

Synthese von dualen
NMDA-Rezeptor-/Dopamin-Rezeptor-Liganden

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Ina Frank
aus Münster/Westf.

Frankfurt (2005)
(DF1)

Vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie der
Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan:	Prof. Dr. H. Schwalbe
1. Gutachter:	Prof. Dr. C. R. Noe
2. Gutachter:	Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec
3. Prüfer:	Prof. Dr. H. Stark
4. Prüfer	Prof. Dr. D. Steinhilber
Datum der Disputation:	29. Mai 2006

Danksagungen

Herrn Prof. Dr. C. R. Noe danke ich für die interessante Themenstellung und die Möglichkeit zum selbständigen wissenschaftlichen Arbeiten.

Meinem ehemaligen Laborkollegen Herrn Dr. A. Duran danke ich für seine Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Für die angenehme Arbeitsatmosphäre danke ich auch allen anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe, unter anderen meinen Basketballern Herrn Dr. T. Pöhler und Herrn Dipl.-Chem. M. Jasic, Frau Apothekerin C. Edling, Herrn Dr. M. Kock, Herrn Dr. B. Lachmann, Herrn Dr. M. Gilbert, Herrn Dr. J. Kruse, Frau Apothekerin B. Linz, Herrn Dr. C. D. Siebert und unserem unerschöpflichen Quell der Heiterkeit Herrn Apotheker R. Lyssy.

Nach dem Wechsel von Prof. Noe nach Wien danke ich besonders Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec für die stete Unterstützung in vielen Belangen, Prof. Dr. H. Stark und seiner Arbeitsgruppe für die freundliche Aufnahme und Bereitstellung der Räumlichkeiten, Prof. Dr. D. Steinhilber und Prof. Dr. M. Karas für die finanziellen Mittel.

Unter den Mitarbeitern des Instituts danke ich besonders Herrn R. Becht, Frau B. Hütter, Herrn U. Moelter und Herrn B. Rosenmeyer für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung.

Für die orthographische Durchsicht dieser Arbeit danke ich meinen Freunden Andrea Schwindt, Andrea Brandt, Annette Tylanda und Thorsten Derlitzki.

Für die kritische fachliche Durchsicht dieser Arbeit danke ich Herrn Dr. C. D. Siebert und Frau Apothekerin B. Sasse.

Frau E. Roos danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren, Frau M. Christoph für die Durchführung der Elementaranalysen und Frau I. Prieß und Frau I. Bill für die Aufnahme der Massenspektren.

Herrn Dr. M. Berger danke ich für die Anleitung und teilweise Durchführung der Bindungsstellenanalysen.

Meiner Familie und Freunden danke ich für nie nachlassende Unterstützung während der gesamten Promotionszeit.

"Man sollte sich nicht schlafen legen, ohne sagen zu können, dass man an diesem Tag was gelernt hat."

Georg Christoph Lichtenberg (1742-1799),
deutscher Physiker, Astronom und Mathematiker

Inhaltsverzeichnis

Allgemeiner Teil	1
1 Einleitung	1
1.1 Wirkstoff-Design.....	2
1.2 Duale Affinität von Liganden	6
2 Glutamat-Rezeptoren.....	10
2.1 Aminosäuren als Neurotransmitter.....	10
2.2 Klassifizierung der Glutamat-Rezeptoren.....	11
2.3 Der NMDA-Rezeptor	12
2.3.1 Struktureller Aufbau des NMDA-Rezeptors.....	13
2.3.2 Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors	14
2.3.2.1 Liganden der Glutamat-Bindungsstelle.....	15
2.3.2.2 Liganden der Glycin-Bindungsstelle.....	16
2.3.2.3 Allosterische Bindungsstellen und Liganden.....	19
2.3.3 Exzitotoxizität	21
2.3.4 Indikationen für NMDA-Rezeptor-Liganden.....	22
3 Dopamin-Rezeptoren	25
3.1 Dopamin	25
3.2 Klassifizierung der Dopamin-Rezeptoren.....	25
3.3 Struktur der Dopamin-Rezeptoren	26
3.4 Lokalisation, Funktion und Signaltransduktion der Dopamin-Rezeptoren.....	27
3.5 Indikationen für Dopamin-Rezeptor-Liganden.....	30
3.5.1 Dopamin-Rezeptor-Agonisten	32
3.5.2 Dopamin-Rezeptor-Antagonisten.....	33
4 Morbus Parkinson	35
4.1 Pathophysiologie und Pathogenese des Morbus Parkinson	35
4.2 Signaltransduktion der extrapyramidal-motorischen Basalganglienschleife	36
4.3 Medikamentöse Therapie des Morbus Parkinson	37
Spezieller Teil.....	41
5 Problemstellung	41
6 Thieno[2,3-<i>b</i>]pyridinone	43

6.1 Strukturvergleich.....	43
6.2 Struktur der Seitenkette in 3-Position der Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinone	46
7 Gewalt-Reaktion.....	48
7.1 Synthese von 2-Aminothiophenen über separate Knoevenagel-Reaktion.....	50
7.2 Synthese von 2-Aminothiophenen über Einführung einer Abgangsgruppe	51
8 Synthese der Thieno[2,3-<i>b</i>]pyridinone 1 und 2 vom Strukturtyp III.....	53
8.1 Synthese von 2-Amino-4-{[2-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino]ethyl}thiophen- 3-carbonsäuremethylester 6	53
8.1.1 (<i>EZ</i>)-5-[(<i>tert</i> -Butoxycarbonyl)amino]-2-cyan-3-methylpent-2-ensäuremethyl- ester 5	54
8.1.2 Gewalt-Reaktion mit (<i>EZ</i>)-5-[(<i>tert</i> -Butoxycarbonyl)amino]-2-cyan-3-methyl-pent- 2-ensäuremethylester 5	55
8.2 Synthese von Verbindung 1 und 2	56
8.2.1 Acetylierung nach Mukaiyama	57
8.2.2 Chlorierung mit <i>N</i> -Chlorsuccinimid	58
8.2.3 Cyclisierung	59
8.3 Synthese von 2-[(Amino)methyl]-4-hydroxy-3-methyl-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7- dihydrothieno[2,3- <i>b</i>]pyridin-6-onhydrochlorid 22	63
9 Synthese der Thieno[2,3-<i>b</i>]pyridinone vom Strukturtyp V und VI	65
9.1 Einführung der <i>N,N</i> -Dialkylamino-Funktion am Anfang der Synthese	65
9.1.1 Synthese des 2-Aminothiophens 25 über Methode (3) der Gewalt-Reaktion	65
9.1.2 Synthese der 2-Aminothiophene 25 und 26 über Methode (4) der Gewalt-Reaktion	67
9.1.2.1 Bromid als Abgangsgruppe.....	67
9.1.2.2 Tosylat als Abgangsgruppe.....	68
9.2 Einführung der <i>N,N</i> -Dialkylamino-Funktion zum Ende der Synthese	72
9.2.1 Synthese der Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinone 45 und 46	74
9.2.1.1 Synthese der 2-Aminothiophene 47 und 48	74
9.2.1.2 Acetylierung und Chlorierung der 2-Aminothiophene 48 und 62	81
9.2.1.3 Cyclisierungsreaktionen mit Verbindung 65 und 66	83
9.2.2 Einführung der <i>N,N</i> -Dialkylamino-Funktion vor der Cyclisierung.....	85
9.2.2.1 Abspaltung der Schutzgruppen	85
9.2.2.2 Einführung der Abgangsgruppe und Substitution durch eine <i>N,N</i> -Dialkyl- amino-Funktion	87

9.2.3 Nachträgliche Alkylierung einer freien Amin-Komponente.....	91
Pharmakologischer Teil.....	94
10 Bindungsstudien	94
10.1 Theoretische Grundlagen der Bindungsstudien	94
10.1.1 Unspezifische Bindung	95
10.1.2 Auswertung von Sättigungs- und Verdrängungsexperimenten.....	97
10.2 Praktische Grundlagen der Bindungsstudien	101
10.2.1 Radioliganden.....	102
10.2.2 Gewebe-Homogenate	103
10.2.3 Trennmethode.....	104
10.2.3.1 Zentrifugation.....	104
10.2.3.2 Filtration	104
10.2.4 Bestimmung der unspezifischen Bindung.....	105
10.2.5 Bestimmung von B_M und K_D	105
10.2.6 Bestimmung von IC_{50} - und K_i -Werten.....	106
10.3 Durchführung und Ergebnisse der Bindungsstudien.....	106
10.3.1 Bestimmung der Affinitäten zur Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors	107
10.3.2 Bestimmung der Affinitäten an Dopamin-Rezeptoren.....	109
Zusammenfassung und Diskussion.....	112
Experimenteller Teil	114
11 Allgemeine Angaben.....	114
12 Chemische Synthesen	116
Anhang	233
13 Abkürzungsverzeichnis.....	233
14 Abbildungsverzeichnis	238
15 Tabellenverzeichnis	240
16 Literaturverzeichnis	241

Allgemeiner Teil

1 Einleitung

Neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Parkinson treten in der heutigen Gesellschaft immer häufiger auf. Dies liegt unter anderem am steigenden Durchschnittsalter der Bevölkerung und an veränderten Umwelteinflüssen^[1]. Zu den chronischen neurodegenerativen Prozessen zählen Morbus Parkinson, Morbus Alzheimer, Chorea Huntington und die amyotrophe Lateralsklerose (Lou Gehrig-Erkrankung), wohingegen zerebrale Ischämie, epileptische Anfälle und Schädel-Hirn-Traumata zu den akuten neurodegenerativen Erkrankungen zu rechnen sind^[2,3]. Bei allen neurodegenerativen Erkrankungen kommt es zum Absterben unterschiedlicher Neuronen und damit zu Funktionsstörungen in den verschiedensten Neurotransmittersystemen. Beim Morbus Alzheimer beispielsweise kommt es hauptsächlich zum Niedergang cholinergischer Neuronen^[4]. Beim Morbus Parkinson (Parkinsonsche Erkrankung (PD)) sterben dagegen vor allem dopaminerge Neuronen ab^[5]. So unterschiedlich die betroffenen Neuronen auch sind, gibt es dennoch Hinweise darauf, dass bei allen neurodegenerativen Erkrankungen, unerheblich, ob akut oder chronisch, die Schädigung der Neuronen zumindest teilweise durch die Überstimulation von Glutamat-Rezeptoren entsteht^[6,7]. In diesem Zusammenhang bietet sich aus der Gruppe der Glutamat-Rezeptoren besonders der NMDA-Rezeptor als therapeutisches Ziel an, dessen Überaktivierung zu massivem Calciumionen-Einstrom in die Zelle führt und dadurch verschiedene Signalkaskaden aktiviert, die Nekrose bzw. Apoptose von Neuronen auslösen (Exzitotoxizität) können^[7]. Alle bisherigen Therapeutika gegen neurodegenerative Erkrankungen können die jeweiligen Krankheiten nicht heilen, sondern lediglich die Symptomatik verbessern und das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen. Teilweise zeigen die verwendeten Arzneistoffe unerwünschte Nebenwirkungen oder nur schwach ausgeprägte Wirksamkeiten. Daher ist es erforderlich, Substanzen zu entwickeln und herzustellen, die große Selektivitäten und Affinitäten an den entsprechenden Rezeptoren zeigen. Für einige Erkrankungen könnten sich auch Substanzen mit dualen Affinitäten an ausgewählten Rezeptoren als sinnvoll erweisen.

So sind Liganden mit Affinitäten zu NMDA- und Dopamin-Rezeptoren ein möglicher neuer Therapieansatz für Morbus Parkinson. Im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen die Synthese und pharmakologische Testung ebensolcher Liganden. In den folgenden Kapiteln

werden die Prinzipien des Wirkstoff-Designs, dualer Affinitäten sowie Glutamat- und Dopamin-Rezeptoren und die Parkinsonsche Erkrankung näher erläutert.

1.1 Wirkstoff-Design

Die Entwicklung neuer Arzneistoffe ist meist ein sehr zeit- und arbeitsintensiver Vorgang, auch wenn sich über die letzten Jahrzehnte die Möglichkeiten zur Identifizierung, zum Design und zur Testung von Wirkstoffen deutlich verbessert haben. Hierzu zählen die kombinatorische Chemie, biotechnische Ansätze, *high-throughput screening* und verbesserte in silico-Methoden (Computer-gestützte Methoden)^[8].

Die Symptome von neurodegenerativen Erkrankungen werden durch Fehlfunktionen verschiedener Rezeptoren ausgelöst. Um gezielt Medikamente zur Behandlung der Symptome der einzelnen Krankheiten zu entwickeln, muss also zunächst der entsprechende Rezeptor – das biologische Angriffsziel – identifiziert werden. So sind beispielsweise Substanzen, die Funktionen von Dopamin-Rezeptoren beeinflussen, zur symptomatischen Behandlung des Morbus Parkinson geeignet. Substanzen, die Funktionen von GABA-Rezeptoren verändern, können bei der Therapie epileptischer Anfälle eingesetzt werden^[9].

Ist das biologische Angriffsziel identifiziert worden, beginnt der eigentliche Prozess des Wirkstoff-Designs. Hierbei sollen Leitstrukturen für Substanzen entwickelt werden, die an die spezifischen Wirkorte (Rezeptoren) binden. Nachdem geeignete Leitstrukturen gefunden wurden, müssen diese bezüglich ihrer Affinität und Selektivität gegenüber dem Wirkort und ihren biologischen und pharmakologischen Eigenschaften optimiert werden. Dies setzt die chemische Synthese der identifizierten Strukturen und die Entwicklung eines biologischen Testsystems für den Wirkort und die entsprechenden Liganden voraus^[10]. Die Vorgehensweisen des Wirkstoff-Designs, die auf der Protein- (struktur-basierend) oder Ligandstruktur (ligand-basierend) gründen, sollen hier genauer untersucht werden.

Das struktur-basierende Wirkstoff-Design (sbWD) ist traditionell auf das Schlüssel-Schloss-Prinzip (Template Theorie) Emil Fischers^[11] aufgebaut. Der ideale Wirkstoff (Schlüssel) muss eine Struktur besitzen, die die Bindungsstelle (Schloss) des Rezeptorproteins strukturell und energetisch ergänzt. Dies wird beispielsweise durch konformationell rigidisierte Strukturen, die die vorgeformte Geometrie des Rezeptors bedienen, erfüllt^[12]. Das sbWD konzentriert sich dabei auf die molekulare Assoziation von Ligand und Bindungsstelle (B) durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen,

elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen^[13]. Die wichtigste Voraussetzung für sbWD ist die dreidimensionale Struktur des Rezeptorproteins, für welches Liganden entwickelt werden sollen. Hier liegt aber häufig das größte Problem. Es ist zwar die Sequenzierung, Klonierung und Expression für viele Rezeptorproteine gelungen, aber die Kristallisation und Bestimmung der dreidimensionalen Struktur über Röntgenstrukturanalyse konnte bisher nur für wenige Rezeptorproteine erfolgreich durchgeführt werden^[14].

So konnte beispielsweise aus der großen Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, hierzu zählen unter anderem die Rezeptoren der biogenen Amine (Noradrenalin, Dopamin, Histamin, Serotonin), bisher nur die dreidimensionale Kristallstruktur des bovinen Rhodopsins von Palczewski et al.^[15] experimentell ermittelt werden^[16,17]. Fehlen experimentell ermittelte Strukturen, können diese aus Proteinstrukturen der gleichen Rezeptorfamilie über computergestütztes Homologie-Modeling konstruiert werden. Hierbei ist die Genauigkeit der Voraussagen für die Affinitäten von Liganden deutlich geringer als bei experimentell ermittelten Proteinstrukturen^[13].

Ist ein Modell der räumlichen Struktur des Rezeptorproteins vorhanden, werden dreidimensionale Strukturen kleiner Moleküle in realistischen Konformationen virtuell in die Bindungsstelle des Rezeptors eingepasst. In den letzten Jahren wurden verschiedene so genannte *docking tools* entwickelt. Dies sind Computerprogramme, die verschiedene Konformationen des potentiellen Liganden und Rezeptorproteins durchtesten (*virtuelles high-throughput screening*). Während und nach der Orientierung des Liganden in der Bindungsstelle müssen dessen Wechselwirkungen mit dem Rezeptor bestimmt werden. Dies geschieht meist durch die Berechnung der freien Bindungsenergie im Rezeptor-Ligand-Komplex. Mittels dieser Daten lassen sich Aussagen über die Bindungswahrscheinlichkeiten der Liganden treffen^[13].

Struktur-basierendes Wirkstoff-Design ist am effektivsten, wenn es cyclisch durchgeführt wird, d. h. die in silico entwickelten Strukturen werden synthetisiert, pharmakologisch in vivo getestet und die dadurch erhaltenen Erkenntnisse wieder zur Verbesserung des Computermodells verwendet^[13].

Eine weitere Methode ist das ligand-basierende Wirkstoff-Design (lbWD), das häufig bei der Leitstrukturensuche für Rezeptoren verwendet wird, deren strukturelle Daten nur begrenzt vorhanden sind.

Meist ist der natürliche Ligand ein guter Ausgangspunkt für die Suche nach einer Leitstruktur. Hierbei werden Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAR) (*structure-activity*

relationships) des natürlichen Liganden, seiner Analoga und weiterer bereits bekannter, potenter Liganden zur Erstellung von Pharmakophor-Modellen verwendet^[16]. Ein Pharmakophor-Modell beschreibt die sterischen und elektronischen Eigenschaften eines Liganden, der am Rezeptorprotein bindet und dort eine Antwort hervorruft oder blockiert. Der Pharmakophor wird durch so genannte pharmakophore Deskriptoren beschrieben, die Eigenschaften der Struktur wiedergeben, die für eine Interaktion mit dem Rezeptorprotein von Bedeutung sind. Hierbei handelt es sich um Wasserstoffbrücken, hydrophobe und elektrostatische Wechselwirkungsstellen^[18]. Die Erstellung eines Pharmakophor-Modells über SAR ist allerdings nur möglich, wenn es während der Bindung des Liganden nicht zu konformationellen Änderungen der zuvor experimentell ermittelten dreidimensionalen Struktur des Rezeptors kommt. Das Pharmakophor-Modell kann anschließend für virtuelle Screenings bei der Suche nach neuen Leitstrukturen verwendet werden^[16].

Die Entwicklung des Pharmakophor-Modells für Antagonisten der Strychnin-insensitiven Glycin-Bindungsstelle (Gly_B-B) des NMDA-Rezeptors von Kemp und Leeson et al. erfolgte durch SAR-Vergleiche. Dabei machten sie sich die bereits bekannte antagonistische Wirkung von Kynurensäure-Derivaten und Chinoxalin-2,3-dionen (Abbildung 1) an der Gly_B-B zunutze.

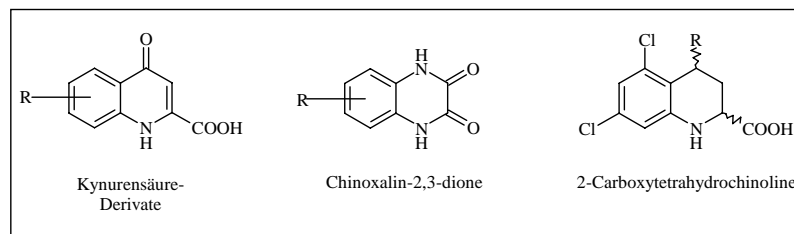


Abbildung 1: Strukturen früher NMDA-Rezeptor-Antagonisten an der Glycin_B-Bindungsstelle

Eine Reihe von Substanzen mit unterschiedlichen aromatischen Substitutionsmustern und verschiedene Substitutionsmuster der Heteroatome wurden synthetisiert und *in vivo* und *in vitro* Testungen unterzogen. Durch den Vergleich der Strukturen der Liganden, die antagonistische Aktivität an der Gly_B-B zeigten, konnte ein zweidimensionales Pharmakophor-Modell erstellt werden, das die zur Bindung benötigten Eigenschaften durch Wasserstoffbrücken, hydrophobe und elektrostatische Wechselwirkungen beschreibt^[19]. Die Synthesen, Strukturbestimmungen durch Röntgenstrukturanalyse und pharmakologischen Testungen einer Reihe von 2-Carboxytetrahydrochinolin-Derivaten (Abbildung 1) mit verschiedenen, stereochemisch unterschiedlich ausgerichteten Resten in der 4-Position ermöglichten Aussagen über die sterische Toleranz (*bulk tolerance*) der

Bindungsstelle. Dies führte zu einem dreidimensionalen Pharmakophor-Modell für Antagonisten der Gly_B-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors, das für ligand-basierendes Design einer Reihe weiterer Antagonisten herangezogen wurde^[20]. Eine Abbildung des Pharmakophor-Modells und die Beschreibung der pharmkophoren Deskriptoren findet sich in Kapitel 2.3.2.2.

Struktur-basierendes Wirkstoff-Design für Gly_B-Antagonisten gestaltete sich aufgrund der lange Zeit fehlenden dreidimensionalen Struktur des NMDA-Rezeptorproteins schwierig. Laube et al. erstellten 1997 auf der Grundlage der Sequenz-Homologie zu LAOBP, einem bakteriellen periplasmischen Protein, ein dreidimensionales Modell der Glutamat- (Glu-B) und Glycin-Bindungsstelle (Gly_B-B)^[21]. Im Jahr 2000 gelang Armstrong und Gouaux^[22] die kristallographische Analyse des wasserlöslichen AMPA-Rezeptors und seiner Komplexe mit verschiedenen Liganden. H. Furukawa und E. Gouaux führten im Jahr 2003 eine kristallographische Analyse der NR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors und der Bindungskomplexe mit physiologischen Agonisten, partiellen Agonisten und Antagonisten durch^[23]. Nach all diese Arbeiten besteht nun die Möglichkeit, korrektere dreidimensionale Modelle zu ermitteln und die Mechanismen der Rezeptoraktivierung besser zu verstehen^[24].

Bei der Entwicklung von Dopamin-Rezeptor-Agonisten bedient man sich häufig ebenfalls des lbWD, aufgrund der fehlenden dreidimensionalen Rezeptorproteinstrukturen. Erschwerend wirkt sich die Existenz fünf verschiedener Dopamin-Rezeptor-Subtypen aus, die in D₁-ähnliche und D₂-ähnliche Rezeptoren aufgeteilt werden.

Viele Dopamin-Rezeptor-Agonisten basieren auf strukturellen Modifikationen des endogenen Agonisten Dopamin. So ist ADTN ein rigidisiertes Dopamin-Analogon (Abbildung 2).

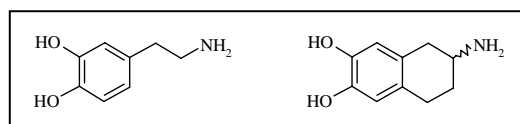


Abbildung 2: Dopamin und ADTN

Trotz intensiver SAR-Untersuchungen gelang es bisher nicht, eindeutige Pharmakophor-Modelle für Agonisten der verschiedenen Dopamin-Rezeptor-Subtypen zu erstellen. Dennoch erhielt man durch die SAR-Untersuchungen wichtige Ergebnisse über Strukturelemente, die für eine Bindung essentiell sind und Selektivitäten zwischen

D₁-ähnlichen und D₂-ähnlichen Rezeptoren erzeugen^[25]. So ist eine Aminoethyl-Kette mit einem aromatischen Ring in β -Position essentiell für die Bindung an alle Dopamin-Rezeptoren^[26]. Hierbei kommt es vermutlich zu einer elektrostatischen Wechselwirkung zwischen dem Stickstoffatom und einem anionischen Rest des Rezeptorproteins. Während Aktivität an D₁-ähnlichen Rezeptoren die Existenz des unveränderten Catecholsystems voraussetzt, zwei Hydroxy-Funktionen in *meta*- und *para*-Position, bleibt die D₂-Aktivität auch bei der ausschließlichen Existenz einer Hydroxy-Funktion in *meta*-Stellung erhalten. Die Hydroxy-Gruppen stehen mit dem Rezeptor über Wasserstoffbrücken-Bindungen in Wechselwirkung und können bei D₂-ähnlichen Agonisten durch andere Funktionen ersetzt werden, die ebenfalls zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken fähig sind. Dialkylsubstitution der Amino-Funktion führt zum Verlust der D₁-Rezeptor-Aktivität und der Erhöhung der D₂-Rezeptor-Aktivität^[27]. Die Ermittlung der dreidimensionalen Struktur des bovinen Rhodopsins wird es ermöglichen, über Homologie-Modeling verbesserte Strukturmodelle der Dopamin-Rezeptoren zu erstellen und damit auch erfolgreichere Ansätze des sbWD für Dopamin-Rezeptor-Agonisten liefern^[16].

Etwa 40 % aller möglichen Wirkstoffe scheitern in klinischen Studien (in vitro) aufgrund schlechter Pharmakokinetik. Deshalb sollte neben den pharmakodynamischen Eigenschaften (z. B. Bindungsaffinität zum Rezeptor) auch das pharmakokinetische Profil (Absorbierbarkeit, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung) eines Wirkstoffkandidaten schon zu einem frühen Zeitpunkt der Wirkstoff-Entwicklung größere Aufmerksamkeit erhalten^[16].

1.2 Duale Affinität von Liganden

Bei der Entwicklung eines Wirkstoffs ist neben einer hohen Affinität auch meist eine ausgeprägte Selektivität für einen Rezeptor erwünscht, beispielsweise um Nebenwirkungen gering zu halten. Allerdings kann eine sinnvolle Kombination von Affinitäten in einer Substanz einen therapeutischen Vorteil gegenüber selektiven Substanzen bei der Behandlung verschiedener Erkrankungen bringen^[28]. Der Therapieansatz mit dual affinen Liganden sollte auch pharmakokinetische Vorteile gegenüber einer Kombinationstherapie besitzen^[29].

Leukotriene (Produkte des Arachidonsäure-Metabolismus) und Thromboxan-A₂ sind über unterschiedliche Mechanismen an der Pathogenese des Asthma bronchiale beteiligt. Antagonisten, die Affinitäten zu einem Rezeptor dieser beiden Substanzen aufweisen,

werden bereits zur Therapie eingesetzt. Die Kombination von Affinitäten zu Rezeptoren dieser beiden Substanzen in einer antagonistisch wirkenden Substanz könnte zu einem potenteren Inhibitor für die Behandlung des Asthma bronchiale führen. Arakida und Mitarbeitern gelang es mit YM158 (Abbildung 3) einen dualen Leukotrien-D₄-Rezeptor- und Thromboxan-A₂-Rezeptor-Antagonisten zu entwickeln^[30].

