kernresonanzspektroskopische Untersuchungen an enolisierten Piperidondicarbonssäureestern. *Pharmazie* (1970) 303, 319-322
- ¹²⁶ Haller R.; Friebolin Konfiguration und Konformation herterocyclischer β -Ketodicarbonssäureester und ihrer Reduktionsprodukte. *Z Naturforschung* (1968) 23b, 650-655
- ¹²⁷ Hänsel W.; Haller R. Zur Keto-Enol-Tautomerie bei heterocyclischen β -Ketocarbonssäureestern. 3. Mitteilung: Konfiguration und Konformation bei 2,6-dialkylsubstituierten β -Ketodicarbonssäureester. *Arch Pharm (Weinheim)* (1969) 302, 147-151

- ¹²⁸ Holzgrabe U.; Piening B.; Hesse K. F.; Höltje H.-D.; Worch M. Stereochemistry of 2,6-dipyridine substituted N-benzyl-4-piperidone mono- and dicarboxylates and of the corresponding reduction products. *Z Naturforschung* (1989) 44b, 565-574
- ¹²⁹ Holzgrabe U.; Friedrichsen W.; Hesse K.-F. Keto-enol-tautomerism and configurational isomerism of 2,6-disubstituted 4-piperidone-3,5-dicarboxylates. *Z Naturforsch* (1991) 46b, 1237-1250
- ¹³⁰ Hänsel W.; Haller R. Zur Keto-Enol-Tautomerie bei heterocyclischen β -Ketocarbonsäureestern. 7.Mitt. IR-Spektroskopische Befunde *Arch Pharm (Weinheim)* (1970) 303, 819-825
- ¹³¹ Kawazoe Y.; Tsuda M. *Chem Pharm Bull* (1967) Tokyo 15, 1405
- ¹³² Holzgrabe U.; Erciyas E. Synthese und Stereochemie potentiell stark analgetischer 2,4-m-diarylsubstituierter 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on-1,5-diester. *Arch Pharm (Weinheim)* (1992) 325, 657-663
- ¹³³ Siener T.; Holzgrabe U.; Drosihn S.; Brandt W. Conformational and configurational behavior of κ -agonistic 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-ones - synthesis, nuclear magnetic resonance studies and semiempirical PM3 calculations. (1999) *J Chem Soc, Perkin Trans 2*: 1827-1834
- ¹³⁴ Hänsel W.; Haller R. Zur Keto-Enol-Tautomerie bei heterocyclischen β -Ketocarbonsäureestern – V. Bestimmung der Gleichgewichtslage und der Umlagerungsgeschwindigkeit bei 2,6-dialkylsubstituierten β -Ketodicarbonsäureestern. *Tetrahedron* (1970) 26, 2027-2034
- ¹³⁵ Kuhl U. Synthese und Opioidrezeptor-Affinität verschieden substituierter 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonanone. *Dissertation* (2000), Universität Würzburg
- ¹³⁶ Hänsel W.; Haller R. Zur Struktur von Kondensationsprodukten aus Acetondicarbonsäureestern und Aldehyden. *Arch Pharm (Weinheim)* (1970) 303, 334-338
- ¹³⁷ Siener T. Synthese von 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonanonen – Potentielle Liganden des κ -Rezeptors. *Dissertation* (1997), Universität Bonn
- ¹³⁸ Kuhl U.; Holzgrabe U. A sequence of aldol condensations and a *Michael* addition giving a cyclohexanone ring system. *Monatsh Chem* (2001) 132, 407-410
- ¹³⁹ Knoevenagel E. *Liebigs Ann Chem* (1895) 288, 347
- ¹⁴⁰ Fahey R.C., Graham G.C., Piccioni R.L. Molecular orbital calculations of spin-spin coupling constants for hydrocarbons. *J Amer Chem Soc* (1966) 88, 193-197
- ¹⁴¹ Willstätter R.; Pfannenstiel A. Über Succinyldiessigsäureester. *Liebigs Ann Chem* (1921) 422, 1-15
- ¹⁴² Bhargava P.N.; Saxena I.D. 2,6-Diaryl-3-ethoxycarbonyl-4-piperidones and their N-methyl derivatives. *J Ind Chem Soc* (1958) 35, 614-615
- ¹⁴³ Ram V.J.; Pandey H.N. Piperidones as potential anticancer agents. *J Ind Chem Soc* (1974) 11, 878-879
- ¹⁴⁴ Srinivasan M.; Perumal S.; Selvaraj S. (L)-Proline catalysed efficient synthesis of 3-substituted 2,6-diarylpiperidin-4-ones. *Arkivoc* (2005) xi, 201-208
- ¹⁴⁵ Movassaghi M.; Jacobson E.N. The simplest “enzyme”. *Science* (2002) 298, 1904-1905