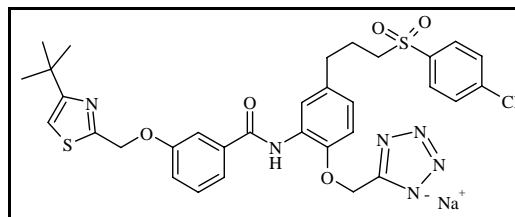


Abbildung 3: YM158, dualer Leukotrien-D₄-Rezeptor- und Thromboxan-A₂-Rezeptor-Antagonist^[30]

Untersuchungen an aktiv sensibilisierten Meerschweinchen zeigten vielversprechende therapeutische Ergebnisse für YM158, unabhängig davon, ob Leukotrien-D₄ oder Thromboxan-A₂ der Hauptmediator war oder ob beide gleichberechtigt den Asthmaanfall vermittelten. YM158 könnte also ein neuer antiasthmatischer Wirkstoff für eine große Gruppe von Asthma-Patienten werden^[31].

Weitere sinnvolle Kombinationen sind beispielsweise dual affine Antagonisten des Histamin-H₁-Rezeptors und des Substanz P-Neurokinin (NK-1)-Rezeptors bei der Behandlung von allergischen Atemwegserkrankungen, wie zum Beispiel Rhinitis^[28]. Ebenso könnten dual affine Antagonisten des Serotonin-5-HT₃-Rezeptors und des Dopamin-D₂-Rezeptors ein sinnvoller Therapieansatz bei der Behandlung von Übelkeit und Erbrechen als Nebenwirkungen bei der Krebstherapie sein^[32]. Die Ulkustherapie könnte möglicherweise durch dual affine Gastrin-Rezeptor/Histamin (H₁)-Rezeptor-Antagonisten effektiver gestaltet werden. Beide Rezeptorengruppen sind für die Vermittlung der Magensäuresekretion verantwortlich^[33]. Darüber hinaus sind noch zahlreiche andere sinnvolle Kombinationen denkbar, wobei nicht nur über duale Affinitäten mit dem gleichen Effekt an beiden Rezeptoren nachgedacht werden darf, sondern auch mit unterschiedlichen Effekten. So könnte ein NMDA-Rezeptor-Antagonist/Dopamin-Rezeptor-Agonist für die Behandlung des Morbus Parkinson hilfreich sein. Siehe hierzu auch Kapitel 2.3.4 und 4.

Bei der Entwicklung von dual affinen Liganden können durch ligand-basierendes Wirkstoff-Design (lbWD) und SAR-Vergleiche erstellte Pharmakophor-Modelle heran-

gezogen werden. Die Kombination von Strukturen oder Strukturmerkmalen, die Affinitäten zu den jeweiligen Rezeptoren aufweisen, sollte zu Liganden mit dualen Affinitäten führen. Dabei gibt es verschiedene Möglichkeiten, ein Hybrid-Molekül aus zwei bekannten Liganden zu konstruieren (Abbildung 4).

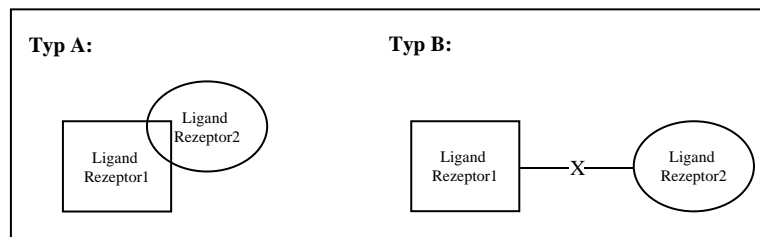


Abbildung 4: Hybrid-Molekül Typen

Eine Möglichkeit ist der überlappende Typ (Typ A), bei dem einzelne Strukturmerkmale der Liganden zu einem neuen Liganden kombiniert werden. Eine weitere Möglichkeit ist der verbundene Typ (Typ B), bei dem die gesamten Strukturen der einzelnen Liganden direkt oder über Spacer miteinander verbunden werden. Unabhängig vom Typ müssen die essentiellen Strukturen, die für die Aktivität am entsprechenden Rezeptor wichtig sind, erhalten bleiben^[33].

Kawanishi et al. entwickelten für die Ulkustherapie dual affine Antagonisten an Gastrin- und H₂-Rezeptoren. Hierbei verwendeten sie den Typ B der Hybrid-Moleküle aufgrund großer struktureller und physikochemischer Unterschiede der Antagonisten für die verschiedenen Rezeptoren. Sie kombinierten die Strukturen des Gastrin-Rezeptor-Antagonisten (GA) L-365,260 und des H₂-Rezeptor-Antagonisten (H₂A) Roxatidinacetat^[34] (Abbildung 5). Die Verbindung zwischen beiden Molekülen muss natürlich an Atomen stattfinden, die nicht an der Bindung an das Rezeptorprotein beteiligt sind^[33].

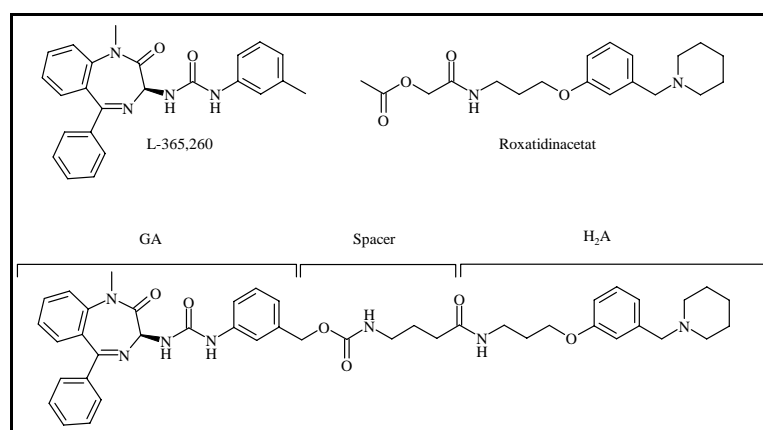


Abbildung 5: Gastrin-Rezeptor- und H₂-Rezeptor-Antagonisten

Obgleich sich im L-365,260 dafür drei Positionen anbieten, wurden die besten pharmakologischen Ergebnisse mit der oben abgebildeten Variante erzielt^[33].

Die Kombination von pharmakophoren Elementen der Liganden einzelner Rezeptoren führen zwar häufig zu dual affinen Liganden, aber es ist sicherlich ein komplexeres Unterfangen, auch dual affine Liganden mit geeigneten Wirkprofilen zu erhalten^[29].

2 Glutamat-Rezeptoren

2.1 Aminosäuren als Neurotransmitter

Die Signaltransduktion zwischen den Synapsen der Neuronen im zentralen Nervensystem (ZNS) verläuft über Neurotransmitter (NT). Dies sind kleine Moleküle, die durch spezielle Enzyme meist in Neuronen oder Gliazellen synthetisiert werden. Die Inaktivierung der Neurotransmitter erfolgt über verschiedene Mechanismen. Häufig werden sie durch Neurotransmitter-Transporter wieder in präsynaptische Neuronen oder Gliazellen aufgenommen, dort in Vesikeln gespeichert oder enzymatisch abgebaut, oder die NT werden über Enzyme direkt im synaptischen Spalt abgebaut. Zu den NT (Abbildung 6) gehören neben den biogenen Aminen, wie Acetylcholin und den Catecholaminen (Dopamin, Noradrenalin, Adrenalin), verschiedene Peptide (z. B. Substanz P) und Gase, wie Stickstoff- und Kohlenmonoxid, aber auch eine Vielzahl von Aminosäuren^[35,36].

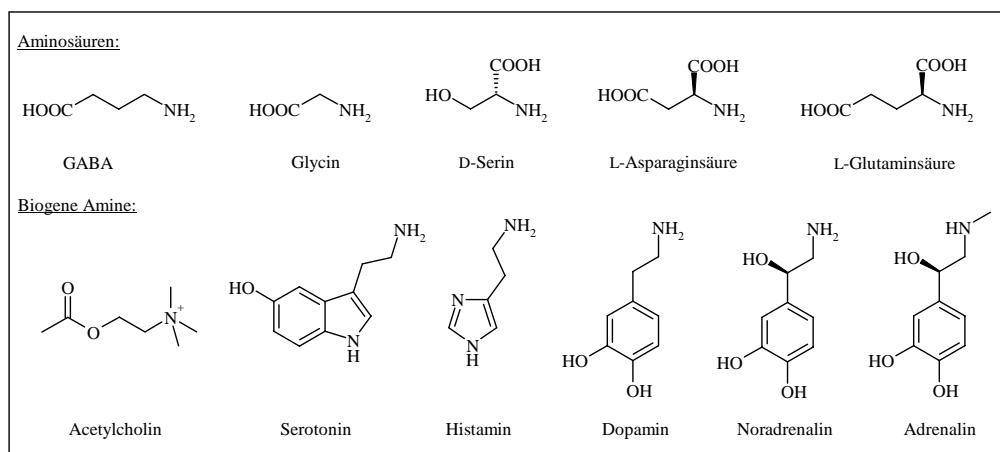


Abbildung 6: Neurotransmitter

Der größte Teil der Neuronen im ZNS wird durch Aminosäuren (AS) moduliert^[35]. Zu den neuronal aktiven AS gehören beispielsweise GABA (γ -Aminobuttersäure), Glycin, L-Glutamin- und L-Asparaginsäure (physiologisch fungieren die entsprechenden Anionen L-Glutamat und L-Aspartat als NT). Aber auch die Aminosäure D-Serin, die in Gliazellen durch Serinracemase aus L-Serin synthetisiert wird, agiert in einigen Arealen des Gehirns als Neurotransmitter^[36]. Die AS binden an verschiedene Rezeptoren aus der großen Gruppe der Aminosäure-Rezeptoren. Hierbei unterscheidet man zwischen inhibitorischen und exzitatorischen Rezeptoren. Die einzigen bis heute bekannten inhibitorischen Aminosäure-

Rezeptoren sind die GABA-Rezeptoren und der Strychnin-sensitive Glycin-Rezeptor (Gly_A). Zu den exzitatorischen Aminosäure-Rezeptoren gehören unter anderem die Aspartat- und Glutamat-Rezeptoren^[35,37].

2.2 Klassifizierung der Glutamat-Rezeptoren

L-Glutamat (Glu) ist der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter im zentralen Nervensystem (ZNS) des Menschen^[3]. Nahezu 50 % aller Neuronen im Gehirn werden durch L-Glutamat moduliert^[35]. Glu bindet hauptsächlich postsynaptisch an verschiedene Glutamat-Rezeptoren^[3]. Die Glutamat-Rezeptoren können in zwei Klassen unterteilt werden (Abbildung 7): metabotrope und ionotrope Glutamat-Rezeptoren^[38].

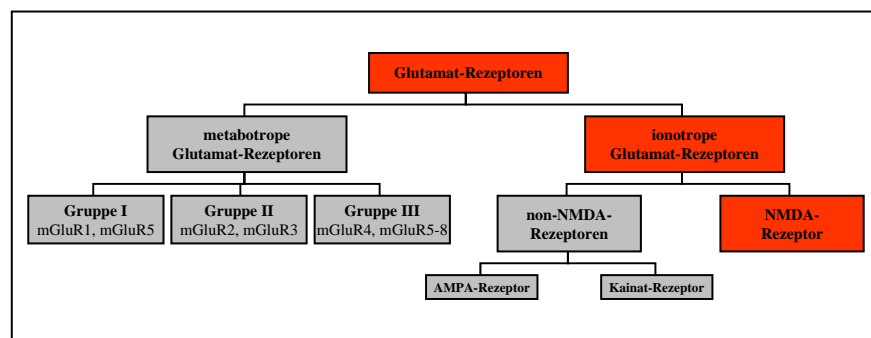


Abbildung 7: Klassifizierung der Glutamat-Rezeptoren

Die ionotropen Glutamat-Rezeptoren (iGluR) gehören zu den ligandgesteuerten Kationenkanälen und sind für eine rasche Signaltransduktion verantwortlich. Die metabotropen Glutamat-Rezeptoren (mGluR) gehören dagegen zu den G-Protein-gekoppelten (guanylnukleotid-bindendes-Protein) Rezeptoren und spielen in der Neurotransmission eine modulierende Rolle^[37,38]. Die mGluR werden nochmals in drei Gruppen aufgeteilt (Abbildung 7), abhängig von ihren Ähnlichkeiten im Rezeptoraufbau und in den Signaltransduktionskaskaden^[37]. Die iGluR werden ebenfalls subklassifiziert und nach ihren spezifischen endo- oder exogenen Agonisten benannt. Man unterscheidet zwischen dem AMPA-Rezeptor (2-Amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl)-propionat) und dem Kainat-Rezeptor (2-[2-Carboxy-4-(2-propenyl)pyrrolidin-3-yl]acetat), die auch als non-NMDA-Rezeptoren bezeichnet werden, und dem NMDA-Rezeptor (*N*-Methyl-D-Aspartat). Die Namen der iGluR leiten sich von den jeweiligen relativ selektiven Liganden ab^[39]. Während der AMPA- und der Kainat-Rezeptor jeweils eine hohe

Permeabilität für Na^+ - und K^+ -Ionen aufweisen und für eine schnelle Signaltransduktion verantwortlich sind, ist der NMDA-Rezeptor zwar etwas langsamer, aber länger andauernd in der Rezeptorantwort. Außerdem zeichnet er sich neben der Permeabilität für Na^+ -, K^+ -Ionen auch durch eine sehr hohe Permeabilität für Ca^{2+} -Ionen aus^[37,38].

2.3 Der NMDA-Rezeptor

Der NMDA-Rezeptor zeigt im Vergleich zu den anderen iGluR einige ungewöhnliche physiologische Eigenschaften. Da ist zum einen die bereits erwähnte hohe Permeabilität für Ca^{2+} -Ionen, neben der für Na^+ - und K^+ -Ionen. Während die anderen iGluR Signale nur über die Depolarisation von Membranen weiterleiten können, kann der NMDA-Rezeptor über den Calciumeinstrom verschiedene so genannte *second messenger*-Systeme aktivieren, die allerdings bei Überaktivierung cytotoxisch (Exzitotoxizität) wirken können^[40]. Des Weiteren ist der Ionenkanal spannungsabhängig von extrazellulären Mg^{2+} -Ionen blockiert, die an einer Bindungsstelle innerhalb des Kanals binden^[41]. Einzigartig unter allen ligandgesteuerten Ionenkanälen ist der beim NMDA-Rezeptor auftretende Coagonismus von L-Glutamat und Glycin^[39]. Für die Aktivierung des Rezeptors müssen somit drei bestimmte Ereignisse zusammenkommen: Die Zellmembran muss zunächst depolarisiert werden, beispielsweise durch co-lokalisierte AMPA-Rezeptoren, damit die spannungsabhängige Magnesiumblockade aufgehoben wird. Die beiden Agonisten L-Glutamat und Glycin müssen gleichzeitig an ihren jeweiligen Bindungsstellen des Rezeptors binden^[3]. Außerdem verfügt der NMDA-Rezeptor neben den Bindungsstellen der beiden Agonisten noch über eine Reihe allosterischer Bindungsstellen^[37].

Diese außergewöhnlichen Eigenschaften des NMDA-Rezeptors führen zu einer Art von Konditionierbarkeit der betreffenden Neuronen. Dadurch ergeben sich weitere Möglichkeiten zu logischen Verknüpfungen der Neuronen. Es kommt zur Ausbildung neuronaler Schaltkreise und somit zur Anpassung an veränderte Umweltbedingungen. Dies zeigt, dass die NMDA-Rezeptoren an dem Prozess der Long Term Potentiation (LTP) beteiligt sind, der die Grundlage für Lernvorgänge, Emotionen und Gedächtnisbildung darstellt. Die neuronalen Adaptionsvorgänge bezeichnet man auch als NMDA-vermittelte synaptische Plastizität^[37,38].

Der NMDA-Rezeptor ist aufgrund der bei Überaktivierung auftretenden Exzitotoxizität an einer Reihe von pathologischen Zuständen beteiligt, zu denen neuronaler Zelltod und Degeneration gehören^[42,43]. NMDA-Rezeptoren und auch die anderen Glutamat-

Rezeptoren werden hauptsächlich im ZNS exprimiert. Allerdings konnten in letzter Zeit in vielen peripheren, nicht-neuronalen Geweben Glutamat-Rezeptoren nachgewiesen werden. So findet man NMDA-Rezeptoren in verschiedenen Knochenzellen (Osteoblasten, Osteoklasten und Megakaryozyten), Hautzellen (Keratinocyten), Inselzellen des Pankreas und in Thrombozyten (Blutplättchen). Auch in der Lunge, im Dünndarm, im Herz und in den Nebennieren konnten NMDA-Rezeptoren nachgewiesen werden^[44]. Die genaue Funktion der Glutamat-Rezeptoren in den verschiedenen Geweben ist Gegenstand aktueller Forschungen. Die peripheren Glutamat-Rezeptoren bieten sich als neues therapeutisches Ziel an, beispielsweise bei der Behandlung von Osteoporose, Diabetes und von verschiedenen Krebsarten^[45]. Rzeski et al. konnten zeigen, dass NMDA-Rezeptor- und AMPA-Rezeptor-Antagonisten das Zellwachstum verschiedener Tumorzelllinien hemmen^[46].

2.3.1 Struktureller Aufbau des NMDA-Rezeptors

Der NMDA-Rezeptor (NMDAR) setzt sich, wie auch die anderen iGluR, aus verschiedenen Protein-Untereinheiten zusammen. Bis heute konnten 7 Untereinheiten, NR1, NR2A-D und NR3A-B, des NMDA-Rezeptors kloniert werden. Die modulierenden NR3-Untereinheiten konnten bisher nur bei Nagetieren charakterisiert werden^[47]. Alle Untereinheiten des NMDAR weisen eine sehr ähnliche transmembranäre Topologie auf. Sie besitzen einen extrazellulären N-Terminus, drei transmembranäre Domänen (M1, M3, M4), eine intramembranäre Domäne (M2) und einen intrazellulären C-Terminus (Abbildung 8). Teile der Kanalpore werden durch die intramembranäre Domäne M2 geformt^[48].

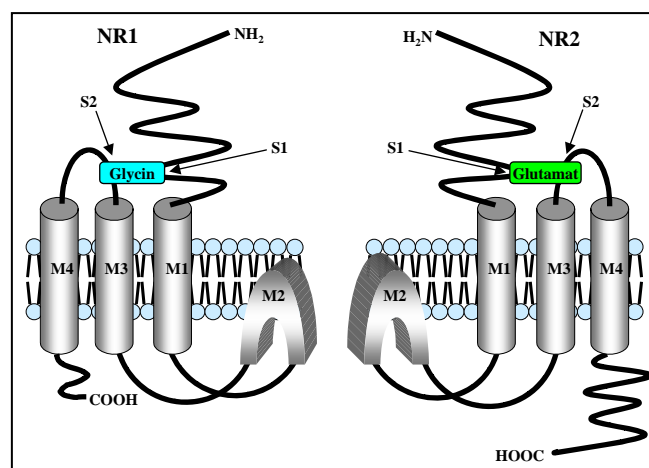


Abbildung 8: Topologie des NMDA-Rezeptors, modifiziert nach Nakanishi et al.^[49]

Die Bindungsstellen der endogenen Agonisten befinden sich im extrazellulären Bereich und werden durch Zusammenlagerung einer extrazellulären Domäne vor M1 (S1) und einer zwischen M3 und M4 (S2) gebildet^[6,48]. Die Bindungsstelle des L-Glutamat befindet sich auf den NR2-Untereinheiten, die Glycin-Bindungsstelle ist dagegen auf NR1 lokalisiert^[50]. Die NR2-Untereinheiten weisen einen deutlich längeren C-Terminus auf als die NR1-Untereinheiten. Dieser verlängerte C-Terminus hat bei allen NR2-Untereinheiten unterschiedlichen Einfluss auf die Kanal-Funktion^[51].

Funktionelle NMDA-Rezeptorkanäle werden vermutlich durch vier Untereinheiten gebildet, aber neben der tetrameren Struktur gibt es auch Hinweise auf pentamere Strukturen^[48,52]. Die tetrameren Proteinkomplexe setzen sich aus zwei NR1- und zwei beliebigen NR2-Untereinheiten zusammen^[53]. Die NR1-Untereinheit ist obligatorisch, ansonsten ist der Kanal nicht funktionsfähig^[54]. Die Untereinheiten werden in verschiedenen Hirnregionen altersabhängig in unterschiedlichen Dichten exprimiert. Während die NR1- und die NR2A-Untereinheiten im gesamten ZNS exprimiert werden, mit der höchsten Dichte im Hippocampus^[2], findet man die NR2B-Untereinheit vorwiegend im Cortex und im Hippocampus sowie in den Basalganglien^[37,55]. Die NR2C-Untereinheit ist die dominierende NR2-Untereinheit im Cerebellum (Kleinhirn). Die seltenste der NR2-Untereinheiten im adulten ZNS, die NR2D-Untereinheit, wird hauptsächlich im Hirnstamm exprimiert. Die verschiedenen Kombinationen der Untereinheiten führen zu NMDA-Rezeptorkanälen mit unterschiedlichen pharmakologischen, elektrophysiologischen und biochemischen Eigenschaften in den verschiedenen Hirnregionen^[3].

2.3.2 Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors

Der NMDA-Rezeptor wird von einer Vielzahl von endogenen und exogenen Liganden beeinflusst. Neben den beiden kompetitiven Bindungsstellen (B) für die endogenen Agonisten L-Glutamat auf NR2 und Glycin auf NR1 wurden noch eine Reihe allosterischer B auf den verschiedenen Untereinheiten und innerhalb des Kanals identifiziert (Abbildung 9). Liganden der allosterischen Bindungsstellen modulieren meist die Funktion des Rezeptors. Innerhalb des Kanals befindet sich neben der B für Magnesiumionen auch noch eine B für *open-channel* Blocker, die MK-801-Bindungsstelle. Außerhalb des Kanals sind weitere B für Magnesiumionen, für Zinkionen, Protonen, Polyamine und Redox-Modulatoren bekannt^[53,56].

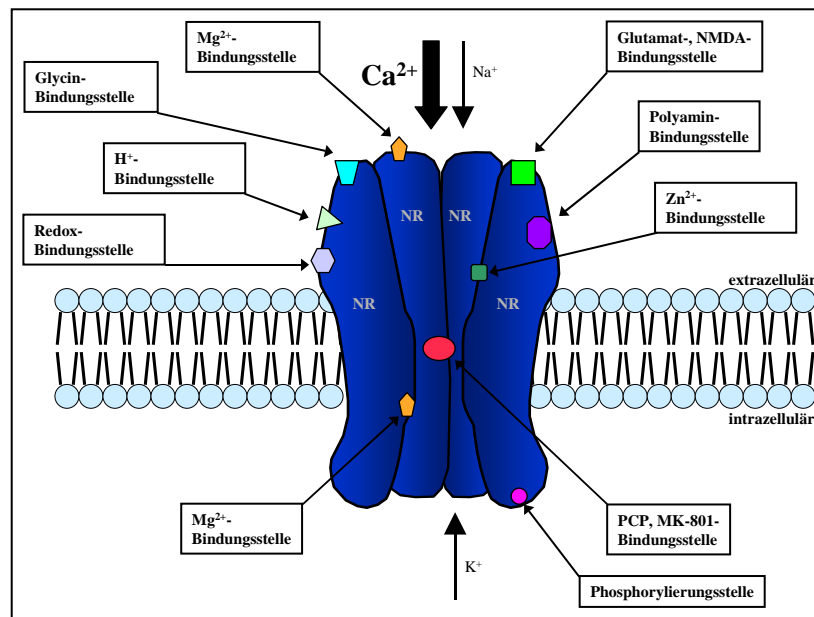


Abbildung 9: Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors, modifiziert nach Leeson et al.^[57]

Neurosteroide, Peptide (z. B. Dynorphin) und Ethanol beeinflussen ebenfalls den NMDA-Rezeptor^[3,37]. Es gibt auch Hinweise darauf, dass auf den unterschiedlichen NR2-Untereinheiten noch weitere variierende B vorhanden sind, die es ermöglichen, Untereinheiten-spezifische Liganden zu entwickeln^[48].

2.3.2.1 Liganden der Glutamat-Bindungsstelle

Die Glutamat-Bindungsstelle (Glu-B) befindet sich auf den NR2-Untereinheiten, wobei die vier verschiedenen NR2-Untereinheiten (A-D) unterschiedliche Affinitäten für Glutamat aufweisen^[3]. Nicht nur L-Glutamat, sondern auch die endogene exzitatorische Aminosäure L-Aspartat und die synthetische AS *N*-Methyl-D-Aspartat (NMDA) wirken agonistisch an der Glu-B, beide allerdings mit geringerer Affinität als L-Glutamat. NMDA weist eine hohe Selektivität für den NMDA-Rezeptor gegenüber den anderen Glutamat-Rezeptoren auf und wurde so zum namensgebenden Liganden^[6].

Es wurden eine Reihe von Antagonisten der Glu-B synthetisiert, die kettenverlängerte Strukturanaloga des endogenen Liganden (Abbildung 10) sind. Diese Substanzen sind wichtige pharmakologische Werkzeuge, haben aber nur einen geringen therapeutischen Nutzen. Studien zu Selfotel (Abbildung 10) beispielsweise wurden in Phase III der klinischen Testung abgebrochen, aufgrund starker zentralnervöser Nebenwirkungen (z. B. Halluzinationen, Verwirrtheit) und aufgrund geringer therapeutischer Wirkung. Die starken

zentralnervösen Nebenwirkungen werden bei nahezu allen Glutamat-Antagonisten beobachtet^[2,58].

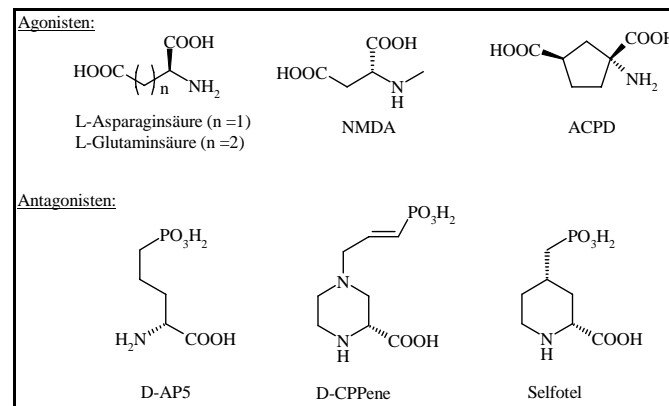


Abbildung 10: Kompetitive Liganden der Glutamat-Bindungsstelle

2.3.2.2 Liganden der Glycin-Bindungsstelle

Die Glycin-Bindungsstelle (Gly_B-B) des NMDA-Rezeptors unterscheidet sich pharmakologisch von der Strychnin-sensitiven Glycin-Bindungsstelle (Gly_A-B) des inhibitorischen Glycin-Rezeptors und ist Strychnin-insensitiv^[50]. Die Gly_B-B befindet sich auf der NR1-Untereinheit^[3]. Neben Glycin wirkt auch D-Serin als endogener Agonist, vor allem in Hirnregionen, in denen nur geringe Glycin-Konzentrationen vorhanden sind^[36]. Die Affinität von Glycin zur Bindungsstelle wird von den NR2-Einheiten beeinflusst, die mit NR1 den Rezeptorkomplex bilden^[3]. Neben einer großen Anzahl von Glycin-Antagonisten wurden auch einige Agonisten und partielle Agonisten entwickelt, da man bei verschiedenen psychischen Erkrankungen (Schizophrenie, Depression) eine Hypoaktivität des NMDA-Rezeptors vermutet^[5] (Abbildung 11).

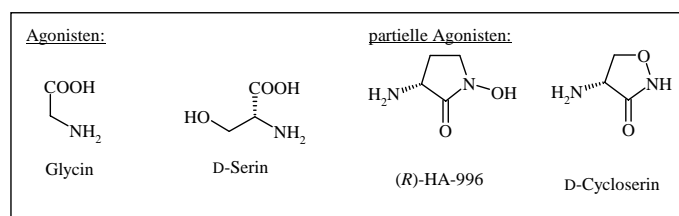


Abbildung 11: Kompetitive Agonisten der Glycin-Bindungsstelle

Glycin-Antagonisten, aber auch Agonisten, sollten deutlich bessere Nebenwirkungsprofile aufweisen als die entsprechenden Glutamat-Liganden^[59].

Kynurensäure (Abbildung 12), ein Metabolit der AS Tryptophan, wurde 1988 als endogener Antagonist an der Gly_B-B identifiziert.

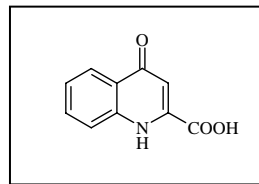


Abbildung 12: Kynurensäure

Allerdings weist Kynurensäure eine geringe Selektivität und Affinität für den NMDAR auf, aber durch weitreichende Strukturmodifikationen wurden eine Reihe von strukturell verschiedenen, selektiven und hochaffinen Glycin-Antagonisten hergestellt (Abbildung 13). Beispielsweise führte die Substitution des Benzolrings mit Halogenatomen an Position 5 und 7 und verschiedener sterisch anspruchsvoller Reste in der 4-Position des Heterocyclus zu affineren und selektiveren Kynurensäure-Derivaten (L-689,560), den 2-Carboxytetrahydrochinolinen^[7]. Weitere systematische Veränderungen führten zur Substanzklasse der Indol-2-carbonsäuren (Gavestinel). Beide Substanzklassen wiesen zwar gute in vitro Ergebnisse auf, aber nur geringe oder keine Wirksamkeiten in vivo, was auf die geringe Penetration der Blut-Hirn-Schranke (BHS) zurückzuführen ist^[59].

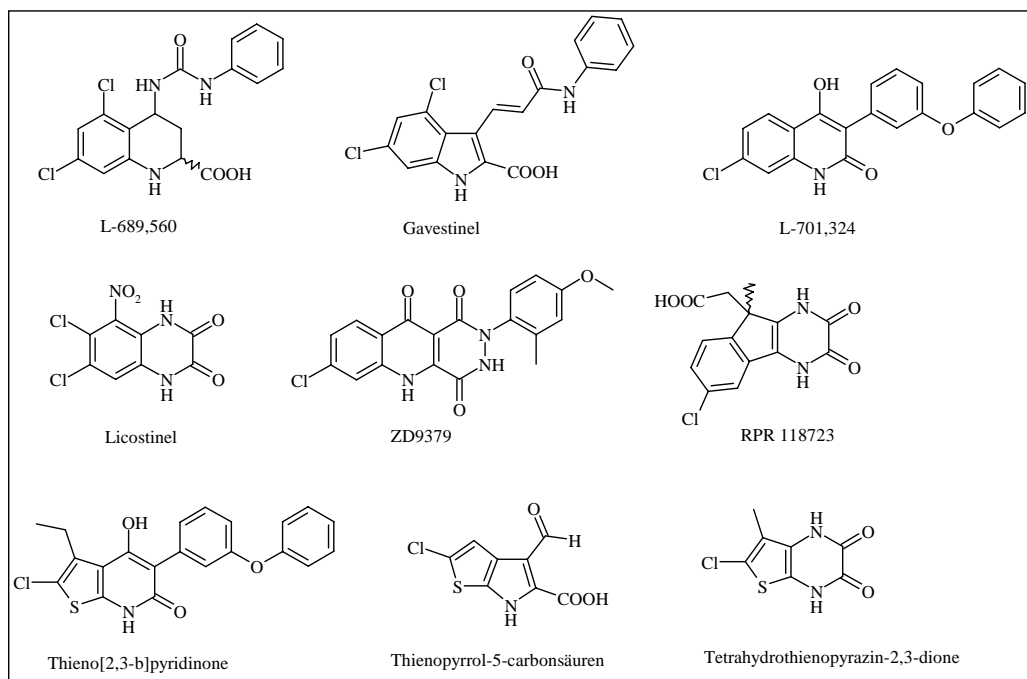


Abbildung 13: Kompetitive Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle

Für die geringe ZNS-Gängigkeit wurde die Carboxy-Gruppe der beiden Substanzklassen verantwortlich gemacht^[43]. Dies führte zur Entwicklung der 4-Hydroxychinolin-2-one, bei denen die Carboxy-Gruppe durch eine Carbonyl-Funktion ersetzt wurde (L-701,324)^[7]. Die Chinoxalin-2,3-dione, die eigentlich als AMPA-Rezeptor-Antagonisten entwickelt wurden, zeigen bei bestimmten Substitutionsmustern selektive antagonistische Wirkung an der Gly_B-B (Licostinel)^[50]. Neben einer Vielzahl von bicyclischen Verbindungen sind auch einige monocyclische (Pyrrol-2-carbonsäuren)^[60] oder tricyclische Substanzen (ZD9379) als Glycin-Antagonisten synthetisiert worden^[43]. In unserer Arbeitsgruppe sind umfangreiche Arbeiten über bioisostere Modifikationen der 4-Hydroxychinolin-2-one, der Indol-2-carbonsäuren und der Chinoxalin-2,3-dione durchgeführt worden. Hierbei wurden die Benzolteilstrukturen der kondensierten Aromaten durch Thiophenstrukturen ersetzt. Dies führte zu den Verbindungsklassen der Thieno[2,3-*b*]pyridin-2-one^[61,62], der Thienopyrrol-5-carbonsäuren^[63] und der Tetrahydrothienopyrazin-2,3-dione^[64], die ebenfalls affine Glycin-Antagonisten darstellen. Problematisch bleibt aber weiterhin die schlechte ZNS-Gängigkeit der Substanzen, die Schwerlöslichkeit der Verbindungen und die daraus resultierende geringe *in vivo* Aktivität. Einer der wenigen wasserlöslichen Glycin-Antagonisten ist RPR 118723, der *in vitro* Affinitäten im nanomolaren Bereich aufweist und auch *in vivo* bei geringen Dosen Aktivität bei Tiermodellen zeigt^[65].

Viele der Glycin-Antagonisten sind mit Hilfe des Pharmakophormodells für Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle (Abbildung 14) entwickelt worden^[43], das Kemp und Leeson bereits Anfang der 90er Jahre am Beispiel des Kynurensäure-Derivats L-689,560 vorschlugen^[57,66]. Die Entwicklung des Modells wurde in Kapitel 1.1 bereits näher erläutert.

Es wurden die folgenden Wechselwirkungen für den Liganden mit dem Rezeptor postuliert:

- Interaktion des Carbonyl-Sauerstoffs der Harnstoff-Seitenkette in 4-Position des Liganden mit einem Wasserstoffbrücken-Donor des Rezeptors.
- Interaktionen von sterisch anspruchsvollen Resten der Harnstoff-Seitenkette 4-Position des Liganden mit einer *bulk tolerance* Region des Rezeptors.
- Coulomb-Wechselwirkung (sterisch limitiert) der unter physiologischen Bedingungen negativ geladenen Carboxy-Funktion in 2-Position mit einer positiven Ladung des Rezeptorproteins.

- Interaktion der NH-Funktion des Liganden mit einem Wasserstoffbrücken-Akzeptor des Rezeptors.
- Sterisch limitierte Bindungstaschen des Rezeptors, die mit lipophilen Substituenten in 5- und 7-Position des Aromaten wechselwirken.

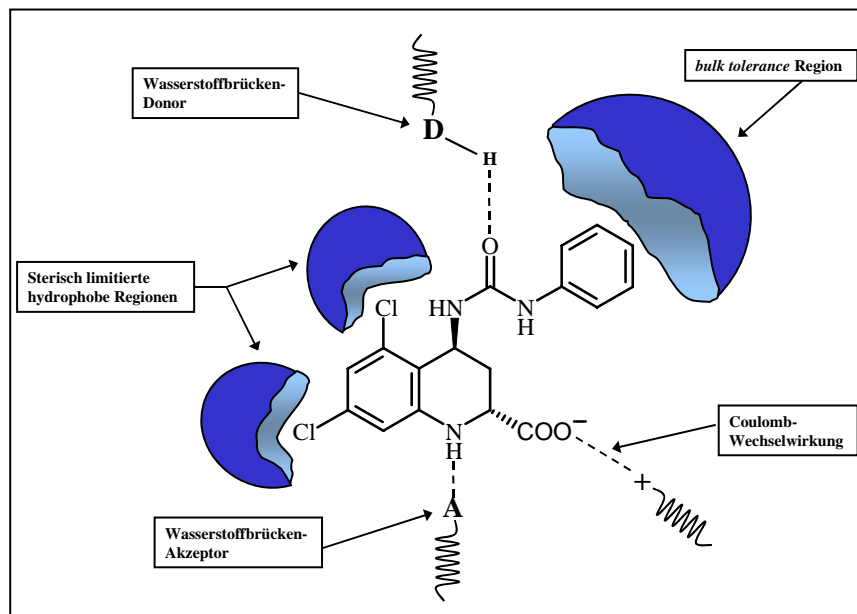


Abbildung 14: Pharmakophormodell von L-689,560, modifiziert nach Leeson et al. [57]

Eine notwendige Voraussetzung für die Bindung an der Gly_B-B ist die Wechselwirkung der Carboxy-Gruppe und der NH-Funktion mit dem Rezeptorprotein. Formal betrachtet stellen diese beiden Strukturmerkmale eine Glycin-Teilstruktur dar, wobei die Carboxy-Gruppe auch durch andere saure Funktionalitäten ersetzt werden kann^[19,20].

2.3.2.3 Allosterische Bindungsstellen und Liganden

Der NMDA-Rezeptor weist eine Reihe von allosterischen Bindungsstellen auf, die meist nur modulierend auf die Rezeptorfunktion wirken. Eine Ausnahme bildet die MK-801-Bindungsstelle der so genannten *open-channel* Blocker. Die Bindungsstelle liegt innerhalb der Kanalpore (Abbildung 9). Somit können Liganden nur an NMDA-Rezeptoren binden, deren Ionenkanal geöffnet ist, d. h. die sich im aktivierten Zustand befinden. Die Bindung des Liganden führt zu einer vollständigen Blockade des Ionenkanals und dadurch zur Inaktivierung des Rezeptors. Zu den hochaffinen *open-channel* Blockern zählen Dizocilpin (MK-801) (Abbildung 15), Ketamin und Phencyclidin (PCP), die aber aufgrund ihrer

starken Nebenwirkungen und Neurotoxizität keine klinische Anwendung bei neurodegenerativen Erkrankungen finden^[6]. Amantadin (Abbildung 15), Memantin, Budipin und PPDC^[67] (Abbildung 15), ein Abkömmling des Antidepressivums Milnacipran, gehören zu den schwachaffinen *open-channel* Blockern. Diese weisen ebenso wie die hochaffinen eine gute ZNS-Gängigkeit auf, aber auch ein deutlich besseres Nebenwirkungsprofil und werden teilweise bereits zur Therapie bei neurodegenerativen Erkrankungen eingesetzt^[5].

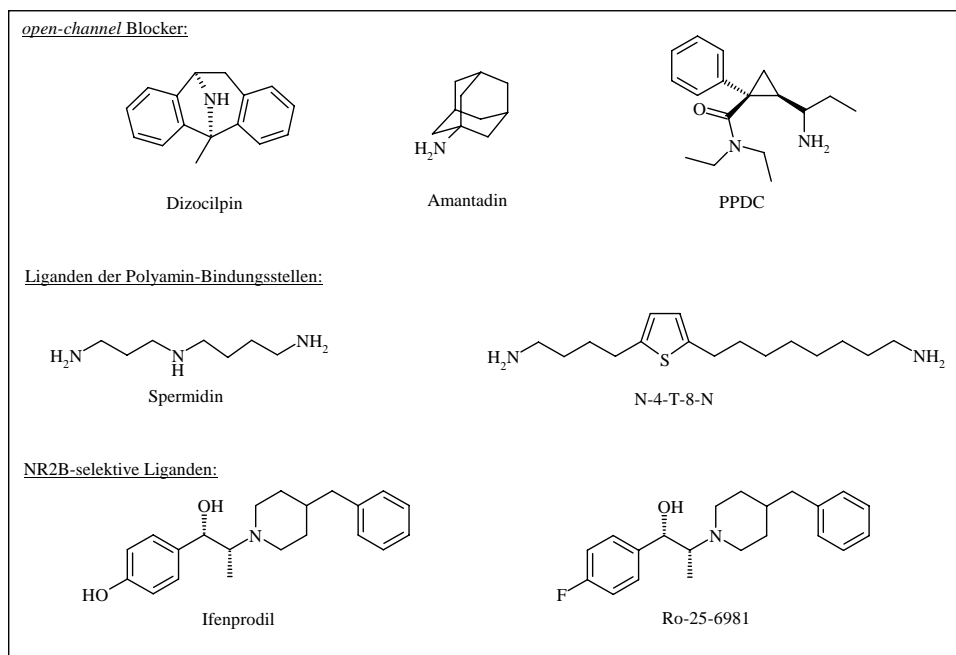


Abbildung 15: Liganden der allosterischen Bindungsstellen

Die B für Polyamine, Zinkionen, Protonen, Redox-Modulatoren und Magnesiumionen (außerhalb des Kanals) besitzen nur modulatorischen Einfluss auf den Rezeptor.

Die Bindung von Polyaminen, wie Spermin und Spermidin (Abbildung 15), führt konzentrationsabhängig zu erhöhter oder erniedrigter Rezeptor-Aktivität^[3]. Der NMDA-Rezeptor weist mindestens drei verschiedene Polyamin-B auf^[56]. In unserer Arbeitsgruppe konnte mit dem Polyamin N-4-T-8-N (Abbildung 15) ein relativ potenter Ligand mit antagonistischen Eigenschaften synthetisiert werden^[68].

Zink- und andere divalente Ionen und Protonen erniedrigen die Aktivität des Rezeptors durch Bindung an die entsprechenden Bindungsstellen (Abbildung 9).

Die modulierende Wirkung von Substanzen, die an die Redox-Bindungsstelle binden, ist davon abhängig, ob es sich um reduzierende oder oxidierende Substanzen handelt. Die

Bindungsstelle beinhaltet verschiedene Cystein-Reste, die durch Reduktion die Rezeptorantwort verstärken und bei Oxidation die Rezeptorantwort abschwächen^[69]. Zu den endogenen Redox-Modulatoren gehören unter anderem das Glutathion und Stickstoffmonoxid-Radikale (NO). NO wirkt dann aber selbst inhibierend auf den Rezeptor bzw. schwächt die Rezeptorantwort ab^[69]. Der NMDA-Rezeptor weist somit verschiedene endogene Schutzmechanismen vor Überstimulation auf. Zinkionen beispielsweise werden mit L-Glutamat in Vesikeln gespeichert und so als antagonistischer Modulator mit dem Agonisten exocytotisch freigesetzt, allerdings tritt diese Co-Speicherung nur in Gliazellen, nicht aber in Neuronen auf^[36]. Der ebenfalls inhibierende Modulator NO wird durch den NMDA-Rezeptorkanal selbst erzeugt. Durch Ca^{2+} -Einstrom kommt es zur Aktivierung der NO-Synthetase, die Arginin zu Citrullin und NO umsetzt^[36].

Des Weiteren konnten verschiedene Substanzen identifiziert und synthetisiert werden, die ausschließlich an NMDA-Rezeptoren binden, die neben NR1- auch NR2B-Untereinheiten beinhalten. Ifenprodil und Ro-25-6981 (Abbildung 15) beispielsweise sind NR2B-selektive Antagonisten. Dies zeigt, dass der NMDA-Rezeptor noch über eine Reihe weiterer allosterischer Bindungsstellen verfügt^[48,70].

2.3.3 Exzitotoxizität

Die neurotoxischen Eigenschaften, die exzitatorische Aminosäuren aufweisen, wenn sie durch verschiedene pathophysiologische Prozesse im Übermaß freigesetzt werden, wurden von J. W. Olney 1971 unter dem Begriff der Exzitotoxizität zusammengefasst^[71]. Der pathologische Prozess der Exzitotoxizität wird bei vielen akuten und chronischen neurodegenerativen Erkrankungen für den neuronalen Zelltod verantwortlich gemacht. Eine besonders wichtige Rolle kommt hierbei dem L-Glutamat und dem NMDA-Rezeptor zu^[72]. Die Aktivierung des NMDA-Rezeptors und der damit verbundene Ca^{2+} -Einstrom löst zahlreiche Prozesse in der Zelle aus, die unter bestimmten Bedingungen cytotoxisch wirken (Abbildung 16)^[40].

Die Ausschüttung von Glu führt zur Aktivierung von non-NMDA-Rezeptoren und somit zur Depolarisierung der Zellmembran. Dies aktiviert spannungsabhängige Ca^{2+} -Ionenkanäle und löst die Mg^{2+} -Blockade von NMDA-Rezeptoren. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Glycin kommt es zur Aktivierung des Rezeptors und somit zum Calciumioneneinstrom in die Zelle. Metabotrope Glutamat-Rezeptoren werden ebenfalls stimuliert, es kommt zum einen zur Aktivierung von Proteinkinase C, welche die NMDA-

Rezeptorantwort noch verstärkt und zum anderen zur Aktivierung von Phospholipase C; dies führt zur Bildung von IP₃ (Inositoltriphosphat) und der Freisetzung von Ca²⁺-Ionen aus intrazellulären Speichern im endoplasmatischen Retikulum (ER). Alle diese Prozesse führen zu einer Erhöhung der intrazellulären Calciumionenkonzentration^[40]. Ca²⁺-Ionen aktivieren als *second-messenger* zahlreiche enzymatische Reaktionen in der Zelle.

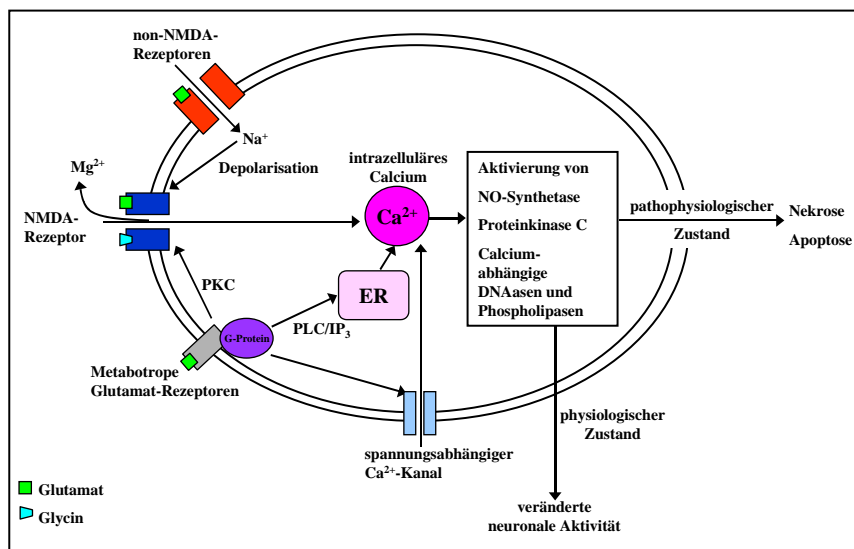


Abbildung 16: Exzitotoxizität, modifiziert nach Lynch et al.^[40]
(PKC: Proteinkinase C, PLC: Phospholipase C, IP₃: Inositoltriphosphat, ER: Endoplasmatisches Retikulum)

Bei Überstimulation kommt es zur Schädigung der Mitochondrien und zu einem starken Abfall der ATP-Spiegel in den Zellen, was zu Nekrose und Apoptose der betroffenen Neuronen führt^[37].

2.3.4 Indikationen für NMDA-Rezeptor-Liganden

Die Überstimulation von NMDA-Rezeptoren und die daraus resultierende Exzitotoxizität ist potentiell an einer Reihe von akuten und chronischen neurodegenerativen Erkrankungen beteiligt. Hierbei sind für die akuten Erkrankungen vor allem der Schlaganfall (cerebrale Ischämie), das Schädel-Hirn-Trauma und die Epilepsie, und für die chronischen Erkrankungen Morbus Parkinson, Morbus Alzheimer, AIDS-bedingte Demenz, amyotrophe Lateralsklerose (ALS) und Chorea Huntington^[6,42,73] zu nennen. NMDA-Rezeptor-Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle und der verschiedenen allosterischen Bindungsstellen könnten als Neuroprotectiva bei den verschiedenen Krankheiten

symptomatische Verbesserungen bewirken bzw. werden bereits bei der Therapie eingesetzt.

Der *open-channel* Blocker Amantadin beispielsweise findet bereits Anwendung bei der Therapie des Morbus Parkinson^[74] und Memantin wurde kürzlich von der EMEA (European Medicines Agency) und der FDA (Food and Drug Administration) für die Behandlung des Morbus Alzheimer zugelassen^[75].

Bisher hat kein Glycin-Antagonist den Weg in die therapeutische Anwendung gefunden. Licostinel (Purdue Pharma L.P.) und Gavestinel (GlaxoSmithKline) (Abbildung 13) haben für verschiedene Indikationen in der klinischen Testung die Phasen II und III erreicht, aber bei beiden Substanzen wurde inzwischen die Testung wegen zu geringen in vivo-Wirksamkeiten, möglicherweise aufgrund der schlechten Blut-Hirn-Schranken-Penetration, eingestellt^[43].

Inzwischen erhalten Substanzen, die aufgrund ihrer schlechten Penetration der BHS aus der klinischen Testung genommen wurden, wieder verstärkte Aufmerksamkeit, da mit der Erforschung der peripheren NMDAR vielleicht neue mögliche Indikationen für NMDAR-Antagonisten entstehen können^[45]. In diesem Zusammenhang sind Osteoporose, Knochenbrüche, Hautkrankheiten, Diabetes und Krebs zu nennen^[44].

Eine weitere mögliche Indikation für NMDA-Antagonisten ist die Behandlung des chronischen (neuropathischen) Schmerzes, der möglicherweise mit der durch NMDAR-vermittelten synaptischen Plastizität im Zusammenhang steht^[76]. Hierbei erhalten vor allem die NR2B-selektiven Antagonisten (Ro-25-6981 (Abbildung 15)) große Aufmerksamkeit, da sie aufgrund ihrer lokal eingeschränkten Exprimierung im ZNS deutlich bessere Nebenwirkungsprofile und ein größeres therapeutisches Spektrum bei der Schmerzbehandlung aufweisen als die unselektiven Antagonisten^[77,78]. Periphere NMDA-Rezeptoren sind vermutlich ebenfalls an der Ausbildung von Schmerzen beteiligt. Systemisch wirkende NMDA-Rezeptor-Antagonisten sollten somit ebenfalls von therapeutischem Nutzen bei der Schmerzbehandlung sein^[79].

Möglicherweise könnten NMDA-Rezeptor-Antagonisten auch bei der symptomatischen Behandlung von Drogenabhängigkeit, Depressionen und Angstzuständen von Nutzen sein^[80].

Neben der Beteiligung von Hyperaktivität der NMDAR an verschiedenen pathologischen Zuständen wird auch die Hypoaktivität von NMDAR für einige pathologische

Bedingungen verantwortlich gemacht^[81]. So beobachtet man beispielsweise bei Patienten mit Schizophrenie eine leichte Verbesserung der Symptome durch die Verabreichung von NMDA-Rezeptor-Agonisten^[82].

3 Dopamin-Rezeptoren

3.1 Dopamin

Dopamin (DA) (Abbildung 6) wird biosynthetisch über Dihydroxyphenylalanin (DOPA) aus der AS Tyrosin gewonnen^[83] und ist der dominierende Catecholamin-Neurotransmitter im zentralen Nervensystem des Menschen. Der Dopaminabbau im synaptischen Spalt erfolgt über die Enzyme Monoaminoxidase B (MAO_B) und Catechol-*O*-methyltransferase (COMT) oder über Dopamin-Transporter (DAT), die Dopamin wieder ins präsynaptische Neuron transportieren, wo es in Vesikeln gespeichert oder durch COMT, MAO_A und MAO_B abgebaut wird. Das zerebrale dopaminerge System ist an einer Reihe von physiologischen und pathophysiologischen Prozessen beteiligt^[84]. Zu den physiologischen Prozessen zählen die Motorik, Emotionen, Wahrnehmung und neuroendokrine Sekretion^[85]. Veränderungen in der dopaminergen Neurotransmission sind an verschiedenen neurologischen und psychischen Erkrankungen beteiligt. Dies tritt beispielsweise beim Morbus Parkinson, bei Schizophrenie und bei ADHD (Attention-Deficit Hyperactivity Disorder) auf^[84,86]. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass auch Drogenmissbrauch zu Veränderungen im dopaminergen System führt^[87]. Auch in der Peripherie des Körpers kommen dem Dopamin zahlreiche Aufgaben zu, so ist es an der Modulation von kardiovaskulären Funktionen und Nierenfunktion beteiligt^[84].