- ¹⁴⁶ List B.; Pojarliev P.; Biller W.T.; Martin H.J. The proline-catalyzed direct asymmetric three-component Mannich reaction: scope, optimization and application to the highly enantioselective synthesis of 1,2-amino alcohols. *J Am Chem Soc* (2005) 124, 827-833
- ¹⁴⁷ www.ioc-praktikum.de, Reaktionen der Carbonylfunktionen in Aldehyden, Ketonen, Carbonsäuren und Carbonsäurederivaten. Versuch 4.2.2.9 Enzymatische Hydrolyse von *meso-cis*-4-Cyclohexen-1,2-dicarbonsäuredimethylester zu (*1R,2R*)-*cis*-4-Cyclohexen-1,2-dicarbonsäure-1-methylester mit Schweineleberesterase.
- ¹⁴⁸ Srinivasan M.; Perumal S.; Selvaraj S. Synthesis, stereochemistry and antimicrobial activity of 2,6-diaryl-3-(arylthio)piperidin-4-ones. *Chem Pharm Bull* (2006) 54, 795-801
- ¹⁴⁹ Haller R.; Ziriakus W. Konfigurationszuordnung an Piperidonoximen durch NMR-Spektroskopie. *Arch Pharm (Weinheim)* (1972) 305, 741-746
- ¹⁵⁰ Folkes A.; Brown S.D.; Canne L.E.; Chan J.; Engelhardt E.; Epshteyn S.; Faint R.; Golec J.; Hanel A.; Kearney P.; Leahy J.W.; Mac M.; Matthews D.; Prisbylla M.P.; Sanderson J.; Simon R.J.; Tesfai Z.; Vicker N.; Wang S.; Webb R.R.; Charlton P. Design, synthesis and *in vitro* evaluation of potent, novel, small molecule inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1. *Bioorg Med Chem Lett* (2002) 12, 1063-1066
- ¹⁵¹ Zhao X.Z.; Semenova E.A.; Vu B.C.; Maddali K.; Marchand C.; Hughes S.H.; Pommier Y.; Burke jr. T.R. 2,3-Dihydro-6,7-dihydroxy-1H-isoindol-1-one-based HIV-1 integrase inhibitors. *J Med Chem* (2008) 51, 251-259
- ¹⁵² Rüz B.; Iten M.; Grether-Bühler Y.; Kaminsky R.; Brun R. The Almar Blue assay to determine drug sensitivity of African Trypanosomes (*T. brucei rhodesiense* and *T. brucei gambiense*) *in vitro*. *Acta Tropica* (1997) 68, 139-147
- ¹⁵³ Huber W.; Koella J.C. A comparison of three methods of estimating EC₅₀ instudies of drug resistance of malaria parasites. *Acta Trop* (1993) 55, 257-261
- ¹⁵⁴ Makler M.T.; Ries J.M.; Williams J.A.; Bancroft J.E.; Piper R.C.; Gibbins B.L.; Hinriches D.J. Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity. *Am J Trop Med Hyg* (1993) 48, 739-741
- ¹⁵⁵ Moloney M.B.; Pawluk A.R.; Ackland N.R. Plasmodium falciparum growth in deep culture. *Trans R Soc Trop Med Hyg* (1990) 84, 516-518
- ¹⁵⁶ Traeger W.; Williams J. Extracellular (axenic) development *in vitro* of the erythrocytic cycle of *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci USA* (1992) 89, 5351-5355
- ¹⁵⁷ Lipinski, C. A.; Lombard, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev* 2001, 46, 3-26
- ¹⁵⁸ Alptüzün, V.; Prinz, M.; Hörr, V.; Scheiber, J.; Radacki, K.; Fallarero, A.; Vuorela, P.; Engels, B.; Braunschweig, H.; Erciyas, E.; Holzgrabe, U. Interaction of (benzylidene-hydrazono)-1,4-dihydropyridines with β -amyloid, acetylcholine, and butyrylcholine esterases. *Bioorg Med Chem* (2010) 18, 2049-2059

¹⁵⁹ Kiang A.K.; Tan S.F.; Wong W.S. Reactions of acetonedicarboxylic anhydride and its mono- and di-acetyl derivatives with amines. *J Chem Soc C* (1971) 2721-2726

¹⁶⁰ Ulmer D. Piperidinderivate mit biologischer Aktivität. *Dissertation* (2006), Universität Würzburg

¹⁶¹ Shah K.J.; Coats E.A. Design, synthesis and correlation analysis of 7-substituted 4-hydroxyquinolone-3-carboxylic acids as inhibitors of cellular respiration. *J Med Chem* (1977) 20, 1001-1006

¹⁶² Pasquini S.; Botta L.; Semeraro T.; Mugnaini C.; Ligresti A.; Palazzo E.; Maione S.; Di Marzo V.; Corelli F. Investigations on the 4-quinolone-3-carboxylic acid motif. 2. Synthesis and structure-activity relationship of potent and selective Cannabinoid-2 receptor agonists endowed with analgesic activity *in vivo*. *J Med Chem* (2008) 51, 5075-5084

¹⁶³ Hansch C.; Leo A.; Hoekmann D. Exploring QSAR. Hydrophobic, electronic and steric constants. *ACS* (1995) Washington D.C.