3.2 Klassifizierung der Dopamin-Rezeptoren

Die verschiedenen Wirkungen des Dopamins werden durch spezifische Rezeptoren vermittelt. 1978 schlug P. F. Spano^[88] die Existenz von zwei verschiedenen Dopamin-Rezeptor-Populationen vor, basierend auf biochemischen und pharmakologischen Hinweisen. Keabian und Calne^[89] benannten 1979 Dopamin-Rezeptoren, die Adenylatcyclase (AC) stimulieren, als D₁-Rezeptoren und Dopamin-Rezeptoren, die nicht an AC gekoppelt waren, als D₂-Rezeptoren.

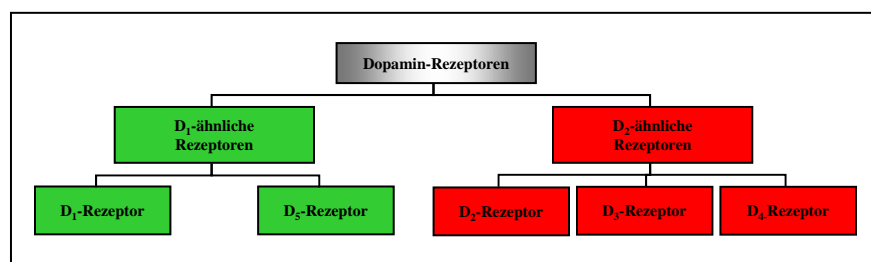


Abbildung 17: Klassifizierung der Dopamin-Rezeptoren

In den frühen achtziger Jahren wurde deutlich, dass D₂-Rezeptoren inhibierend auf AC wirken^[85]. Inzwischen sind fünf Dopamin-Rezeptor-Subtypen charakterisiert worden. Diese sind aufgrund ihrer strukturellen, pharmakologischen und biochemischen Eigenschaften in D₁-ähnliche und D₂-ähnliche Rezeptoren eingeteilt worden (Abbildung 17). Die D₁- und D₅-Rezeptoren gehören zu den D₁-ähnlichen Rezeptoren und die D₂-, D₃- und D₄-Rezeptoren werden der Gruppe der D₂-ähnlichen Rezeptoren zugeordnet^[84].

3.3 Struktur der Dopamin-Rezeptoren

Alle Dopamin-Rezeptoren sind membranständige Rezeptoren und gehören zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. D₁-ähnliche Rezeptoren stimulieren über G_S-Proteine (stimulierende G-Proteine) das Enzym Adenylatcyclase. D₂-ähnliche Rezeptoren inhibieren AC über G_I-Proteine (inhibierende G-Proteine) oder beeinflussen andere Effektorsysteme über so genannte G₀-Proteine. Alle Rezeptoren besitzen sieben transmembranäre Domänen (TM1 – TM7), einen extrazellulären N-Terminus, drei extrazelluläre und drei intrazelluläre Schleifen und einen intrazellulären C-Terminus (Abbildung 18).

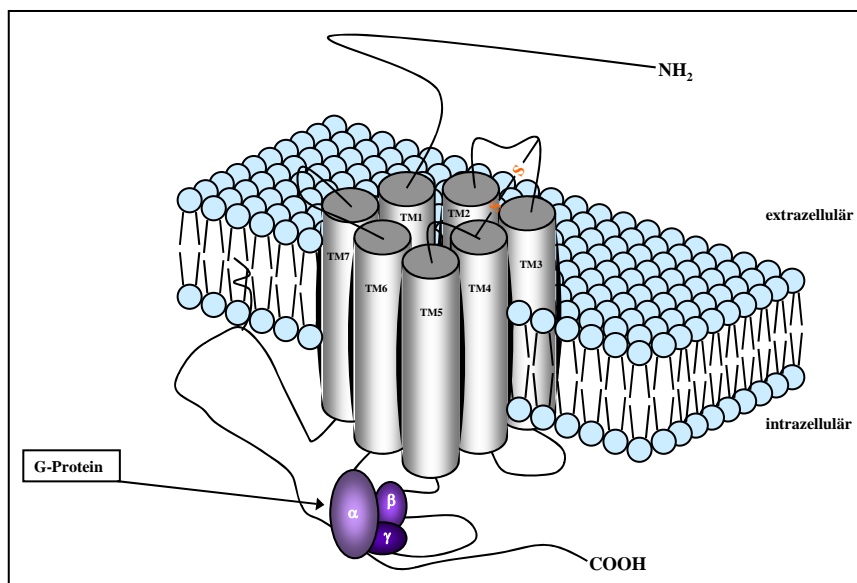


Abbildung 18: Dopamin-Rezeptor-Struktur, modifiziert nach Missale et al.^[84]

Die D₂-ähnlichen Rezeptoren weisen einen kürzeren C-Terminus und eine längere dritte intrazelluläre Schleife auf als die D₁-ähnlichen Rezeptoren^[84]. Der D₂-Rezeptor kommt in zwei Isoformen vor, die sich nur in der Länge (29 AS) der dritten intramembranären

Schleife unterscheiden. Man bezeichnet die beiden Isoformen als D_{2S} (short) und D_{2L} (long), wobei D_{2L} die dominierende Isoform ist^[83]. Unterschiede in der Pharmakologie der beiden Isoformen konnten nicht festgestellt werden^[90]. Cystein-Reste der zweiten und dritten extrazellulären Schleife bilden eine intramolekulare Disulfidbrücke aus, die zur Stabilisierung der Rezeptorstruktur beiträgt^[84]. Das G-Protein steht in Wechselwirkung mit der dritten intrazellulären Schleife des Rezeptors^[83].

Bisher konnte für die Dopamin-Rezeptoren kein schematisches 2D-Pharmakophormodell für Agonisten erstellt werden, wie es Kemp und Leeson für Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors gelang. Verschiedene Untersuchungen lassen vermuten, dass die Bindung des Dopamins innerhalb der hydrophoben transmembranären Domänen stattfindet. Bestimmte Reste innerhalb des Proteins bilden die Bindungstasche des Agonisten aus. So ist ein Aspartat-Rest in TM3 an der Bindung der kationischen Aminogruppe des Dopamins beteiligt, Serin-Reste in TM5 sind Wasserstoffbrücken-Donoren für die Bindung der Hydroxy-Gruppen und ein Phenylalanin-Rest in TM6 interagiert mit der aromatischen Funktionalität des Agonisten^[84]. Die Bindung anderer spezifischer Agonisten und/oder Antagonisten findet ebenfalls innerhalb dieses Bindungsstellenspalts statt, der sich von der extrazellulären Oberfläche des Rezeptors in die transmembranären Domänen erstreckt, wobei vermutlich andere Reste des Proteins die Bindung beeinflussen^[91,92]. Essentiell für die Bindung und Aktivierung von Dopamin-Rezeptoren ist ein aromatischer Ring, eine basische Aminofunktion, die über Coulomb-Wechselwirkungen mit Resten in TM3 interagiert, und eine funktionelle Gruppe, die mit Resten in TM5 zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen befähigt ist^[26].

3.4 Lokalisation, Funktion und Signaltransduktion der Dopamin-Rezeptoren

Das Gehirn weist vier verschiedene axonale dopaminerge Projektionsbahnen auf, die dem Mesencephalon (Mittelhirn) und dem Hypothalamus entstammen^[93] (Abbildung 19). Man unterscheidet zwischen der nigro-striatalen, der mesocorticalen, der mesolimbischen und der tuberoinfundibulären Projektionsbahn. Die nigro-striatale Projektionsbahn innerviert ausgehend von der Substantia nigra pars compacta (SN_c) das Striatum (Putamen und Nucleus caudatus). Sie ist an der Regulation der Motorik beteiligt, ihre Degeneration ist die Ursache des Morbus Parkinson. Die mesocorticale Projektionsbahn kommt aus der Area tegmentalis ventralis (VTA). Sie innerviert verschiedene Regionen des frontalen

Cortex und ist vermutlich an Prozessen des Lernens und des Gedächtnisses beteiligt. Ebenfalls aus der VTA kommt die mesolimbische Projektionsbahn, die verschiedene Teile des limbischen Systems (Nucleus accumbens, Mandelkernkomplex, Calleja-Inseln) innerviert; sie beeinflusst emotionale und kognitive Funktionen. Die tuberoinfundibuläre Projektionsbahn befindet sich im Hypothalamus und steuert die Prolactin-Freisetzung aus der Hypophyse^[83].

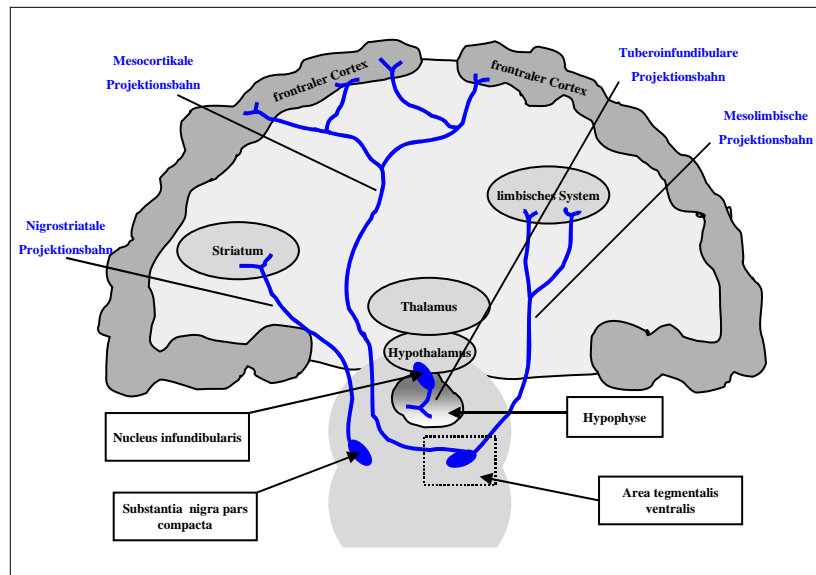


Abbildung 19: Dopaminerge Projektionsbahnen, modifiziert nach W. E. Müller^[94]

Die fünf Dopamin-Rezeptor-Subtypen treten mit verschiedener Häufigkeit auf, sind in unterschiedlichen Teilen des Gehirns lokalisiert und somit an verschiedenen physiologischen Prozessen beteiligt. Die Häufigkeit nimmt mit der Reihenfolge $D_1 > D_2 > D_3 > D_5 > D_4$ ab. D_1 -Rezeptoren sind somit die häufigsten und weitverbreitetsten Dopamin-Rezeptoren im ZNS. Neben den zentralen Dopamin-Rezeptoren findet man auch in zahlreichen peripheren Geweben alle Dopamin-Rezeptor-Subtypen. Die Lokalisationen und Funktionen der verschiedenen Rezeptor-Subtypen sind in Tabelle 1 aufgelistet^[84]. D_1 -ähnliche Rezeptoren sind ausschließlich postsynaptisch lokalisiert. Die D_2 -ähnlichen Rezeptoren sind sowohl post- als auch präsynaptisch lokalisiert, wobei es sich bei den präsynaptischen Autorezeptoren hauptsächlich um D_2 -Rezeptoren handelt^[85].

Tabelle 1: Lokalisation und Funktion von Dopamin-Rezeptor-Subtypen^[84]

Subtypen		Lokalisation (zentral)	Funktion (zentral)	Lokalisation (peripher)	Funktion (peripher)
D ₁ -ähnliche	D ₁	Striatum, Nucleus accumbens, limbisches System, Thalamus, Hypothalamus	Regulation von Motorik, Kognition, Motivation, Sekretion der Nebenschilddrüsenhormone	Blutgefäße, Nebenniere, Niere	Vasodilatation, Stimulation von Adrenalin-Freisetzung, Erhöhung der Filtrationsrate, Renin-Freisetzung und Erniedrigung der Na ⁺ -Reabsorption
	D ₅	Hippocampus, Thalamus	Lernen, Gedächtnis (nicht gesichert)		
D ₂ -ähnliche	D ₂	Striatum, Nucleus accumbens, Substantia nigra pars compacta, Area tegmentalis ventralis	Regulation von Motorik, Kognition, Motivation, neuronale Dopaminaktivität, Sekretion der Hypophysenhormone	Blutgefäße, Nebenniere, Niere	Inhibierung von Noradrenalin-Freisetzung, Inhibierung der Aldosteron-Freisetzung
	D ₃	limbisches System, Striatum (gering)	Regulation emotionaler und kognitiver Funktionen		
	D ₄	Frontaler Cortex, Medulla oblongata, Amygdala, Hypothalamus, Mesencephalon	Emotionen, Kognition (nicht gesichert)		

Dopamin-Rezeptoren aktivieren zahlreiche Signaltransduktionswege. Am besten untersucht sind die Aktivierung oder Inhibierung der cAMP-Signaltransduktion (cyclisches Adenosinmonophosphat) und die Modulation von Ca²⁺-Signaltransduktion; diese sollen hier genauer beschrieben werden (Abbildung 20). Die Stimulation der intrazellulären Effektoren ist bei allen Dopamin-Rezeptoren G-Protein vermittelt^[83]. Die D₁-ähnlichen Rezeptoren (D₁ und D₅) sind an stimulierende G-Proteine (G_S) gekoppelt und aktivieren das membranständige Enzym Adenylatcyclase. Dadurch kommt es zur Bildung von cAMP aus Adenosintriphosphat (ATP). Der *second-messenger* cAMP wiederum aktiviert Proteinkinase A, die dann verschiedene Funktionsproteine (z. B. Ionenkanäle) phosphoryliert. Das membranständige Enzym Phospholipase C wird ebenfalls von D₁-ähnlichen Rezeptoren aktiviert, dadurch wird die Produktion von Inositoltriphosphat und somit die Freisetzung von Ca²⁺-Ionen aus intrazellulären Speichern angeregt. Die Calciumionen aktivieren weitere enzymatische Reaktionen. Die D₂-ähnlichen Rezeptoren dagegen sind an G_{I/O}-Proteine gekoppelt und inhibieren AC und die vermehrte Bildung von

cAMP. Des Weiteren aktivieren sie verschiedene Kaliumionenkanäle, was zur Stimulation verschiedener weiterer G-Proteine führt, die ihrerseits verschiedene Ionenkanäle beeinflussen^[84,85].

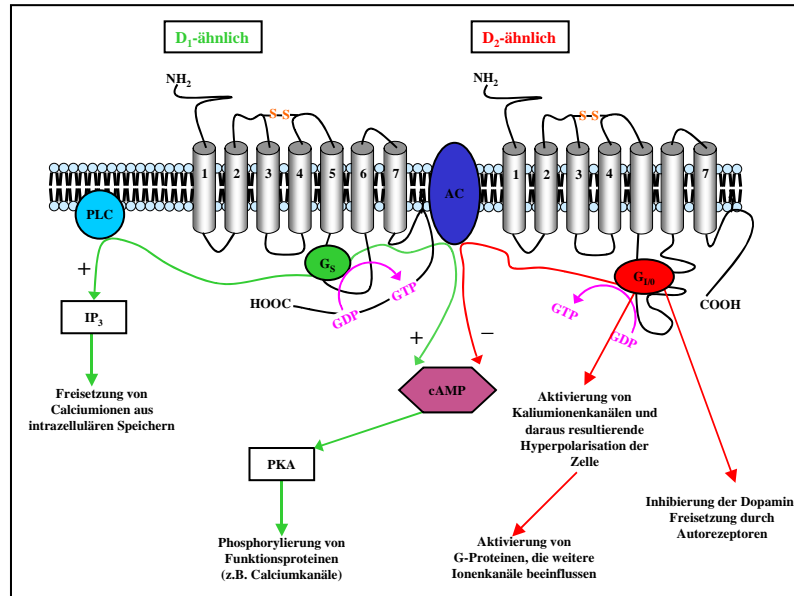


Abbildung 20: Signaltransduktion D₁-ähnlicher und D₂-ähnlicher Rezeptoren

(AC: Adenylatcyclase, GTP: Guanosintriophosphat, GDP: Guanosindiphosphat, cAMP: cyclisches Adenosinmonophosphat, PKA: Proteinkinase A, PLC: Phospholipase C, IP₃: Inositoltriphosphat)

D₂-ähnliche Rezeptoren inhibieren über Wechselwirkungen mit G₀-Proteinen verschiedene Calciumionenkanäle und modulieren somit ebenfalls die intrazelluläre Calciumionenkonzentration^[95].

3.5 Indikationen für Dopamin-Rezeptor-Liganden

D₁-ähnliche und D₂-ähnliche Rezeptoren sind von ihren pharmakologischen Profilen her relativ unterschiedlich. Für die D₂-ähnlichen Rezeptoren sind bereits eine Reihe strukturell unterschiedlicher Liganden bekannt. Deutlich weniger selektive Liganden für D₁-ähnliche Rezeptoren (Abbildung 21) konnten bisher identifiziert werden^[26]. Innerhalb der beiden Untergruppen fällt die pharmakologische Differenzierung zwischen den einzelnen Subtypen schwerer^[84]. Bisher konnten keine D₁- oder D₅-selektiven Agonisten und Antagonisten hergestellt werden, wodurch das Wissen über die physiologische Bedeutung der D₁-Rezeptoren limitiert und der D₅-Rezeptoren nahezu nicht vorhanden ist^[96].

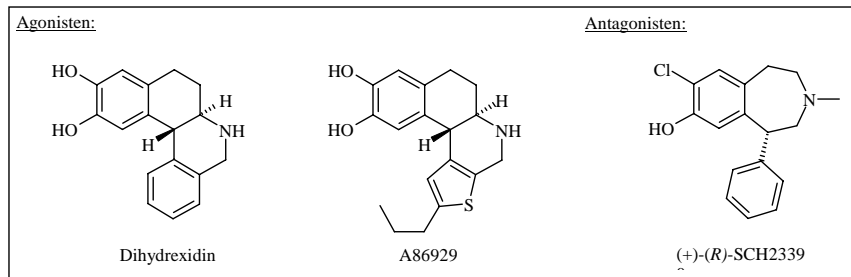


Abbildung 21: D₁-ähnlich-selektive Dopamin-Rezeptor-Liganden

Innerhalb der Gruppe der D₂-ähnlichen Rezeptoren ist es dagegen bereits gelungen, relativ selektive Liganden für die einzelnen Subtypen zu identifizieren (Abbildung 22). Hierbei war es erstaunlich schwierig, Substanzen mit Selektivitäten für den D₂-Rezeptor gegenüber D₃- und D₄-Rezeptoren zu identifizieren. Inzwischen konnten sowohl Agonisten als auch Antagonisten mit Selektivitäten für D₂- oder D₃-Rezeptoren synthetisiert werden. Bisher konnten zahlreiche D₄-selektive Antagonisten hergestellt werden, allerdings gelang es lange nicht, selektive Agonisten zu identifizieren^[96]. Mittlerweile hat sich herausgestellt, dass ein Teil der als D₄-selektiv klassifizierten Antagonisten eigentlich agonistisch wirken, wie beispielsweise die Substanz L-745,870 (Abbildung 22)^[97].

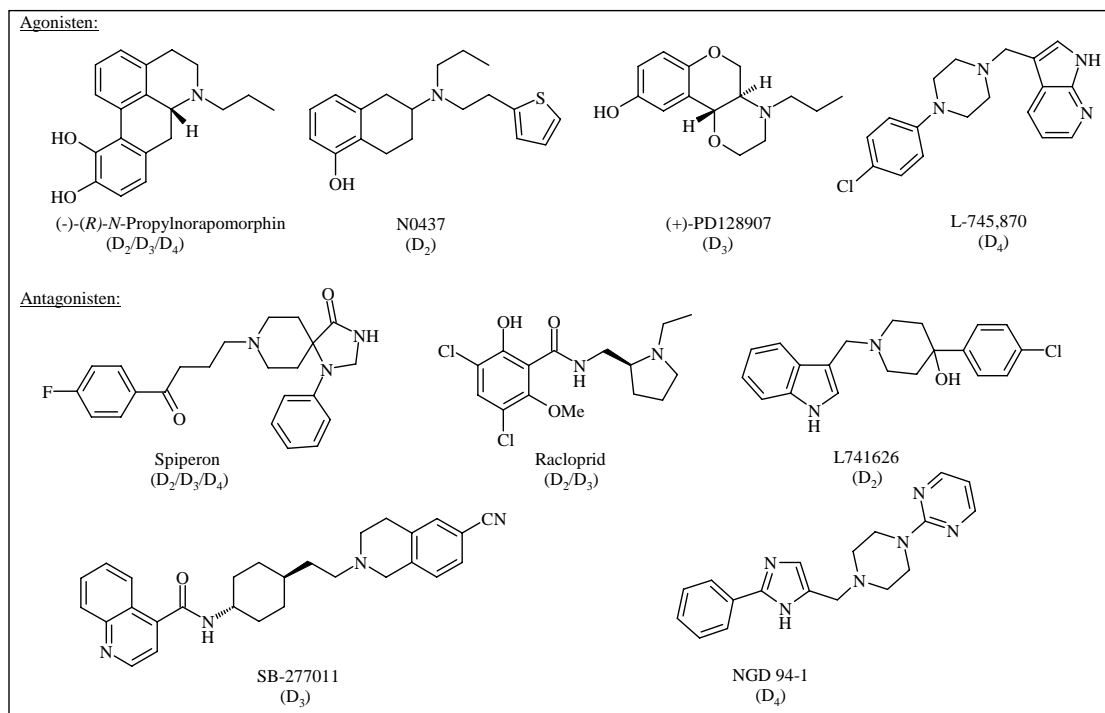


Abbildung 22: D₂-ähnlich-selektive Dopamin-Rezeptor-Liganden

Veränderungen in der dopaminergen Neurotransmission sind direkt oder indirekt an verschiedenen Gehirndysfunktionen beteiligt^[85]. Nach der traditionellen „Dopamin-Hypothese“, die hauptsächlich auf pharmakologischen Befunden beruht, hängen Schizophrenie und andere psychotische Symptome mit einer Hyperaktivität von dopaminergen Projektionsbahnen im limbischen System zusammen, während beim Morbus Parkinson eine Hypoaktivität in der nigro-striatalen Projektionsbahn vorliegt^[98].

3.5.1 Dopamin-Rezeptor-Agonisten

Dopamin-Rezeptor-Agonisten werden zur Behandlung der Hyperprolactinämie und vor allem des Morbus Parkinson eingesetzt^[99]. Die nigrostriatale Projektionsbahn, die beim Morbus Parkinson aufgrund der Degeneration von Neuronen hypoaktiv ist, weist sowohl D₁-ähnliche als auch D₂-ähnliche Rezeptoren auf. Die Behandlung von Parkinson-Kranken erfolgt nahezu ausschließlich mit D₂-selektiven Agonisten, die die motorische Aktivität bei den Patienten erhöhen. Selektive D₁-ähnliche Agonisten führen zu keiner Verbesserung der Symptomatik. Die gleichzeitige Gabe von D₁-Rezeptor- und D₂-Rezeptor-Agonisten zeigt eine stärkere Wirkung als die alleinige Gabe von D₂-Rezeptor-Agonisten (D₁/D₂-Synergismus), allerdings weisen D₁-Rezeptor-Agonisten starke Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen auf und sind dadurch in ihrer klinischen Anwendung limitiert^[83]. Apomorphin (Abbildung 23) ist einer der wenigen Dopamin-Rezeptor-Agonisten mit Affinität zu D₁- und D₂-ähnlichen Rezeptoren, der klinische Anwendung findet^[100].

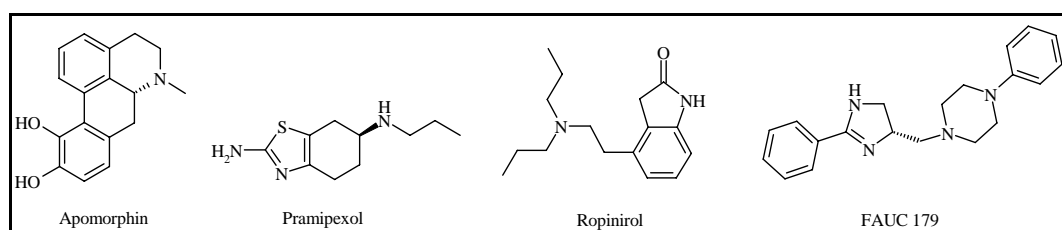


Abbildung 23: Dopamin-Rezeptor-Agonisten

Verschiedene D₂-Rezeptor-Agonisten werden zur Therapie des Morbus Parkinson eingesetzt. Hierzu zählen beispielsweise die Ergot-Derivate Cabergolin, Lisurid und die non-Ergot-Derivate Pramipexol und Ropinirol (Abbildung 23)^[100]. Neben der symptomatischen Verbesserung der Krankheit werden auch neuroprotektive Eigenschaften bei D₂-Rezeptor-Agonisten vermutet^[100,101].

Psychomotorisch stimulierende Substanzen (Kokain, Amphetamine) und Substanzen mit psychomotorisch stimulierenden Komponenten (Opioide, Ethanol und Nicotin) sind indirekte Dopamin-Rezeptor-Agonisten^[99] und erhöhen über verschiedene Mechanismen die Aktivität des mesolimbischen dopaminergen Systems. Die hohe Dichte von D₃-Rezeptoren im limbischen System macht sie zum optimalen Angriffsort für Substanzen, die in der Suchttherapie wirksam sein sollen. D₃-Rezeptor-Agonisten und partielle Agonisten zeigen sich vielversprechend in der Substitutionstherapie^[86,102].

Selektive D₄-Rezeptor-Agonisten oder partielle Agonisten, wie FAUC 179, könnten für die Behandlung von ADHD hilfreich sein^[103], da neuere Untersuchungen bezüglich dieser Krankheit auf Dysregulationen in verschiedenen Catecholaminsystemen hindeuten^[104].

3.5.2 Dopamin-Rezeptor-Antagonisten

Die so genannten typischen Neuroleptika, wie Haloperidol (Abbildung 24), die zur Behandlung von Schizophrenie eingesetzt werden, sind Subtyp-unspezifische D₂-ähnliche Antagonisten, die neben ihrer antipsychotischen Wirkung auch starke extrapyramidale Störungen (EPS) als Nebenwirkungen aufweisen^[98].

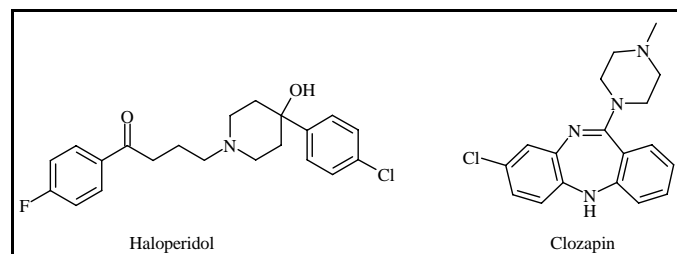


Abbildung 24: Neuroleptika

Die antipsychotische Wirkung wird mit der Blockade von Dopamin-Rezeptoren im mesolimbischen System, die EPS dagegen mit der Blockade von Dopamin-Rezeptoren im Striatum in Zusammenhang gebracht^[105]. Die verschiedenen Subtypen der D₂-ähnlichen Rezeptoren weisen verschiedene Verteilungen im Gehirn auf, D₃- und D₄-Rezeptoren zeigen nur geringe Expression im Striatum. Des Weiteren zeigen verschiedene postmortale Untersuchungen von Schizophrenie-Kranken, dass der D₄-Rezeptor^[106] und möglicherweise auch der D₃-Rezeptor^[87] im Gehirn überexprimiert wurde. Das atypische Neuroleptikum Clozapin (Abbildung 24) zeigt eine gewisse Selektivität für den D₄-Rezeptor gegenüber dem D₂-Rezeptor und führt nicht zu EPS Nebenwirkungen. Dies lässt

darauf schließen, dass der D₄-Rezeptor ein gutes Ziel für die Behandlung von Schizophrenie sein könnte. Verschiedene selektive D₄-Rezeptor Antagonisten sind synthetisiert worden und in die klinische Prüfung gelangt (z. B. NGD 94-1 (Abbildung 22))^[106]. Allerdings erwiesen sich selektive D₄-Rezeptor-Antagonisten in klinischen Studien als ineffektiv. Das bereits erwähnte Clozapin besitzt neben der Selektivität für den D₄-Rezeptor auch noch antagonistische Aktivität am Serotonin-Rezeptor 5-HT_{2A} und anderen Catecholamin-Rezeptoren. Die Interaktion zwischen dem dopaminergen und serotonergen System scheint für die antipsychotische Wirkung nötig zu sein^[107]. Ein weiterer Ansatz ist die Entwicklung von partiellen D₂-Rezeptor-Agonisten, die selektiv D₂-Autorezeptoren aktivieren und postsynaptische D₂-Rezeptoren inhibieren. Dies sollte die Behandlung der positiven Symptome, die auf Dopaminhyperaktivität beruhen, und der negativen Symptome, die auf Dopaminhypoaktivität zurückzuführen sind, ermöglichen und geringe EPS aufweisen^[108,109].

Ebenfalls interessant ist die Entwicklung von D₃-selektiven Antagonisten, da der D₃-Rezeptor fast ausschließlich im limbischen System exprimiert wird. Neben der Anwendung in der Schizophrenie-Therapie könnten sie auch in der Behandlung von Suchtkrankheiten bei der Rückfallprophylaxe (Kokain, Amphetamine, Alkohol) hilfreich sein^[105]. Verschiedenen D₃-Rezeptor-Antagonisten befinden sich derzeit in der klinischen Testung im Rahmen der Therapie der Schizophrenie und klinische Studien bezüglich der Therapie von Suchtkranken sollten ebenfalls in Kürze beginnen^[87].

4 Morbus Parkinson

Die Parkinsonsche Erkrankung (PD) ist eine der meist verbreiteten neurodegenerativen Erkrankungen^[110]. Alleine in den USA sind über eine Million Menschen betroffen. Da die Erkrankung mit zunehmendem Alter häufiger auftritt, erwartet man einen drastischen Anstieg der Zahl der Betroffenen aufgrund der zunehmenden Überalterung der Gesellschaft^[111]. Das Krankheitsbild des Morbus Parkinson wurde erstmalig 1817 von James Parkinson, einem englischen Arzt, beschrieben^[74]. Es handelt sich um eine langsam fortschreitende Erkrankung, deren Auftreten durch verschiedene Faktoren beeinflusst wird. Hierzu zählen Alter, Umwelteinflüsse, aber auch genetische Faktoren^[55]. Bei der PD treten verschiedene Symptomkomplexe auf. Die Hauptsymptome beeinträchtigen die Motorik des Betroffenen und äußern sich als Bradykinesie, bei schweren Fällen auch Akinesie, Ruhetremor und Rigor. Weitere Symptome sind die vegetativen Störungen, wie verstärkter Speichelfluss (Hypersalivation), Schlafstörungen und Hypotonie. Aber auch psychische Störungen, z. B. Depressionen und Demenz, werden beobachtet^[74]. Je nach Stärke der einzelnen motorischen Symptome unterscheidet man verschiedene Formen der PD. Die häufigste Form (80-90 %) ist die idiopathische (äquivalente) PD, bei der alle motorischen Symptome gleichermaßen auftreten. Des Weiteren gibt es den Akinetischen-Rigor Typ und den Tremor-dominanten Typ, bei denen die jeweiligen Symptome vermehrt auftreten^[112].

4.1 Pathophysiologie und Pathogenese des Morbus Parkinson

Die massive Degeneration (60-80 %) von dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra pars compacta führt zum Auftreten klinischer Symptome der PD^[113,114]. Der Niedergang der Neuronen führt zu einem Ungleichgewicht zwischen inhibitorischen (Dopamin und GABA) und exzitatorischen (Acetylcholin und Glutamat) Neurotransmittern in den Basalganglien, die für die Kontrolle der Motorik mitverantwortlich sind^[110,115]. Ein pathologisch-anatomisches Zeichen für den Zelluntergang ist das Auftreten von Lewy-Körperchen, cytoplasmatische Einschlüsse in zugrunde gehenden Dopamin-Neuronen^[115]. Die Ursache für die spezifische Neurodegeneration ist bisher unbekannt, vermutlich sind genetische Mutationen und Umweltfaktoren beteiligt^[110,111]. Der Mechanismus des Zelluntergangs ist ebenfalls noch nicht eindeutig geklärt. Sicherlich sind oxidativer Stress, der durch den Metabolismus des Dopamins ausgelöst wird (Hypothese der Autotoxizität des Dopamins)^[5], Fehlfunktionen der Mitochondrien^[111] und Exzitotoxizität durch

Überaktivierung von Glutamat-Rezeptoren^[55,115,116] am Entstehen und Fortschreiten der Degeneration beteiligt.

4.2 Signaltransduktion der extrapyramidal-motorischen Basalganglienschleife

Das pyramidale System des zentralen Nervensystems koordiniert alle Bewegungsabläufe des Körpers. Dieses System wird durch die extrapyramidal-motorische Basalganglienschleife moduliert, d. h. gewollte Bewegungen werden gefördert, ungewollte Bewegungen werden unterdrückt. Diese Modulation beruht auf einem komplizierten Schaltkreis von inhibitorisch und exzitatorisch innervierten Neuronen (Abbildung 25).

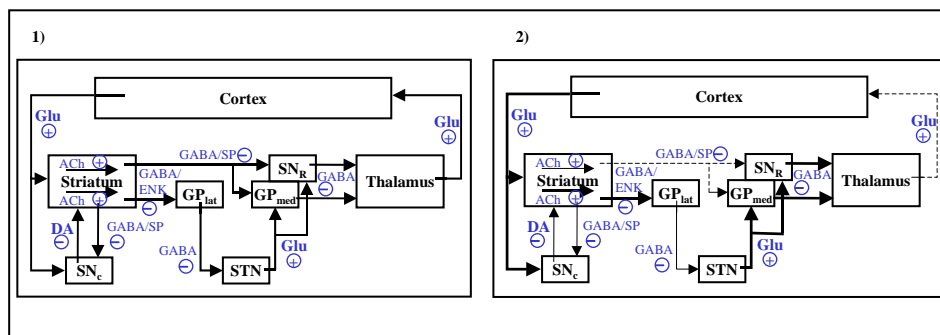


Abbildung 25: Extrapyramidal-motorische Basalganglienschleife,

1) beim Gesunden und 2) beim Parkinson-Kranken^[116] (SN_c: Substantia nigra pars compacta, GP_{lat}: Globus pallidus lateralis, GP_{med}: Globus pallidus medialis, STN: Nucleus subthalamicus, SN_R: Substantia nigra pars reticularis, Glu: Glutamat, ACh: Acetylcholin, DA: Dopamin, GABA: γ -Aminobuttersäure, ENK: Enkephaline, SP: Substanz P)

Der Schaltkreis der Basalganglien übermittelt Informationen vom zerebralen Cortex zum Thalamus, wo sensomotorische Meldungen aus der Körperperipherie gefiltert werden, und wieder zurück zum zerebralen Cortex. Der Corpus Striatum (Putamen und Nucleus caudatus), der Eingangskern der Basalganglien, wird exzitatorisch von Glutamat-Neuronen aus dem Cortex innerviert. Der Weg zum Thalamus umfasst eine direkte und eine indirekte Unterschleife. Die direkte Schleife führt über die Substantia nigra pars reticularis (SN_R) oder den Globus pallidus medialis (GP_{med}) direkt zum Thalamus. Die Innervierung läuft ausschließlich über den inhibitorischen Neurotransmitter GABA, in manchen Teilen wirkt Substanz P als Cotransmitter. Bei der indirekten Schleife führt der Weg von einem anderen Teil des Striatums zum Thalamus zunächst über den Globus pallidus lateralis (GP_{lat}) zum Nucleus subthalamicus (STN), beide durch GABAerge Neuronen innerviert. Vom STN führen exzitatorische Glutamat-Neuronen in den GP_{med} und die SN_R. Da beide Schleifen mit unterschiedlichen Effekten, die direkte Schleife inhibitorisch und die indirekte Schleife

exzitatorisch, im GP_{med} und SN_r enden, kontrolliert ein empfindliches Gleichgewicht zwischen den beiden Effekten die Stärke des Signals, das an den Thalamus weitergeleitet wird. Je stärker der Thalamus inhibitorisch vom GP_{med} innerviert wird, desto stärker werden die sensomotorischen Meldungen gefiltert, bevor sie an den Cortex weitergeleitet werden. Die Signalübermittlung vom Thalamus zurück zum Cortex erfolgt wieder über glutamaterge Neuronen. Moduliert werden die beiden Unterschleifen von dopaminergen Neuronen aus der Substantia nigra pars compacta (SN_c). Dopamin aktiviert über D_1 Rezeptoren cholinerge Interneuronen der direkten Schleife im Corpus Striatum und inhibiert über D_2 Rezeptoren cholinerge Interneuronen der indirekten Schleife im Corpus Striatum^[116].

Durch das Absterben der dopaminergen Neuronen in der SN_c beim Parkinson-Kranken kommt es zu einem Ungleichgewicht zwischen den beiden Neurotransmittern Dopamin und Acetylcholin^[100,110]. Dieses Ungleichgewicht führt zu einer verringerten Aktivität der direkten inhibitorischen extrapyramidal-motorischen Basalganglienschleife. Die indirekte Schleife dagegen, und somit die glutamatergen Neuronen aus dem STN, wird stärker aktiviert. Dies führt zu einer höheren Aktivierung des Globus pallidus medialis und somit zu einer gesteigerten Inhibierung des Thalamus. Dadurch wird die Filterfunktion der sensomotorischen Signale extrem verstärkt und es treten parkinsontypische motorische Störungen auf^[100,116].

4.3 Medikamentöse Therapie des Morbus Parkinson

Die wichtigsten Aufgaben der Parkinson-Therapie sind zum einen, die Dopamin-Konzentration in den betroffenen Gebieten zu erhöhen, und zum anderen das Fortschreiten der neuronalen Degeneration zu verlangsamen. Alle bisherigen therapeutischen Ansätze können ausschließlich die Symptomatik verbessern, aber nicht die PD heilen^[110]. Weiterhin problematisch bleibt auch die Diagnostik des Morbus Parkinson. Allerdings konnten hier deutliche Verbesserungen durch die Entwicklung neuer PET(positron emission tomography)- und SPECT(single photon emission computed tomography)-Liganden erzielt werden^[115]. Wie aus den vorangegangenen Kapiteln hervorgeht, bieten sich verschiedene Klassen von Arzneistoffen zur Behandlung des Parkinson-Patienten an. Hierzu gehören Dopamin-Rezeptor-Agonisten, NMDA-Rezeptor-Antagonisten und Muscarin-Rezeptor-Antagonisten (Anticholinergika). Ebenfalls therapeutisch einsetzbar sind Substanzen, die die Bioverfügbarkeit und Halbwertszeit von Dopamin erhöhen. Dies sind zum einen

Dopamin Re-Uptake Inhibitoren und Inhibitoren der Enzyme, die am Dopamin-Abbau beteiligt sind. Hierzu zählen Monoaminoxidase B (MAO_B)-Inhibitoren und Catechol-*O*-methyl-transferase (COMT)-Inhibitoren^[74].

Dopamin und Dopamin-Rezeptor-Agonisten:

Dopamin selbst eignet sich nicht zur Therapie, da es zu starke periphere Nebenwirkungen zeigt und sehr schlecht die Blut-Hirn-Schranke passiert. Die Dopamin-Vorstufe Levodopa (L-DOPA) (Abbildung 26) dagegen wird als Aminosäure aktiv über die Blut-Hirn-Schranke transportiert und ist bis heute der wirksamste und wichtigste Parkinson-Arzneistoff. Levodopa wird fast immer in Kombination mit einem nicht ZNS-gängigen Dopadecarboxylase-Hemmer, wie Carbidopa (Abbildung 26), verabreicht, da sonst schon in der Peripherie große Teile von Levodopa zu Dopamin abgebaut werden. Diese Kombination führt zu einer Verringerung der benötigten oralen Dosis von Levodopa und der Nebenwirkungen, die durch peripheres Dopamin entstehen würden. Problematisch bei der Therapie mit Levodopa sind die nach einiger Zeit (etwa 5 Jahre) auftretenden Wirkungseinschränkungen, Wirkungsfluktuationen und Dyskinesien, die vermutlich auf die fortschreitende Degeneration von dopaminergen Neuronen zurückzuführen sind^[110,115]. Dopamin-Rezeptor-Agonisten, die ebenfalls Dopamin-Rezeptoren stimulieren, werden in Kombination mit Levodopa verwendet, um die Dosis des Letzteren zu reduzieren, oder in Kombination mit dem MAO_B-Hemmer Selegelin (Abbildung 26) verabreicht. In der Therapie der PD werden ausschließlich D₂-selektive Agonisten, wie Ropinirol (D₂/D₃) und Pramipexol (D₃-Präferenz) (Abbildung 26), eingesetzt. D₁-selektive Agonisten bewirken keine Verbesserung der Symptomatik. Typische Nebenwirkungen von Levodopa und Dopamin-Rezeptor-Agonisten sind Übelkeit, Erbrechen, Schwindel und Hypotonie^[115]. Das Enzym Catechol-*O*-methyl-transferase (COMT) ist für den Abbau von Dopamin und Levodopa verantwortlich. Kombinationen von Levodopa mit einem COMT-Inhibitor verringern ebenfalls die benötigte Dosis. Entacapon (Abbildung 26) ist ein Vertreter dieser Wirkstoffklasse^[115]. Eine weitere Möglichkeit, um die Dopamin-Konzentration im synaptischen Spalt zu erhöhen, ist der Einsatz von so genannten Re-Uptake Inhibitoren. Diese Substanzen blockieren die Dopamin-Transporter der Neuronen, die nach Weiterleitung eines Aktionspotentials das ausgeschüttete Dopamin wieder in die Zelle aufnehmen. Die potentesten Blocker dieser Transporter sind Amphetamin und Kokain, die aber aufgrund ihres Missbrauchspotentials und schwerer Nebenwirkungen nicht

therapeutisch eingesetzt werden. Momentan befindet sich Brasofensin in Phase II der klinischen Testung^[115,117].

Muscarin-Rezeptor-Antagonisten:

Anticholinergika sind die ältesten Parkinson-Therapeutika^[100]. Da sie nur geringe Verbesserungen der motorischen Symptome bewirken^[110] und Demenzzustände verstärken können, ist ihr Einsatz gerade bei älteren Patienten problematisch^[74]. Die Gabe von Muscarin-Rezeptor-Antagonisten verbessert allerdings die vegetativen Symptome (verstärkter Speichelfluss, Schlafstörungen) des Parkinson-Kranken. Benztropin (Abbildung 26) wird beispielsweise bei Parkinson-Patienten in Kombination mit Levodopa eingesetzt^[110].

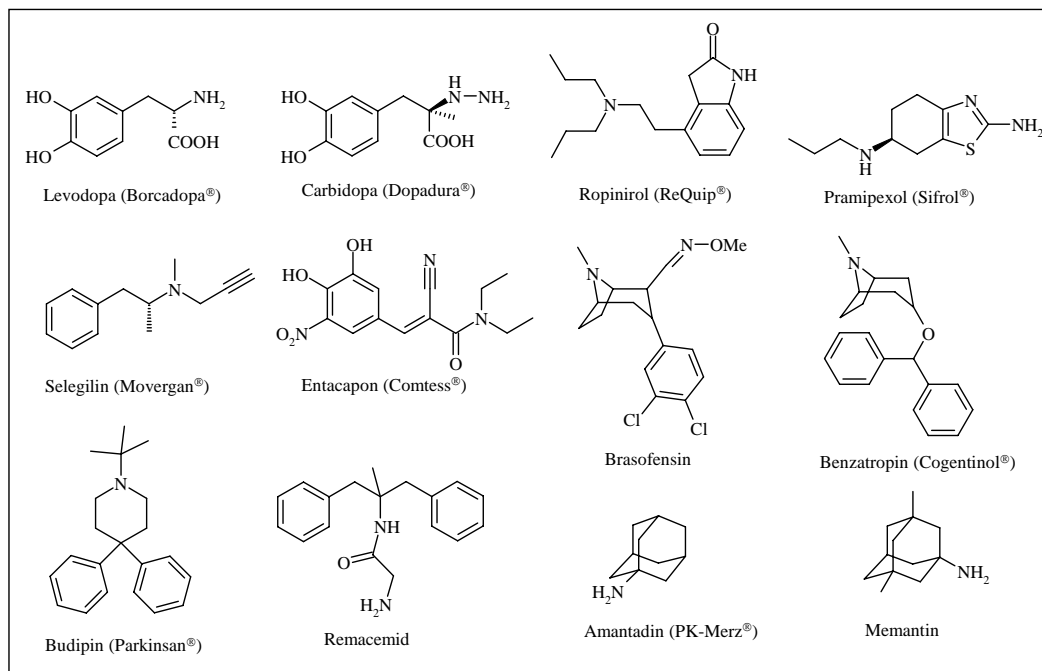


Abbildung 26: Antiparkinsonmittel

Anticholinergika haben ebenso wie L-DOPA und Dopamin-Rezeptor-Agonisten keinen Einfluss auf das Fortschreiten der Krankheit^[100].

NMDA-Rezeptor-Antagonisten:

NMDA-Rezeptor-Antagonisten bewirken als Monotherapeutika eine Verschlechterung der Parkinson-Symptomatik. Es kommt zwar einerseits zu verringerter Aktivität der überaktivierten glutamatergen Neuronen vom Nucleus subthalamicus zum Globus pallidus

medialis, aber auch zu einer verringerten Aktivität der glutamatergen Neuronen vom Thalamus zum Cortex, die beim Parkinson-Patienten bereits verringerte Aktivität zeigen (Abbildung 25). Die Kombination mit Levodopa oder Dopamin-Rezeptor-Agonisten führt aber zu synergistischen Effekten auf die Bewegungsaktivität der Patienten^[116]. NMDA-Rezeptor-Antagonisten beeinflussen auch die dopaminerge Neurotransmission. Die Aktivität dopaminerger Neuronen wird verstärkt und die Dopamin-Freisetzung aus intrazellulären Speichern gefördert^[118]. Bisher werden nur Amantadin und Budipin^[74] (Abbildung 26) als Antiparkinsonmittel eingesetzt, aber mit Remacemid und Memantin (Abbildung 26) befinden sich zwei weitere NMDA-Rezeptor-Antagonisten in Phase III der klinischen Testung. Weitere neuere Substanzen befinden sich in verschiedenen Phasen der klinischen Testung^[75,115].

Da Exzitotoxizität durch Überaktivierung von Glutamat am Zelluntergang beim Morbus Parkinson beteiligt ist, können die NMDA-Rezeptor-Antagonisten aufgrund ihrer neuroprotektiven Wirkung möglicherweise auch zu einer Verlangsamung des Fortschreitens der Krankheit beitragen^[37,115].

Aufgrund der komplexen neuronalen Interaktionen gibt es noch verschiedene andere Angriffspunkte für Antiparkinsonmittel. Beispielsweise in Neurotransmittersystemen, die regulierende Effekte auf endogenes und exogenes Dopamin ausüben^[115]. Hier befinden sich unter anderem verschiedene Adenosin-Rezeptor-Antagonisten^[74,115] und Nicotin-Rezeptor-Agonisten in der Entwicklung^[115]. Ebenso werden verschiedene Neuroprotektiva getestet, wie Vitamin E als Antioxidans^[115]. Neben der medikamentösen Therapie wird der Morbus Parkinson in besonders schweren Fällen auch über chirurgische Eingriffe therapiert. Hierbei werden Techniken wie die Cryothalamotomy und Pallidotomy verwendet. Diese dienen ausschließlich der Behandlung von starkem Tremor und Bradykinesien^[110]. Untersucht werden auch die Möglichkeiten von Zelltransplantationen Dopaminsynthetisierender Zellen und verschiedene Gentherapien^[110].

Spezieller Teil

5 Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit sollen Liganden entwickelt werden, die Strukturmerkmale von Antagonisten an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors und von Dopamin-Rezeptor-Agonisten enthalten (**III** und **IV**). Diese sollen neben der Affinität zur Gly_B-B des NMDA-Rezeptors auch Affinität zu Dopamin-Rezeptoren aufweisen.

Die entsprechenden Hybrid-Moleküle sollen als überlappender Typ aus der Struktur der Thieno[2,3-*b*]pyridinone **I**, die als Glycin_B-B-Antagonisten wirken, und der Struktur des endogenen Liganden Dopamin **II** bzw. des Dopamin-Rezeptor-Agonisten Ropinirol **IV** entwickelt werden.

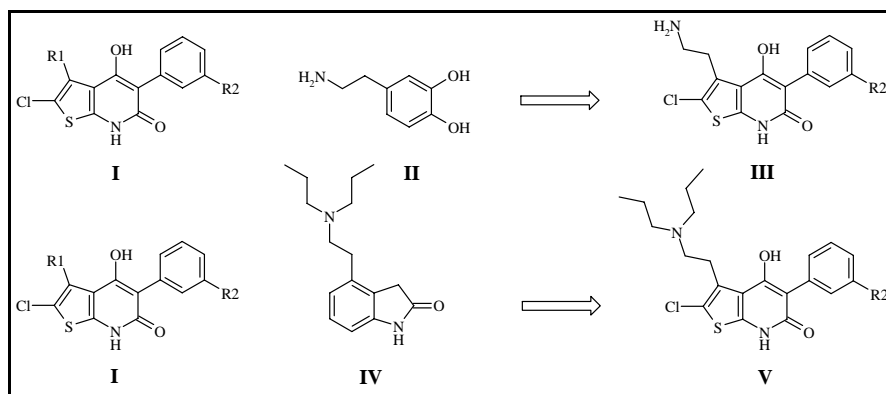


Abbildung 27: Hybrid-Moleküle

Zunächst soll durch einfache Methoden des Molecular Modeling, Erstellung energieminimierter Strukturen durch semi-empirische Kraftfeldrechnungen (MOPAC) und dem anschließenden Vergleich der pharmakophoren Deskriptoren der Liganden überprüft werden, ob eine duale Affinität der angestrebten Strukturen möglich ist.

Die Kombination der Affinitäten wurde im Hinblick auf die Therapie des Morbus Parkinson ausgewählt. Dual affine Wirkstoffe sollten neben der Verbesserung der Symptomatik auch eine Verlangsamung des Fortschreitens der Krankheit – aufgrund der Verringerung des Zelluntergangs – bewirken.

Die Einführung verschiedener Aminoalkyl-Substituenten mit unterschiedlichem sterischen Anspruch (Aminoethyl-, *N,N*-Dimethylaminomethyl-, *N,N*-Dimethylaminoethyl-, *N,N*-Dipropylaminomethyl- und *N,N*-Dipropylaminoethyl-Substituenten) in 3-Position der Thieno[2,3-*b*]pyridinone sollte weitere Aussagen über die Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors ermöglichen.

Schwerpunkt der Ligandherstellung ist die Klärung, ob die Amino-Funktionalitäten bereits zu Beginn der Synthese eingeführt werden müssen oder ob eine Derivatisierung an den Cyclisierungsvorstufen möglich ist.

- 1.) Zunächst werden 2-Aminothiophene mit entsprechenden Amino-Substituenten in 4-Position und freier 5-Position, die Schlüsselverbindungen beim Aufbau der Zielstruktur sind, über verschiedene Modifikationen der Gewald-Reaktion hergestellt. Darüber hinaus wird die Erhöhung der Regioselektivität und Verminderung der Nebenproduktbildung bei modifizierten Gewald-Reaktionen angestrebt.
- 2.) Es sollen ebenfalls entsprechend substituierte Cyclisierungsvorstufen mit Amino-Substituenten in 4-Position durch verschiedene Substitutionsreaktionen hergestellt werden. Dazu wird die Synthese von 2-Aminothiophenen mit guten Abgangsgruppen angestrebt.
- 3.) Die Cyclisierungsreaktion soll unter Verwendung unterschiedlicher Basen untersucht und optimiert werden.

Des Weiteren muss über pharmakologische *in vitro*-Bindungsstudien geklärt werden, ob die entwickelten Liganden die vorhergesagten dualen Affinitäten aufweisen.

Zur Bestimmung der Affinitäten an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors werden [³H]Glycin-Bindungsassays durchgeführt. Die Affinitäten an Dopamin-Rezeptoren werden über [³H]Racloprid-Bindungsassays bestimmt.

6 Thieno[2,3-*b*]pyridinone

6.1 Strukturvergleich

Die Thieno[2,3-*b*]pyridinone **I** weisen alle pharmakophoren Deskriptoren des in Kapitel 2.3.2.2 beschriebenen Pharmakophor-Modells^[20] (Abbildung 14) für Antagonisten an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors auf. Hierbei sind die OH-Gruppe, die NH-Gruppe und das Sauerstoffatom der Carbonyl-Funktion in 4-, 7- und 6-Position (Abbildung 28) an der Ausbildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen und Coulomb-Wechselwirkungen beteiligt. Der aromatische Rest in Position 5 bedient die *bulk tolerance* Region sowie das Chloratom in 2-Position eine der lipophilen Bindungstaschen der Bindungsstelle.

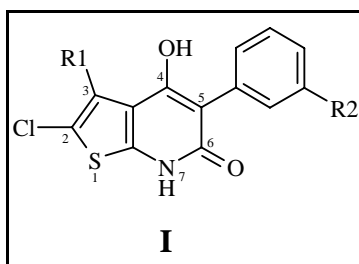


Abbildung 28: Nummerierung der Thieno[2,3-*b*]pyridinone

Die zweite lipophile Bindungstasche tritt in Wechselwirkung mit den jeweiligen Substituenten R1 in der 3-Position der Thienopyridinone. Da die Hybrid-Moleküle **III** und **V** (Abbildung 27) der beschriebenen Grundstruktur der Thienopyridinone entsprechen, weisen sie ebenfalls alle pharmakophoren Deskriptoren auf und sollten Affinitäten zur Gly_B-B besitzen.

Dopamin **II** und Dopamin-Rezeptor-Agonisten, wie Ropinirol **IV** (Abbildung 27), weisen eine Dipropylaminoethyl-Kette mit einem Benzol-Ring in β -Position auf. Bei der Bindung an einen Dopamin-Rezeptor kommt es vermutlich zu Coulomb-Wechselwirkungen zwischen dem Stickstoffatom und anionischen Resten des Rezeptorproteins sowie zu Wechselwirkungen zwischen dem π -Elektronensystem des Aromaten und dem Rezeptor. Die beiden Hydroxy-Gruppen des Dopamins, in *meta*- und *para*-Position, treten über Wasserstoffbrücken-Bindungen mit dem Protein in Wechselwirkung, wobei D₂-ähnliche Dopamin-Rezeptor-Agonisten mit nur einer Funktionalität (in *meta*-Position), die zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen befähigt ist, auskommen^[25]. Die Hybrid-

Moleküle **III** und **V** (Abbildung 27) weisen beide eine Aminoethyl-Kette mit einem Aromaten in β -Position auf, wobei der Benzol-Ring bioisoster durch einen Thiophen-Ring^[119,120] (Austausch einer C₂-Einheit des Benzols durch Schwefel) ersetzt wurde.

Das Thienopyridinon-Grundgerüst weist mehrere Funktionalitäten auf, die Wasserstoffbrücken-Bindungen ausbilden können. Durch die Überlagerung der energetisch günstigsten Konformationen der Moleküle **III**, **II** und **V**, **IV** sollten Aussagen über die räumliche Ausrichtung der pharmakophoren Gruppen, die für die Bindung an Dopamin-Rezeptoren wichtig sind, und der pharmakophoren Gruppen der Thienopyridinone getroffen werden.

Die Moleküle wurden mit Hilfe der Alchemy-Software erstellt und durch MOPAC energieminimiert. Hierbei handelt es sich um semi-empirische Kraftfeldrechnungen. Die Gesamtenergie eines Systems wird im Kraftfeld durch die Addition von Partialenergietermen berechnet.

$$\text{Gl. 1} \quad E_{\text{tot}} = E_{\text{str}} + E_{\text{bend}} + E_{\text{tors}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}}$$

E_{str} steht für die Energie, die aus der Bindungslänge resultiert, E_{bend} für die Bindungswinkelenergie, E_{tors} für die Torsionsenergie, E_{vdw} für die van der Waals Energie und E_{elec} für den elektrostatischen Energieterm. Ein Kraftfeld besteht aus Referenzwerten für ideale Bindungsparameter, nicht kovalente Interaktionen und Kraftkonstanten, die empirisch ermittelt wurden.

Die minimierten Strukturen wurden so überlagert, dass die Amino-Funktionen deckungsgleich zu liegen kamen. Die betreffenden pharmakophoren Gruppen sind kugelförmig dargestellt.

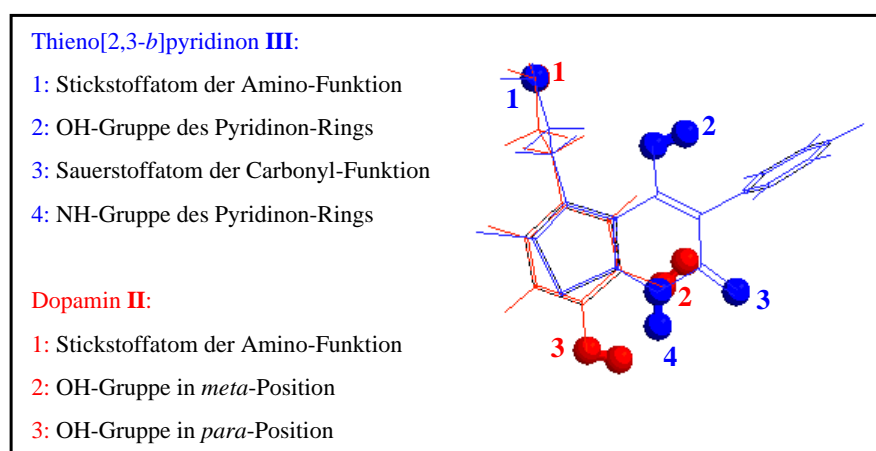


Abbildung 29: Überlagerung von Thieno[2,3-*b*]pyridinon **III** und Dopamin **II**

Die Überlagerung der Strukturen des Thienopyridinons **III** (blau) und Dopamins **II** (rot) ist in Abbildung 29 dargestellt. Mit besonderer Aufmerksamkeit wurden hierbei die pharmakophoren Gruppen des Dopamins, die für eine Bindung an D₂-ähnliche Rezeptoren wichtig sind^[121], wie die Amino-Funktion, der aromatische Ring und die OH-Gruppe in *meta*-Position, betrachtet. Aus der Abbildung wird deutlich, dass bei deckungsgleicher Lage der Amino-Funktionen von **III** und **II** auch die aromatischen Ringe überlagern und die *meta*-positionierte OH-Gruppe nahezu auf der Position der NH-Gruppe des Pyridinon-Rings zu liegen kommt, die ebenfalls zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen befähigt ist.

Somit ist die theoretische Grundlage gegeben, dass Substanzen vom Strukturtyp **III** neben Affinität zur Gly_B-B auch Affinität zu Dopamin-Rezeptoren besitzen. Allerdings kann keine Aussage über die Auswirkungen der bicyclischen Struktur von **III** auf die Affinität zu Dopamin-Rezeptoren gemacht werden.

Bei der Überlagerung der Strukturen des Thienopyridinons **V** (blau) und des D₂/D₃-Agonisten Ropinirol **IV** (grün) (Abbildung 30) wurde wiederum die Lage der pharmakophoren Gruppen (Amino-Funktion, aromatischer Ring und Amid-Funktion) des Agonisten und die Lage des bicyclischen Grundkörpers genauer betrachtet.

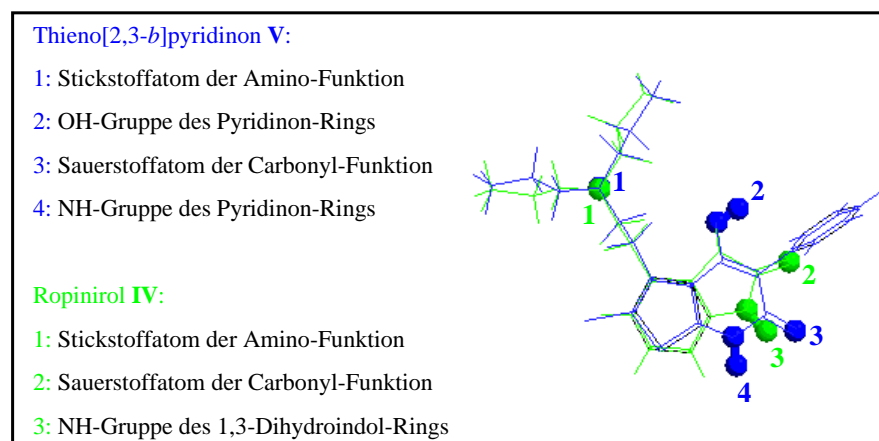


Abbildung 30: Überlagerung von Thieno[2,3-*b*]pyridinon **V** und Ropinirol **IV**

Aus der Abbildung wird deutlich, dass bei deckungsgleicher Lage der Amino-Funktionen von **V** und **IV** auch die bicyclischen Grundgerüste überlagern. Allerdings sind die Amid-Funktionen der beiden Strukturen gegeneinander verschoben; dies könnte negative Auswirkungen auf die Affinität der Substanzen vom Strukturtyp **III** und **V** zu Dopamin-Rezeptoren haben.

Die oben beschriebenen Strukturvergleiche lassen keinerlei Aussagen über den möglichen Einfluss des Substituenten in 5-Position der Strukturen **III** und **V** auf die Affinität zu Dopamin-Rezeptoren zu. Die Affinität zur Gly_B-B wird durch diesen Substituenten beeinflusst. Aus vorangegangenen Untersuchungen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen ist bekannt, dass Liganden mit einem Phenoxyphenyl-Rest (R₂ = O-Phenyl) deutlich höhere Affinitäten aufweisen als Liganden mit einem Phenyl-Rest (R₂ = H) in der 5-Position^[61]. Da der Einfluss des Substituenten auf die Affinität zu Dopamin-Rezeptoren unklar ist, sollten die Strukturen **III** und **V** mit R₂ = H und O-Phenyl synthetisiert werden. Über die Auswirkung der Amino-Funktion in 3-Position auf die Bindungsaffinität zur Gly_B-B lässt sich hier keine Aussage treffen.

6.2 Struktur der Seitenkette in 3-Position der Thieno[2,3-*b*]pyridinone

Die Einführung einer Aminoethyl-Kette, die in β -Position an die 3-Position des Thieno[2,3-*b*]pyridinon-Rings gebunden ist (Struktur **III**), ist von der Struktur des Dopamins **II** abgeleitet. Dopamin-Rezeptor-Agonisten mit freien Amino-Funktionen zeigen keinerlei Selektivitäten für einen der Dopamin-Rezeptor-Subtypen. Die Einführung von Dialkyl-Substituenten am Stickstoff erhöht deutlich die Selektivität und Affinität für D₂-ähnliche Rezeptoren^[27].

Die besagte Bindungstasche der Gly_B-B des NMDA-Rezeptors ist sterisch limitiert. Vorangegangene Untersuchungen mit Alkyl-Substituenten in der 3-Position hatten gezeigt, dass eine Substanz vom Strukturtyp **I** mit R₁ = C₂H₅, R₂ = O-Phenyl (IC₅₀=1.2 nM) die höchste Affinität in der Reihe der Alkyl-Substituenten besitzt^[61,122]. Längere oder raumerfüllendere Substituenten führten zu einem Affinitätsverlust.

Deshalb sollten Substanzen mit sterisch unterschiedlich anspruchsvollen Seitenketten in der 3-Position synthetisiert werden: neben einer Aminoethyl-Kette, verschiedenen *N,N*-Dialkylaminoethyl-Ketten (Alkyl: Methyl-, *n*-Propyl-Reste) auch *N,N*-Dialkylaminomethyl-Ketten (Abbildung 31). Dies sollte weitere Aussagen über die Beschaffenheit der Bindungstasche ermöglichen.

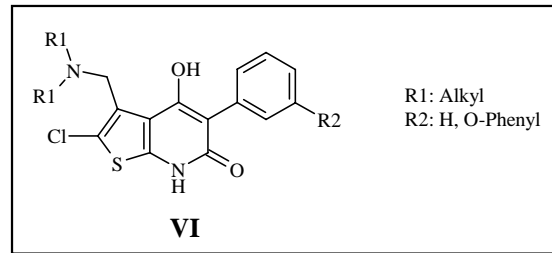


Abbildung 31: Thieno[2,3-*b*]pyridinon mit *N,N*-Dialkylaminomethyl-Kette

Substanzen vom Strukturtyp **VI** verfügen nicht mehr über die Aminoethyl-Funktionalität, die für Dopamin-Rezeptor-Agonisten eigentlich essentiell ist. Allerdings muss dies nicht zwangsläufig den totalen Verlust der Affinität an Dopamin-Rezeptoren bedeuten. Dies zeigt sich in der Struktur des Dopamin-Rezeptor-Agonisten Piribedil (Abbildung 32)^[27], der eine Amino-Funktion enthält, die über eine CH₂-Einheit mit einem aromatischen Ring verbunden ist.

Piribedil weist Affinität an den D₂-ähnlichen Rezeptoren mit einer IC₅₀ ≈ 690 nM auf^[123].

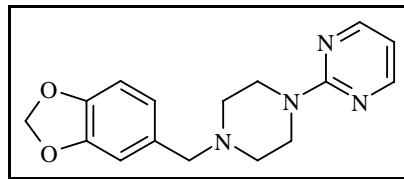


Abbildung 32: Piribedil

Unabhängig von der Art der Seitenkette in 3-Position erfolgt die Synthese der Thieno[2,3-*b*]pyridinone immer über die entsprechend substituierten 2-Aminothiophene. Diese werden über die so genannte Gewalt-Reaktion synthetisiert, die im folgenden Kapitel genauer erläutert werden soll.

7 Gewalt-Reaktion

Die Gewalt-Reaktion ist eine der vielseitigsten Methoden, um 2-Aminothiophene (Abbildung 33) mit elektronenziehenden Gruppen in der 3-Position und unterschiedlichen Alkylresten in den 4- und 5-Positionen zu synthetisieren^[124].

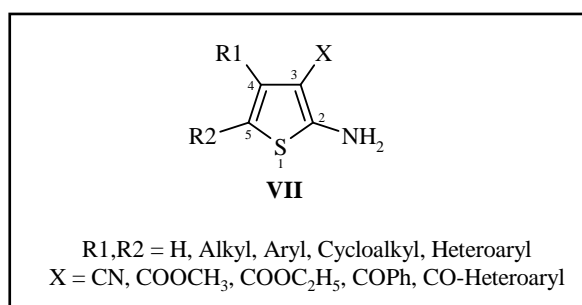


Abbildung 33: 2-Aminothiophene

Karl Gewalt beschrieb vier Methoden zur Herstellung von 2-Aminothiophenen **VII**^[125]. Es handelte sich um (1) die Kondensation von α -Mercaptocarbonylverbindungen mit CH-aciden Nitrilverbindungen^[126], (2) die Umsetzung von Carbonylverbindungen mit CH-aciden Nitrilen in Gegenwart von elementarem Schwefel^[127], (3) die Cyclisierung von Acrylnitrilen mit elementarem Schwefel^[127] und (4) die Reaktion von Enaminen mit CH-aciden Nitrilverbindungen und elementarem Schwefel^[127]. Nachfolgend sollen einige Methoden genauer betrachtet werden.

Methode (1) (Abbildung 34) setzt eine α -Mercaptocarbonylverbindung **VIII** unter Basenkatalyse (Stickstoff-Base) mit einer Nitrilverbindung **IX** um, die einen elektronenziehenden Substituenten X trägt. Hierbei findet zunächst eine Knoevenagel-Reaktion zwischen der Carbonyl-Gruppe von Verbindung **VIII** und der Methylen-Einheit von Verbindung **IX** statt. Anschließend kommt es zu einem intramolekularen Ringschluss. Die Reaktion wird bei 50 °C in Alkohol, Dimethylformamid, Dioxan oder Wasser durchgeführt. Häufig kommt es bei dieser Methode zu Problemen aufgrund der Instabilität der betreffenden α -Mercaptocarbonylverbindungen **VIII**, die meist in situ durch die Reaktion von Alkalisulfiden mit den entsprechenden α -Halogenketonen generiert werden. Diese Probleme werden vermieden bei der Verwendung von Methode (2) (Abbildung 34). Dabei findet die Knoevenagel-Reaktion zwischen einer Carbonylverbindung **X** und einer Nitrilverbindung **IX** statt.

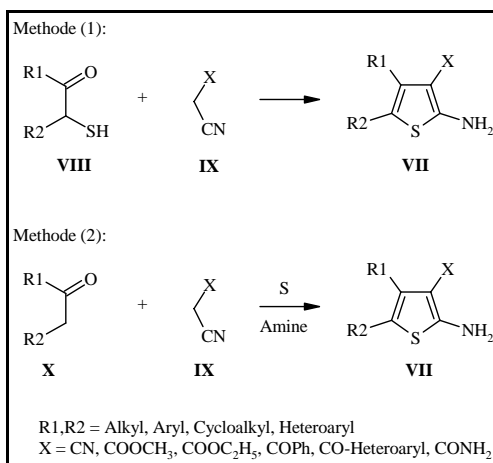


Abbildung 34: Gewald-Reaktion, Methode (1) und (2)

Hieran schließt sich eine Addition von elementarem Schwefel in Gegenwart äquimolarer Mengen einer Stickstoff-Base und wieder die intramolekulare Cyclisierung an. Der Reaktionsmechanismus ist in Abbildung 35 dargestellt.

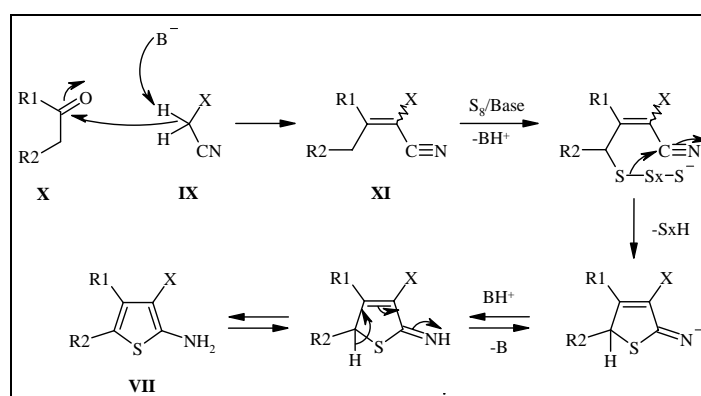


Abbildung 35: Mechanismus der Gewald-Reaktion

Die Reaktion findet bei Raumtemperatur in Alkoholen, Dimethylformamid oder Dioxan statt. Methode (2) führt zu deutlich höheren Ausbeuten als Methode (1) und geht von einfacher zugänglichen Ausgangsstoffen aus. Beide Methoden werden als Eintopf-Reaktionen durchgeführt^[124]. Die beiden beschriebenen Methoden der Gewald-Reaktion weisen allerdings einen großen Nachteil auf. 2-Aminothiophene **VII** mit unsubstituierter 5-Position (R2 = H) sind nicht darstellbar. Da aber genau diese zur Synthese der Thieno[2,3-b]pyridinone **I** benötigt werden, sollen in den folgenden Kapiteln zwei Methoden betrachtet werden, die dies ermöglichen.

7.1 Synthese von 2-Aminothiophenen über separate Knoevenagel-Reaktion

Die bereits kurz angesprochene Methode (3) der Gewalt-Reaktion ähnelt Methode (2), wird aber als Zweistufenreaktion unter veränderten Reaktionsbedingungen durchgeführt. Im ersten Schritt wird ein α,β -ungesättigtes Nitril **XI** über eine Knoevenagel-Reaktion hergestellt.

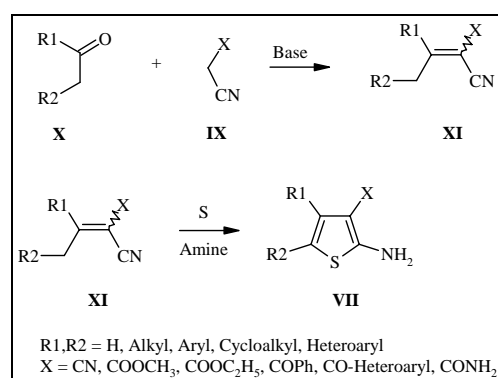


Abbildung 36: Gewalt-Reaktion, Methode (3)

Das Acrylnitril **XI** wird anschließend mit elementarem Schwefel bei 40 °C in Alkoholen mit äquimolaren Mengen Base zum 2-Aminothiophen cyclisiert^[124].

Wird für die Reaktion ein unsymmetrisches Nitril verwendet, wie es in Abbildung 37 dargestellt es, gibt es zwei verschiedene mögliche Thiolierungsstellen (**A** und **B**).

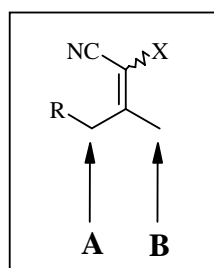


Abbildung 37: Thiolierungsstellen

Die Reaktivität bei einer Thiolierung nimmt in der Reihenfolge $\text{CH}_2 \gg \text{CH} > \text{CH}_3$ ab. Dies lässt eine Thiolierung ausschließlich an Position A erwarten. Das ist auch der Fall bei Methode (2) und führt zu vollständig substituierten Thiophenen. Die oben beschriebene Reaktivitäts-Reihenfolge lässt sich allerdings durch veränderte Reaktionsbedingungen, wie sie bei Methode (3) verwendet werden, beeinflussen. Die erhöhte Reaktionstemperatur verändert die Reaktivität bei einer Thiolierung zu $\text{CH}_2 \gg \text{CH}_3 > \text{CH}$. Dadurch wird eine

Thiolierung sowohl an Position **A** als auch an **B** beobachtet^[128]. Es gelingt somit über Methode (3) in Position 5 unsubstituierte Thiophene herzustellen. Ein großer Nachteil dieser Methode ist allerdings, dass meist Regioisomere wie **XII** und **XIII** (Abbildung 38) entstehen, die eine aufwendige Trennung erfordern.

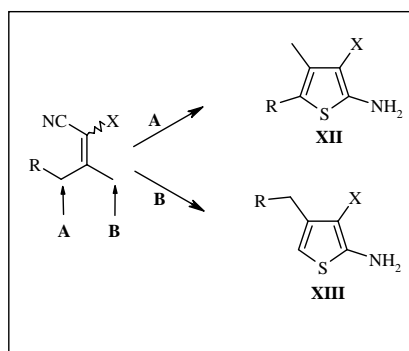


Abbildung 38: Regioisomere **XII** und **XIII**

7.2 Synthese von 2-Aminothiophenen über Einführung einer Abgangsgruppe

Eine weitere Variante der Gewalt-Reaktion wurde in der Arbeitsgruppe^[129] entwickelt und ermöglicht die selektive Synthese von Thiophenen des Strukturtyps **XIII**. Hierbei wird, wie bei Methode (2), eine Carbonylverbindung in einer Eintopf-Reaktion mit einer CH-aciden Nitrilverbindung in Gegenwart von Base in Alkohol umgesetzt. Der Schwefel wird durch nukleophile Substitution mit Natriumsulfid als Reagenz an Position **1** in das Molekül eingeführt (Abbildung 39). Dies setzt voraus, dass die verwendete Carbonylverbindung eine geeignete Abgangsgruppe (LG) trägt, die vorher synthetisch eingeführt wurde. Als Abgangsgruppe wird häufig die Tosylat-Gruppe^[62] verwendet, aber auch die Verwendung von Halogenen ist möglich.

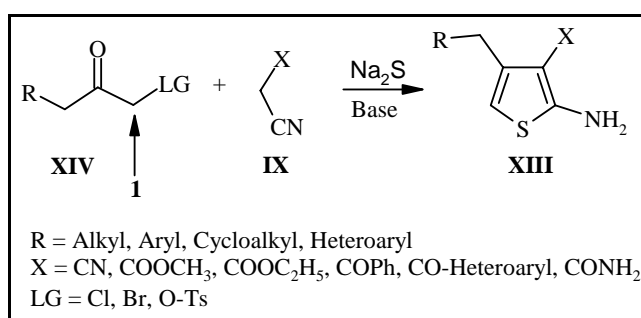


Abbildung 39: Gewalt-Reaktion, Methode (4)

Ungeklärt ist bisher, ob zunächst die Substitutions-Reaktion oder die Knoevenagel-Reaktion abläuft, ehe die Cyclisierung die Reaktion abschließt.

Wichtig für die Reaktion ist die Reihenfolge der Reagenzienzugabe. Eine Nitrilverbindung **IX** wird mit dem Natriumsulfid in alkoholischer Lösung vorgelegt und unter Eiskühlung mit einer Carbonylverbindung **XIV** versetzt. Die Base wird anschließend bei Raumtemperatur zugegeben. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Reaktion auch ohne Zugabe von Base abläuft, die Funktion der Base übernimmt hierbei das Natriumsulfid. Die Nebenprodukt-Bildung war deutlich geringer, während die Ausbeuten meist erhöht werden konnten (siehe Kapitel 9.2.1.1).

Welche der beschriebenen Methoden der Gewald-Reaktion für die Synthese der 2-Aminothiophene mit freier 5-Position eingesetzt wird, ist von der Zugänglichkeit der nötigen Edukte abhängig. Methode (3) beinhaltet zwar die aufwendige Trennung der Regioisomere, weist aber in manchen Fällen einen deutlich kürzeren Reaktionsweg für die Herstellung der Edukte auf und ist dann Methode (4) vorzuziehen.

8 Synthese der Thieno[2,3-*b*]pyridinone **1** und **2** vom Strukturtyp III

Die Synthese der Verbindungen 3-[(2-Amino)ethyl]-2-chlor-4-hydroxy-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7-dihydrothieno[2,3-*b*]pyridin-6-onhydrochlorid **1** und 3-[(2-Amino)ethyl]-2-chlor-4-hydroxy-5-phenyl-6,7-dihydrothieno[2,3-*b*]pyridin-6-onhydrochlorid **2** setzte zunächst die Schützung des Amins durch eine geeignete Schutzgruppe und die Herstellung des entsprechenden 2-Aminothiophens **3** voraus.

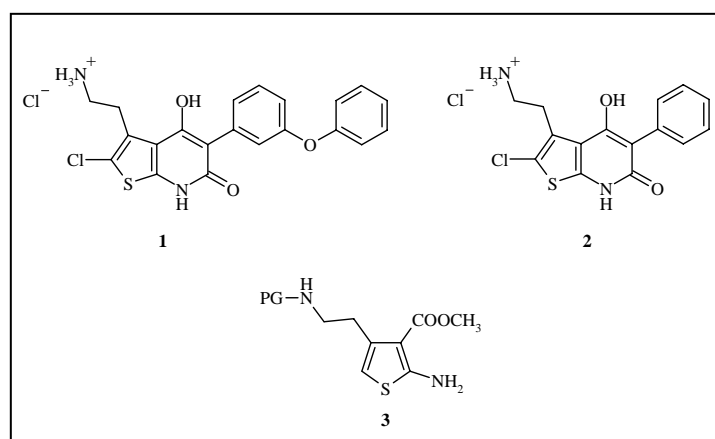


Abbildung 40: Thieno[2,3-*b*]pyridinone **1** und **2**, 2-Aminothiophen **3** (PG: Schutzgruppe)

Die Synthese des 2-Aminothiophens soll in den nachfolgenden Kapiteln genauer beschrieben werden.

8.1 Synthese von 2-Amino-4-[[2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl]thiophen-3-carbonsäuremethylester **6**

Die Synthese des 2-Aminothiophens **6** erfolgte über die Gewald-Reaktion nach Methode (3) und ist in Abbildung 41 dargestellt. Dabei entstand das erwartete Regioisomeren-Gemisch von Verbindung **6** und **7**, das säulenchromatographisch getrennt werden konnte. Es wäre ebenfalls möglich gewesen, Verbindung **6** über Methode (4) der Gewald-Reaktion herzustellen, allerdings war die benötigte Ausgangsverbindung deutlich schwerer zugänglich und der Reaktionsweg hätte sich voraussichtlich um vier Reaktionsstufen verlängert.

Als Schutzgruppe für die Amino-Funktion wurde aus verschiedenen basenstabilen Gruppen die BOC (*tert*-Butoxycarbonyl)-Gruppe ausgewählt, da sie am Ende der Synthese unter relativ milden Bedingungen abspaltbar ist^[130].

Alle Reaktionsschritte bis zu Verbindung **6**, und darüber hinaus, wurden unter neutralen oder basischen Bedingungen durchgeführt.

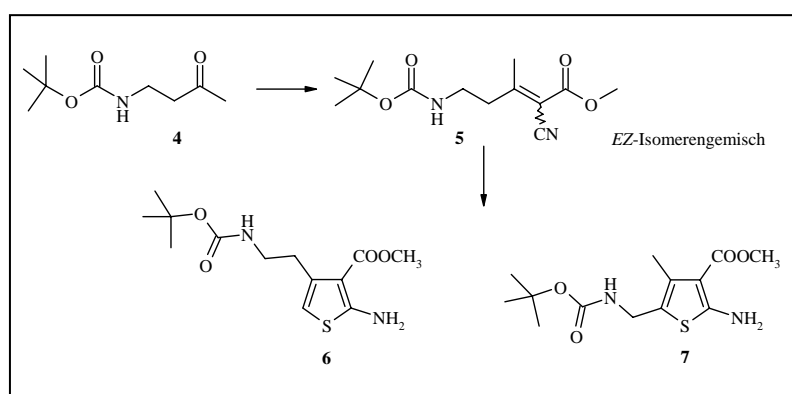
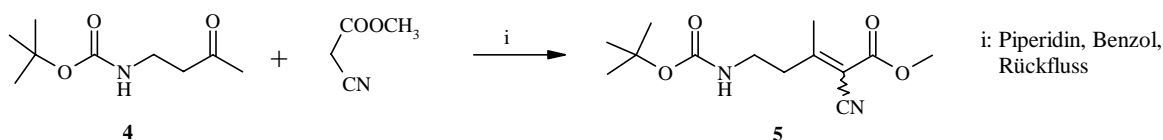


Abbildung 41: Synthese von 2-Amino-4-[[2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl]thiophen-3-carbonsäuremethylester **6**^[131]

8.1.1 (*EZ*)-5-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-2-cyan-3-methylpent-2-ensäuremethylester **5**

Die Verbindung **4** wurde unter Standardreaktionsbedingungen aus 4-Aminobutan-2-onhydrochlorid und Di-*tert*-butyldicarbonat ((*BOC*)₂O) hergestellt^[132]. Die Umsetzung von Verbindung **4** mit Methylcyanacetat in einer Knoevenagel-Reaktion führte zu der für die Gewald-Reaktion benötigten Verbindung **5**.

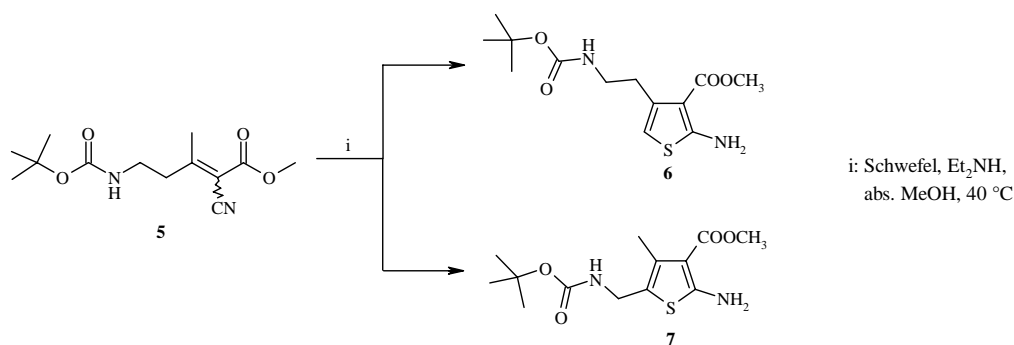


Es wurde die Knoevenagel-Reaktions-Variante nach Cope^[133] verwendet. Dabei wurde Verbindung **4** mit äquimolaren Mengen an Methylcyanacetat und 1 % Piperidin als basischen Katalysator in Benzol unter Rückfluss am Wasserabscheider erhitzt, bis keine Wasserabscheidung mehr zu beobachten war. Nach Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung wurde Verbindung **5** als Isomerengemisch der *E*- und

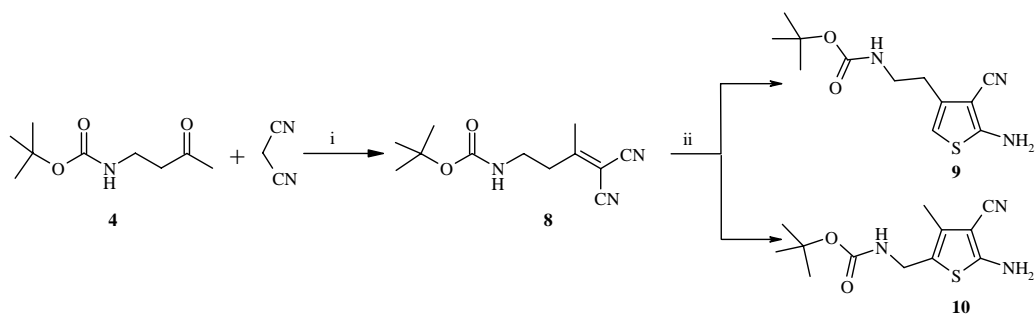
Z-konfigurierten Verbindungen mit einer Ausbeute von 85 % erhalten, das für die anschließende Gewalt-Reaktion nicht getrennt werden musste.

8.1.2 Gewalt-Reaktion mit (*EZ*)-5-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-2-cyan-3-methylpent-2-ensäuremethylester **5**

Die Verbindung **5** wurde in einer Gewalt-Reaktion nach Methode (3) umgesetzt. Dabei wurde **5** mit elementarem Schwefel und Diethylamin in absolutem Methanol für mehrere Stunden bei 40 °C gerührt. Die Reaktion wurde unter Lichtausschluss durchgeführt, da die entstehenden 2-Aminothiophene sich unter UV-Lichteinwirkung zersetzen. Das entstandene Regioisomeren-Gemisch von Verbindung **6** und **7** konnte über Säulenchromatographie getrennt werden.



Die Isomere **6** und **7** entstanden im Verhältnis 1:2, mit Ausbeuten von 16 und 33 %. Das Isomerenverhältnis wird von der Thiolierungsposition beeinflusst. Wie bereits in vorangegangenen Kapiteln erläutert, erfolgt diese bevorzugt an CH₂-Gruppen und ließ einen Überschuss an Verbindung **7** erwarten. Ebenfalls Einfluss auf das Verhältnis von Verbindung **6** und **7** könnte das *EZ*-Isomerenverhältnis von Verbindung **5** haben. Die Bildung von Verbindung **6** erfolgt aus dem *Z*-Isomer, die Bildung von Verbindung **7** aus dem *E*-konfigurierten Isomer. Um den Einfluss der *EZ*-Isomerie zu überprüfen, wurde ein Substrat für die Gewalt-Reaktion hergestellt, das eine symmetrisch substituierte Doppelbindung aufwies.



i: Piperidin, Benzol, Rückfluss; ii: Schwefel, Et₂NH, abs. MeOH, 40 °C

Verbindung **4** wurde zu diesem Zweck mit Malonsäuredinitril ebenfalls in einer Knoevenagel-Reaktion umgesetzt und das Reaktionsprodukt **8** einer Gewald-Reaktion nach Methode (3) unterworfen. Es entstand ein Regioisomeren-Gemisch von Verbindung **9** und **10** im Verhältnis 1:3, mit Ausbeuten von 10 und 27 %. Das Verhältnis von Verbindung **9** und **10** verschob sich also zu Gunsten des in Position 5 substituierten Thiophens **10**. Somit hatte das *EZ*-Isomerenverhältnis von Verbindung **5** einen positiven Einfluss auf die Bildung des in Position 5 unsubstituierten Regioisomers **6**.

8.2 Synthese von Verbindung 1 und 2

Die Verbindung **6** wurde in entsprechenden vierstufigen Synthesen zu den Hydrochloriden **1** und **2** umgesetzt.

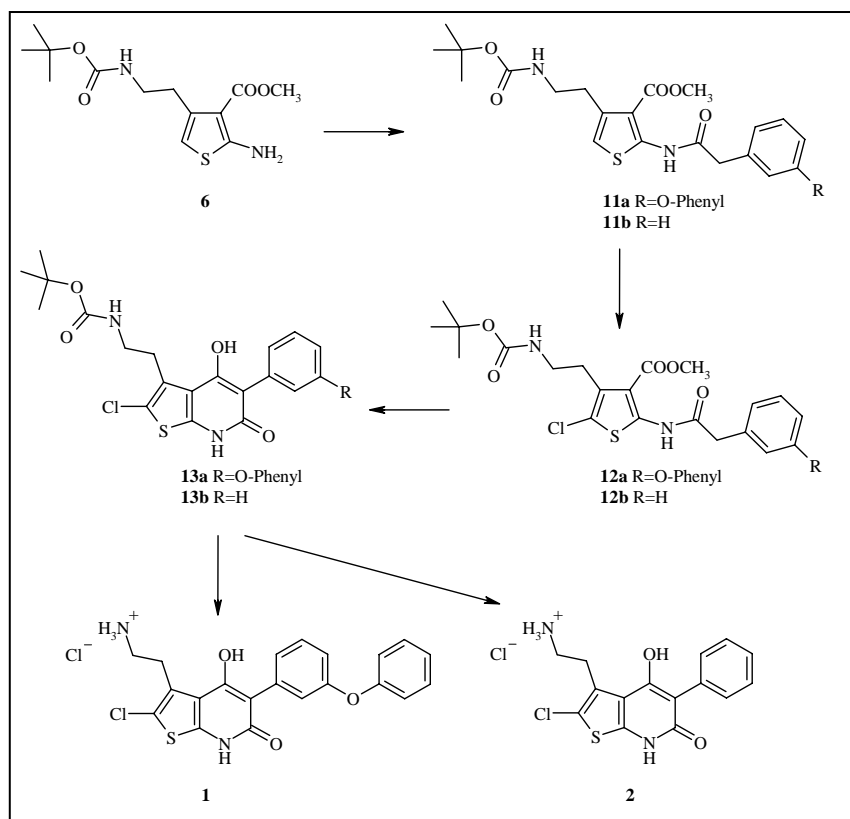


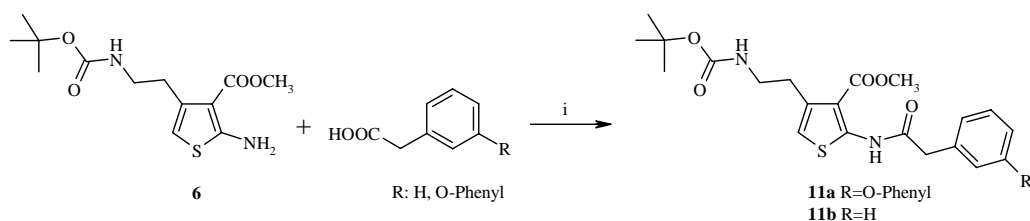
Abbildung 42: Synthese von Verbindung **1** und **2**

Dabei wurde zunächst Verbindung **6** nach Mukaiyama^[134] acetyliert. Anschließend wurden die Verbindungen **11a**, **11b** mit *N*-Chlorsuccinimid (NCS) chloriert und die daraus resultierenden Verbindungen **12a**, **12b** unter basischen Bedingungen cyclisiert. Die BOC-Abspaltung von Verbindung **13a**, **13b** unter Standardreaktionsbedingungen^[135] führte schließlich zu den Zielverbindungen **1** und **2**.

8.2.1 Acetylierung nach Mukaiyama

T. Mukaiyama et al. verwendeten für die Synthese von Carboxamiden, aus Aminen und Carbonsäuren, das Kopplungsreagenz 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid zur Aktivierung der Carbonsäuren^[134].

Die Acetylierungsreaktionen wurden unter Stickstoffatmosphäre in abs. Dichlormethan durchgeführt. Dabei wurden äquimolare Mengen von Phenoxyphenyllessigsäure für Verbindung **11a** bzw. Phenyllessigsäure für Verbindung **11b**, mit Verbindung **6** in Gegenwart von 2.4 Äquivalenten Triethylamin und 1.2 Äquivalenten des Kopplungsreagenz umgesetzt^[136].



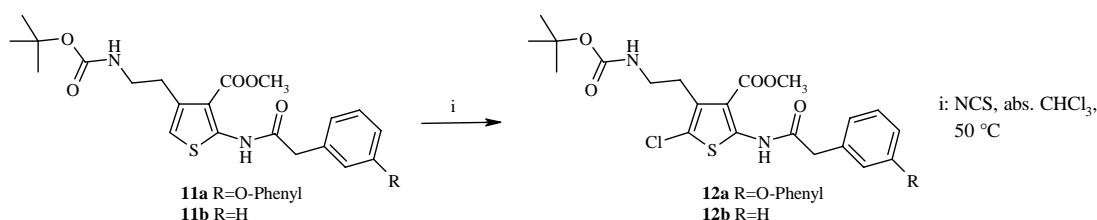
i: 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid, Et₃N, abs. CH₂Cl₂, Rückfluss

Nach mehrstündigem Rühren bei Siedetemperatur, entsprechender Aufarbeitung und vakuumflashchromatographischer Reinigung wurden die Verbindungen **11a**, **11b** in Ausbeuten von 92 % bzw. 97 % erhalten.

8.2.2 Chlorierung mit *N*-Chlorsuccinimid

Die Chlorierung mit NCS verläuft unter milden Bedingungen. Das NCS sorgt während der Reaktion für eine gleichbleibend niedrige Konzentration an Chlormolekülen und gleichzeitig für den Verbrauch des entstandenen Chlorwasserstoff. Dies verhindert häufig die Bildung von unerwünschten Nebenprodukten^[137].

Die Verbindungen **11a**, **11b** wurden unter Argonatmosphäre in absolutem Chloroform bei 50 °C mit stöchiometrischen Mengen NCS umgesetzt. Die Umsetzung beider Verbindungen erforderte relativ lange Reaktionszeiten von 24 bis zu 42 Stunden. Versuche, die Reaktionszeiten durch Zugabe nicht-stöchiometrischer Mengen des NCS zu verkürzen, führten zu mehrfach chlorierten Produkten. Neben der Chlorierung der 5-Position wurden auch CH₂-Gruppen der Seitenkette in 4-Position und aromatische Positionen der Seitenkette in der Position 2 des Thiophens chloriert.



Das während der Reaktion gebildete, wasserlösliche Succinimid wurde durch wässrige Aufarbeitung vom Produkt abgetrennt. Die chromatographische Reinigung führte zu den Verbindungen **12a** und **12b** in Ausbeuten von 90 %.

8.2.3 Cyclisierung

Thieno[2,3-b]pyridinone **I** werden durch die Cyclisierung von Verbindungen des Typ **XV** hergestellt. Die Cyclisierung erfolgt durch die Reaktion mit starken Stickstoffbasen bei tiefen Temperaturen in absolutem Tetrahydrofuran unter Abspaltung von Methanol bzw. Methanolat. Als Base wird hierbei meist Kaliumhexamethyldisilazid (KHMDS) oder Lithiumdiisopropylamid (LDA) verwendet.

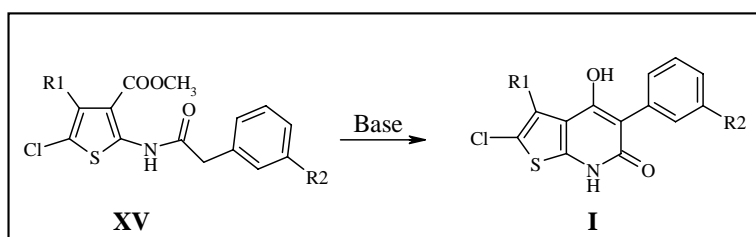
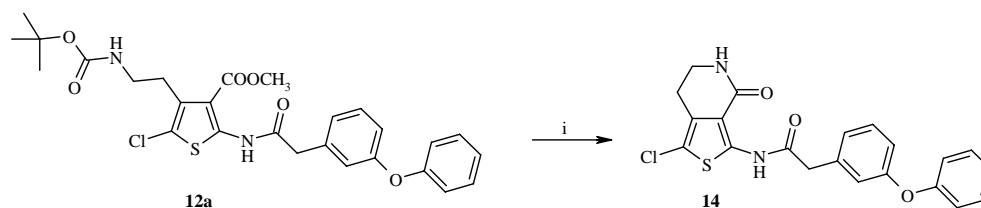


Abbildung 43: Cyclisierung

Die Reaktion von Verbindung **12a** mit LDA oder KHMDS führte allerdings nicht zu der erwarteten Verbindung **13a** (Abbildung 42), sondern ausschließlich zu Verbindung **14**. Der δ -Lactamring wurde durch die Reaktion des deprotonierten Stickstoffatoms der Seitenkette mit dem Carbonyl-Kohlenstoffatom der Ester-Funktion, unter Abspaltung der BOC-Schutzgruppe, gebildet^[138].



i: LDA, abs. THF, -70 °C bis RT

Um dieser unerwünschten Cyclisierung entgegenzuwirken, sollte das Stickstoffatom der Seitenkette durch vollständige Substitution vor der Deprotonierung geschützt werden. Dabei wurden verschiedene Möglichkeiten zur erschöpfenden Substitution getestet.

Es wurde zum einen versucht, eine weitere BOC-Schutzgruppe am Stickstoffatom einzuführen. Die Reaktion wurde mit Verbindung **11a**, Di-*tert*-butyldicarbonat und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) als Katalysator in absolutem Acetonitril bei Raumtemperatur durchgeführt^[139]. Dabei entstand nicht die erwartete Verbindung **15**,

sondern Verbindung **16** (Abbildung 44). Während der Reaktion kam es zur Spaltung der amidischen Bindung der Seitenkette des Thiophens in 2-Position und anschließender Addition der BOC-Gruppe an das freie aromatische Amin.

Verbindung **16** war das einzige Produkt, das bei der Reaktion isoliert und identifiziert werden konnte. Verbindung **15** konnte nicht einmal in Spuren nachgewiesen werden.

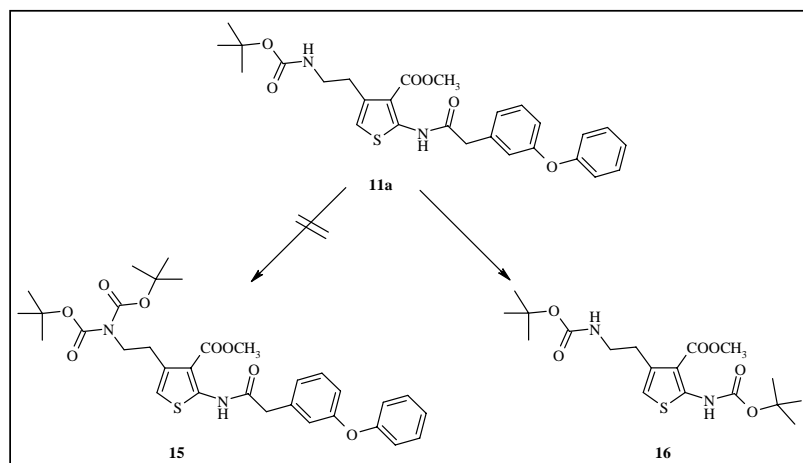


Abbildung 44: Verbindung **15** und **16**

Da die erschöpfende *tert*-Butoxycarbonylierung des Stickstoffatoms fehlschlug, sollte zum anderen das Stickstoffatom methyliert werden. Verbindung **11a** wurde bei tiefen Temperaturen in absolutem Tetrahydrofuran mit Methyljodid und einer starken Base umgesetzt. Statt der erwarteten Verbindung **17** wurde ausschließlich Verbindung **18** isoliert.

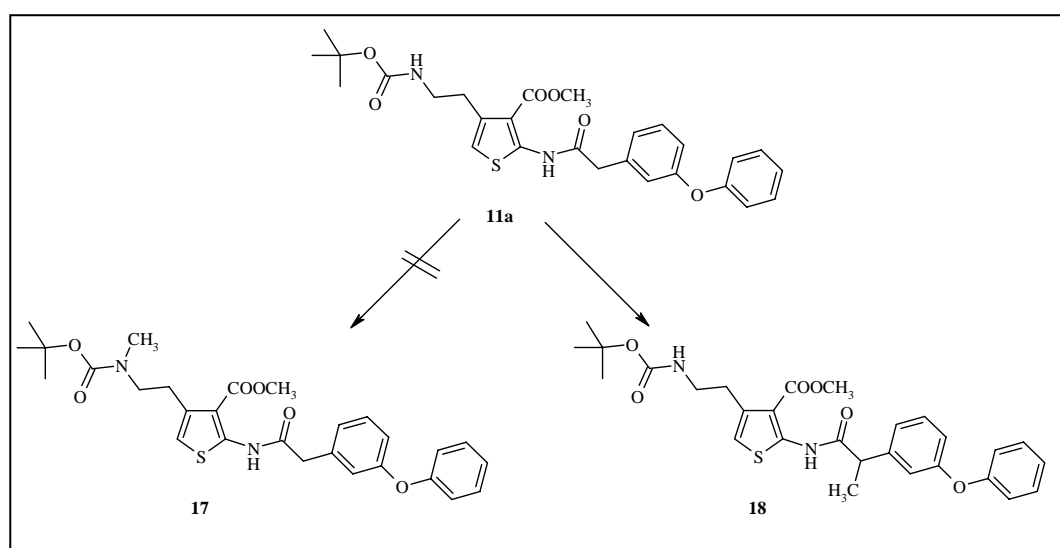


Abbildung 45: Verbindung **17** und **18**

Verbindung **11a** weist drei Stellen auf, die bei der Behandlung mit starken Basen deprotoniert werden. Hierbei handelt es sich um die beiden Stickstoffatome und die CH₂-Gruppe der Seitenkette in 2-Position. Das dabei entstehende Carbanion besitzt offensichtlich höhere Nucleophilie als die Stickstoffanionen und reagierte dadurch schneller bzw. ausschließlich mit dem Methyljodid.

Da die Versuche der vollständigen Substitution des Stickstoffatoms der Seitenkette erfolglos blieben, sollte die Seitenkette schon zu Beginn der Synthese so verändert werden, dass die Cyclisierung zu Verbindung **14** (siehe Seite 59) nicht mehr möglich wäre.

So sollte statt des Aminoethyl-Substituenten zunächst ein Carboxamidomethyl-Substituent in der 4-Position des Thiophens (Abbildung 46) eingeführt werden. Die Amid-Funktion sollte nach der gewünschten Cyclisierung durch Reduktion in die Aminoethyl-Funktion umgewandelt werden.

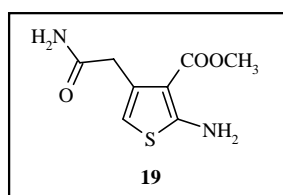


Abbildung 46: Thiophen mit Carboxamidomethyl-Substituent in der 4-Position

Die Synthese des 2-Aminothiophens wurde ebenfalls nach Methode (3) der Gewald-Reaktion durchgeführt. Die benötigte Vorstufe (*EZ*)-4-Carbamoyl-2-cyano-3-methylbut-2-ensäuremethylester **20** wurde aus Acetessigsäureamid und Methylcyanacetat über eine Knoevenagel-Reaktion (Cope-Variante), die bereits in Kapitel 8.1.1 beschrieben wurde, hergestellt. Als basischer Katalysator wurde statt Piperidin Ammoniumacetat verwendet.

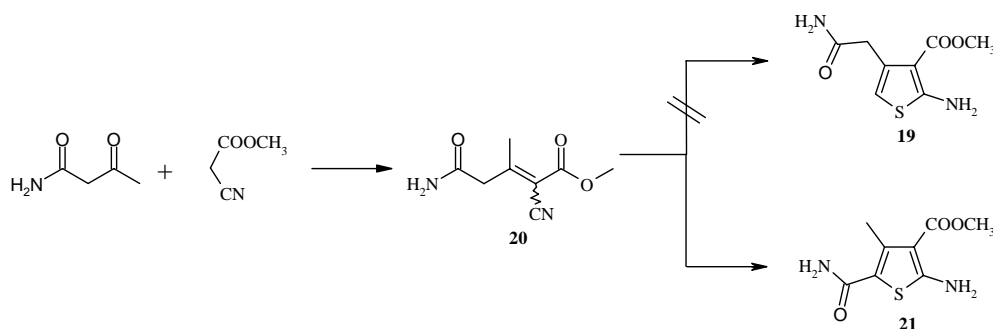


Abbildung 47: Synthese des Amid-Thiophens

Das *EZ*-Isomerengemisch von Verbindung **20** wurde mit einer Ausbeute von 12 % über die Knoevenagel-Reaktion erhalten. Die anschließende Gewalt-Reaktion führte nicht zu dem erwarteten Regioisomeren-Gemisch von Verbindung **19** und **21**, sondern ausschließlich zu Verbindung **21**, mit einer Ausbeute von 37 %.

Weder die nachträgliche erschöpfende Substitution des Stickstoffatoms der Seitenkette in der 4-Position des Thiophens noch die Veränderung der Seitenkette zu Beginn des Synthesewegs führten zu den erwarteten Zwischenverbindungen, die die Synthese der Zielverbindungen **1** und **2** (Abbildung 42) ermöglicht hätten.

Daraufhin wurde erneut versucht, die Verbindungen **1** und **2** aus **12a** und **12b**, durch Variation der für die Cyclisierung verwendeten Base, herzustellen. Dafür wurde eine Phosphazen-Base ausgewählt. Phosphazen-Basen sind sterisch stark gehinderte, außerordentlich basische, ungeladene Polyaminophosphazene. Phosphazen-Basen erzeugen nackte, teilweise sehr reaktive Anionen^[140]. Die Verwendung einer Phosphazen-Base ermöglichte beispielsweise die Synthese verschiedener Benzofurane aus entsprechend substituierten Benzaldehyden, die durch die Reaktion mit stark ionischen Basen, wie LDA, nicht zugänglich waren^[141]. Für die Umsetzung von Verbindung **12a** und **12b** wurde die Phosphazen-Base P_2-t-Bu (1-*tert*-Butyl-2,2,4,4,4,-pentakis(dimethylamino)-2 λ^5 ,4 λ^5 -catenadi(phosphazen)) verwendet.

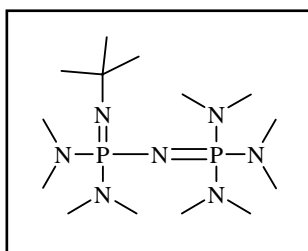
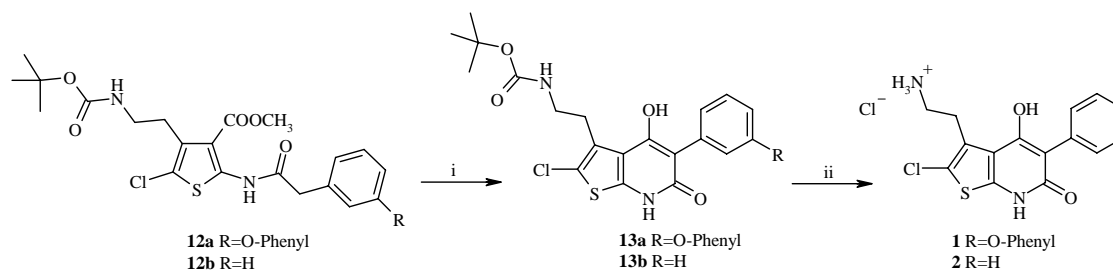


Abbildung 48: Phosphazen-Base P_2-t-Bu

Die Verbindung **12a** bzw. **12b** wurde in absolutem Tetrahydrofuran gelöst, auf $-70\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und anschließend mit der Phosphazen-Base versetzt und für mehrere Tage bei Raumtemperatur gerührt^[142]. Nach saurer Aufarbeitung und vakuumflashchromatographischer Reinigung wurden die erwarteten Verbindungen **13a** bzw. **13b**, allerdings nur in sehr geringen Ausbeuten von 1 % bzw. 2 %, erhalten.



i: Phosphazene-Base $\text{P}_2\text{-}t\text{-Bu}$, abs. THF, $-70\text{ }^\circ\text{C}$ bis RT; ii: 3N HCl, EtOAc, RT

Die Bildung des falschen Cyclisierungsproduktes (Verbindung **14**), das bei der Umsetzung mit LDA entstanden war, konnte weder bei der Reaktion von Verbindung **12a** noch bei Verbindung **12b** beobachtet werden.

Nach Abspaltung der BOC-Schutzgruppe unter Standardreaktionsbedingungen^[135] wurden die Zielverbindungen **1** und **2** erhalten. Die pharmakologischen Daten finden sich in Kapitel 10.3.

8.3 Synthese von 2-[(Amino)methyl]-4-hydroxy-3-methyl-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7-dihydrothieno[2,3-*b*]pyridin-6-onhydrochlorid **22**

Verbindung **7**, die als Regioisomer von Verbindung **6** bei der Gewald-Reaktion entstanden ist, sollte ebenfalls zu einem Thieno[2,3-*b*]pyridinon umgesetzt werden. Die erwartete Verbindung **22** sollte Affinität zur Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors aufweisen und möglicherweise auch zu Dopamin-Rezeptoren.

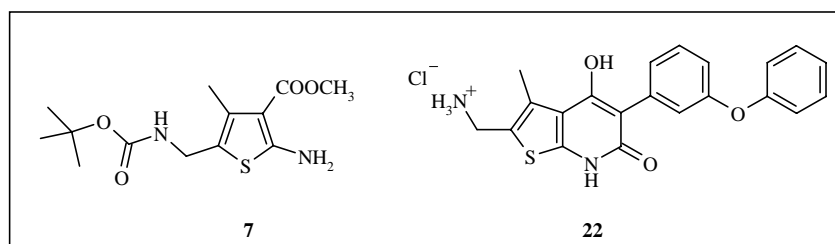
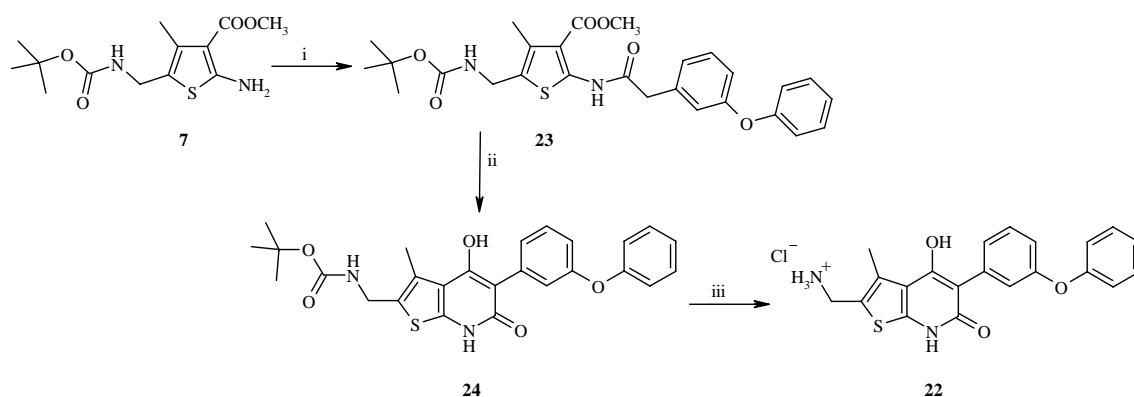


Abbildung 49: Verbindung **7** und **22**

Die Verbindung **22** weist zwar nur eine Aminomethyl-Kette statt einer Aminoethyl-Kette auf, aber dies trifft auch auf den D_2 -Rezeptor-Agonisten Piribedil (Abbildung 32) zu, der Affinitäten im hohen nanomolaren Bereich an D_2 -ähnlichen Rezeptoren aufweist.

Das 2-Aminothiophen **7** wurde nach Mukaiyama mit Phenoxyphenylessigsäure und 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid in absolutem Dichlormethan acetyliert. Verbindung **23** wurde nach säulenchromatographischer Reinigung in 93 % iger Ausbeute erhalten. Die Cyclisierung zu Verbindung **24** wurde in absolutem Tetrahydrofuran mit LDA durchgeführt.

Für die Cyclisierung konnte auf eine üblicherweise verwendete ionische Base zurückgegriffen werden, da die bei Verbindung **12a** beobachtete Bildung eines Lactamrings bei Verbindung **23** aufgrund der Position und Länge der Aminomethyl-Seitenkette nicht möglich war.



i: 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid, Et₃N, abs. CH₂Cl₂, Rückfluss; ii: LDA, abs. THF, -70 °C bis -20 °C;

iii: 3N HCl, EtOAc, RT

Verbindung **24** wurde mit Ausbeuten von 10 % erhalten und die Abspaltung der BOC-Schutzgruppe unter Standardreaktionsbedingungen^[135] führte zur erwarteten Verbindung **22**^[138]. Die pharmakologischen Daten finden sich in Kapitel 10.3.

9 Synthese der Thieno[2,3-*b*]pyridinone vom Strukturtyp V und VI

Die Synthese von Verbindungen des Strukturtyps **V** und **VI** (Abbildung 50) setzt ebenso wie die Synthese von Verbindung **1** und **2** (Abbildung 40) zunächst die Herstellung der entsprechend substituierten 2-Aminothiophene voraus. Die tertiäre Amino-Seitenkette in der 4-Position des Thiophens sollte bereits am Anfang der Synthese in die Moleküle eingeführt werden. Eine andere Möglichkeit ist die Einführung des tertiärenamins durch eine Substitutionsreaktion zu einem späteren Zeitpunkt im Syntheseweg, beispielsweise nach der Cyclisierung zu den jeweiligen Thieno[2,3-*b*]pyridinonen.

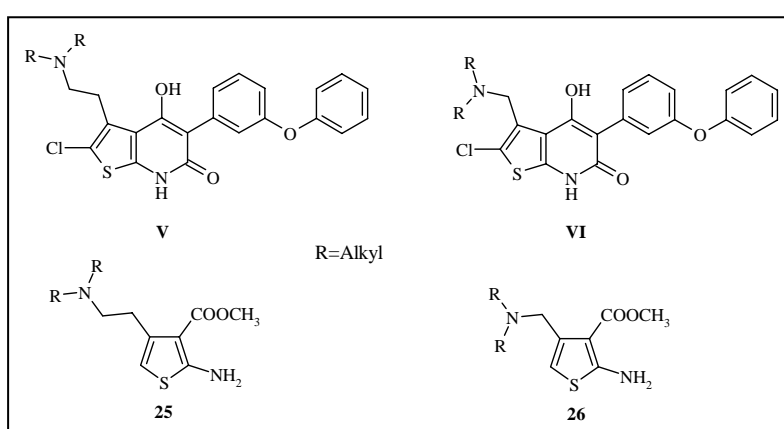


Abbildung 50: Thieno[2,3-*b*]pyridinone **V** und **VI**, 2-Aminothiophene **25** und **26**

Die 2-Aminothiophene **25**, **26** sollten über den gleichen Syntheseweg hergestellt werden wie das Aminothiophen **6**, das über die Gewald-Reaktion nach Methode (3) hergestellt wurde.

9.1 Einführung der *N,N*-Dialkylamino-Funktion am Anfang der Synthese

9.1.1 Synthese des 2-Aminothiophens **25** über Methode (3) der Gewald-Reaktion

Das für die Gewald-Reaktion benötigte Acrylnitril **28** sollte über eine der Varianten der Knoevenagel-Reaktion hergestellt werden. Das dabei benötigte Edukt **27** wurde, anders als in der Literatur beschrieben, nicht über eine Mannich-Reaktion aus Di-*n*-propylamin, Aceton und Paraformaldehyd^[143], sondern über eine Michael-Reaktion aus But-3-en-2-on (Methylvinylketon) und Di-*n*-propylamin hergestellt (Abbildung 51). Dies führte zwar nicht zu verbesserten Ausbeuten, aber ermöglichte eine deutlich vereinfachte

Aufarbeitung. Methylvinylketon wurde mit 1.5 Äquivalenten Di-*n*-propylamin bei Raumtemperatur in Ethylacetat umgesetzt. Nach Destillation wurde das reine Produkt **27** mit einer Ausbeute von 61 % erhalten. Anschließend wurde Verbindung **27** in einer Knoevenagel-Reaktion (Cope-Variante)^[133] mit Methylcyanacetat und Piperidin oder Ammoniumacetat als Katalysator in Benzol am Wasserabscheider umgesetzt. Bei beiden Reaktionen kam es zwar zum Verbrauch des Eduktes, aber Verbindung **28** konnte nicht identifiziert werden und auch keine andere definierte Verbindung wurde isoliert. Daraufhin wurde die Knoevenagel-Doebner-Variante^[133] der Knoevenagel-Reaktion durchgeführt. Methylcyanacetat wurde in trockenem Pyridin gelöst, anschließend Verbindung **27** und Piperidin zugegeben und die Reaktionsmischung unter Rückfluss gerührt. Nach saurer Aufarbeitung konnte Verbindung **28** nicht identifiziert werden. Allerdings konnte freies Di-*n*-propylamin isoliert werden. Dies legte die Vermutung nahe, dass es unter den Reaktionsbedingungen zumindest teilweise zu einer Retro-Michael-Reaktion kommt und somit zur Bildung von Di-*n*-propylamin und Methylvinylketon, das allerdings nicht identifiziert werden konnte.

Auch die Reaktion von Verbindung **27** mit Methylcyanacetat in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) mit Kaliumfluorid bei 60 °C^[144] führte nicht zum Erfolg.

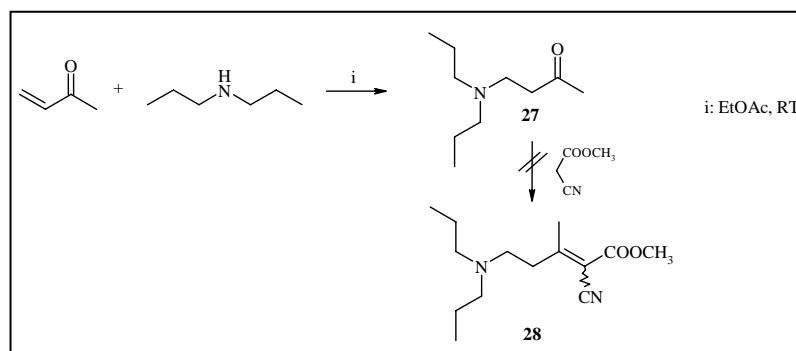


Abbildung 51: Syntheseweg zum Acrylnitril **28**

W. Lehnert hatte eine Variante der Knoevenagel-Reaktion entwickelt, die die Kondensation von Ketonen und Malonsäureester-Derivaten bei sehr milden Bedingungen ermöglicht. Dabei findet die Reaktion in Ether (z. B. THF) mit Titan-tetrachlorid und einer tertiären Stickstoffbase bei Temperaturen zwischen 0 °C und Raumtemperatur statt^[145]. Aber auch diese Variation der Reaktionsbedingungen führte nicht zu Verbindung **28**.

Da das 2-Aminothiopen **25** über diesen Synthesansatz nicht zugänglich war, sollte die Synthese nun über die Gewalt-Reaktion nach Methode (4) erfolgen.

9.1.2 Synthese der 2-Aminothiophene **25** und **26** über Methode (4) der Gewald-Reaktion

Die Synthese der 2-Aminothiophene **25**, **26** über die Gewald-Reaktion nach Methode (4) erfordert Edukte, die α -ständig zur Carbonyl-Funktion eine Abgangsgruppe tragen (Abbildung 52).

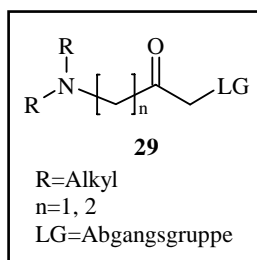


Abbildung 52: Ausgangsverbindung für Gewald-Reaktion nach Methode (4)

Als Abgangsgruppe können Halogenide oder die *p*-Toluolsulfonat-Gruppe (Tosylat-Gruppe) verwendet werden.

9.1.2.1 Bromid als Abgangsgruppe

Zunächst sollte Bromid als Abgangsgruppe verwendet werden, da die Einführung dieser Abgangsgruppe einen kürzeren Reaktionsweg bedeutete als die Einführung einer Tosylat-Gruppe. Dabei sollte das Halogenid direkt an Verbindung **27** eingeführt werden. Als Problem wurde die Regioselektivität der Bromierung erwartet, da die Verbindung **27** zwei unsymmetrische α -Positionen aufweist. Für die Synthese des Aminothiophens **25** musste die Bromierung an der Methyl-Funktion erfolgen.

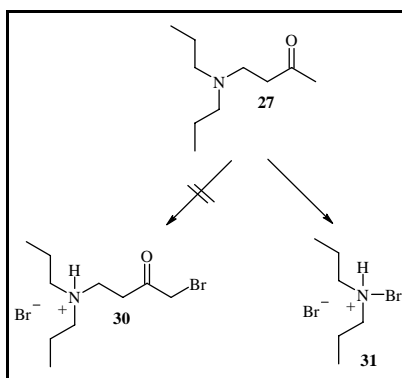


Abbildung 53: Bromierung von Verbindung **27**

Die Bromierung von Verbindung **28** unter Standardreaktionsbedingungen^[146] mit elementarem Brom in Eisessig wies allerdings nicht das erwartete Regioselektivitäts-Problem auf, da sie nicht zu dem erwarteten Hydrobromid **30**, sondern dem Hydrobromid **31** (Abbildung 53) führte. Verbindung **31** entstand durch die Substitution der Carbonylkohlenstoff-Kette am Stickstoff durch Bromid.

Da die Einführung des Bromids nicht erfolgreich verlief, wurde der längere Reaktionsweg zur Einführung der Tosylat-Gruppe als Abgangsgruppe beschritten wie im folgenden Kapitel ausführlich beschrieben.

9.1.2.2 Tosylat als Abgangsgruppe

Die Synthese der Thiophene **25** und **26** über die Gewalt-Reaktion nach Methode (4) mit der Tosylat-Gruppe als Abgangsgruppe setzte die Herstellung der Verbindungen **32** und **33** (Abbildung 54) voraus. Der Syntheseweg für die Vorstufen **32**, **33** ist in Abbildung 55 dargestellt.

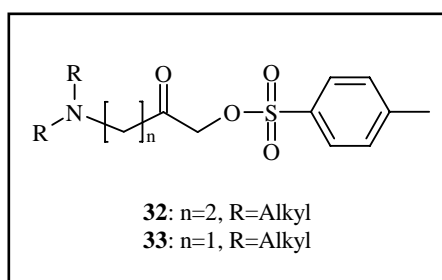


Abbildung 54: Gewalt-Vorstufen **32**, **33**

Die besten Affinitäten zu Dopamin-Rezeptoren sollten mit Verbindungen, die *N,N*-Di-*n*-propylaminoethyl-Substituenten besitzen, erzielt werden. Aufgrund der sterisch limitierten Bindungstasche der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors, die von dem Substituenten in 4-Position des Thiophens bedient wird, sollten aber sowohl Moleküle mit Dimethyl- als auch mit Di-*n*-propyl-Resten am Stickstoffatom und anschließender Methyl- bzw. Ethyl-Kette hergestellt werden.

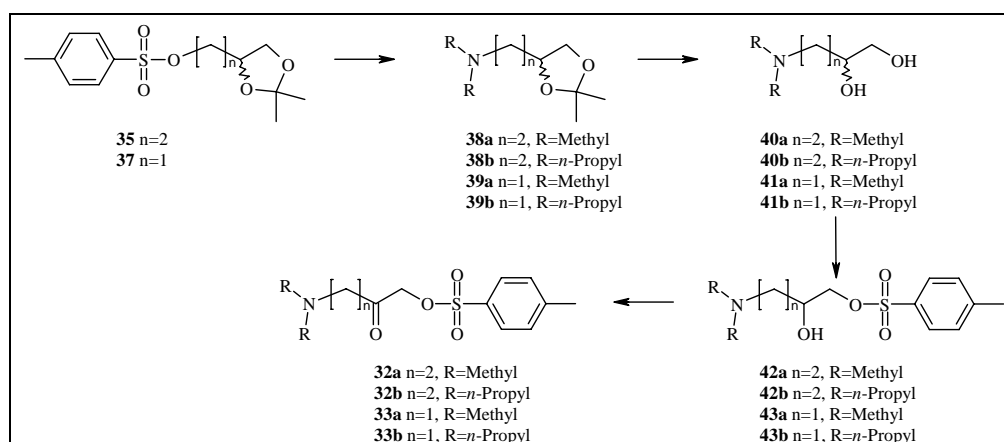
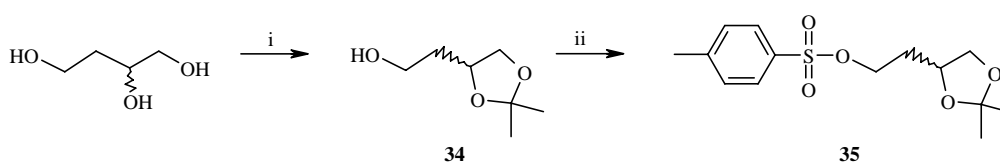


Abbildung 55: Syntheseweg zu den Gewalt-Vorstufen **32**, **33**

Die literaturbekannte Verbindung **35** (*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-2-(2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethylester musste über eine zweistufige Synthese hergestellt werden, während Verbindung **37** nur eine einstufige Synthese erforderte, da das racemische Acetonid **36** (Solketal) käuflich erworben werden konnte.

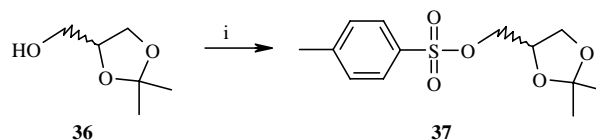
Die Synthese von Verbindung **35**^[147] ging von (*RS*)-Butan-1,2,4-triol aus. Dieses wurde mit einem großen Überschuss an absolutem Aceton in Gegenwart von Natriumsulfat zum Acetonid **34** umgesetzt. Als Katalysator wurde *p*-Toluolsulfonsäure eingesetzt^[148]. Nach basischer Aufarbeitung, Entfernung des organischen Lösungsmittels und Trocknung im Membranpumpenvakuum wurde Verbindung **34** mit Ausbeuten von 85% und in ausreichender Reinheit zur direkten weiteren Umsetzung erhalten.



i: abs. Aceton, Na₂SO₄, *p*-TsOH·H₂O, RT; ii: *p*-TsCl, abs. Pyridin, abs. CH₂Cl₂, -5 °C bis RT

Die ebenfalls literaturbekannte Verbindung **34** wurde bei -5 °C in absolutem Dichlormethan mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid vorgelegt, langsam mit absolutem Pyridin versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung wurde Verbindung **35** in 54 % iger Ausbeute erhalten.

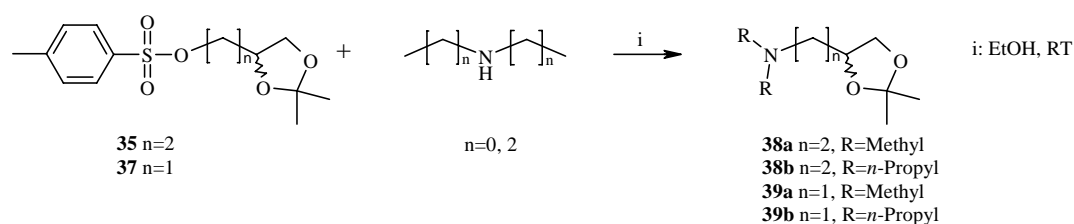
Ebenso wurde Verbindung **36** mit *p*-Toluolsulfonsäure zu Verbindung **37** umgesetzt. Die Ausbeuten lagen hier bei 70 %.



i: *p*-TsCl, abs. Pyridin, abs. CH₂Cl₂, -5 °C bis RT

Die Substitution von Verbindung **35** und **37** mit Dimethylamin ist in der Literatur beschrieben^[149]. Diese Reaktion wurde mit gasförmigen Dimethylamin in Diethylether durchgeführt, die Isolation der Produkte erforderte eine Extraktion mit Diethylether über die Dauer von 48 Stunden und anschließende Destillation. Die Substitution mit höheren Dialkylaminen, wie Diethylamin oder Di-*n*-propylamin, wurde als nicht möglich geschildert^[149].

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Substitutionsreaktionen wurden anders als in der Literatur beschrieben^[149] nicht in Diethylether, sondern in Ethanol durchgeführt. Dies ermöglichte die Verwendung einer wässriger Dimethylamin-Lösung ohne die Bildung eines zwei Phasen-Systems und erleichterte die Aufarbeitung erheblich. Die umständliche Handhabung der gasförmigen Komponente ließ sich so ebenfalls vermeiden. Nach der Reaktion wurde lediglich das Lösungsmittel verdampft und das Produkt durch Destillation gereinigt. Die Substitution mit Di-*n*-propylamin konnte in Ethanol ebenfalls erfolgreich durchgeführt werden.



Die Verbindung **35** wurde mit 4,4 Äquivalenten Dimethylamin bzw. Di-*n*-propylamin in Ethanol für 4 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach Destillation wurde Verbindung **38a** mit 47 % und **38b** mit 51 % Ausbeute erhalten. Die Verbindung **37** reagierte deutlich schneller. Die Umsetzung mit 3,3 Äquivalenten Dimethylamin bzw. Di-*n*-propylamin in Ethanol bei Raumtemperatur war nach 24 Stunden abgeschlossen und ergab Ausbeuten von 55 % (**39a**) und 72 % (**39b**).

Die Spaltung der Acetalverbindungen erfolgte unter literaturbeschriebenen Bedingungen^[149]. Zunächst wurden nur Verbindung **38a** und **39b** umgesetzt.

die Verbindung innerhalb weniger Stunden zu Verbindung **44** um. Dabei kam es unter Abspaltung der Tosylat-Gruppe durch intramolekularen Ringschluss zur Quatärnisierung des Stickstoffatoms und somit zur Bildung eines Azetidinium Salzes. Auch die Aufbewahrung von Verbindung **43b** bei Temperaturen von $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ führte nach zwei Tagen zur vollständigen Umwandlung in Verbindung **44**. Versuche, Verbindung **43b** möglichst schnell zu Verbindung **33b** zu oxidieren und anschließend zum Thiophen **26** umzusetzen, schlugen fehl. Die Oxidation von Verbindung **43b** wurde nach verschiedensten Methoden durchgeführt. Beispielsweise wurde die Oxidation mit Chromschwefelsäure in Diethylether^[129], mit Pyridinium Chlorochromat (PCC)^[150] in Dichlormethan und Jones-Reagenz in Aceton^[151] durchgeführt.

Die Synthese der Thieno[2,3-*b*]pyridinone vom Strukturtyp **V** und **VI** über die Einführung der tertiären Amino-Seitenkette in der 4-Position des Thiophens am Anfang des Synthesewegs war nicht erfolgreich. In den nachfolgenden Kapiteln soll die Synthese der Thieno[2,3-*b*]pyridinone vom Strukturtyp **V** und **VI** über die Einführung der tertiären Amine durch Substitutionsreaktionen zu einem späteren Zeitpunkt im Syntheseweg beschrieben werden.

9.2 Einführung der *N,N*-Dialkylamino-Funktion zum Ende der Synthese

Die Thieno[2,3-*b*]pyridinone des Strukturtyps **V** und **VI** (Abbildung 50) waren über einen Syntheseweg, der die *N,N*-Dialkylamino-Seitenkette vor dem Aufbau des Thiophenrings in die Moleküle einführt, nicht darstellbar.

Die Darstellung der Verbindungen des Typs **V** und **VI** erforderte somit eine Umstellung der Synthesestrategie. Dabei sollten zunächst die Thieno[2,3-*b*]pyridinon-Gerüste mit entsprechenden Substituenten in 3-Position aufgebaut werden und anschließend durch einschlägige Substitutionsreaktionen die jeweiligen *N,N*-Dialkylamino-Substituenten eingeführt werden.

Aus dem vorangegangenen Syntheseansatz war bereits bekannt, dass die Tosylat-Gruppe an Molekülen wie Verbindung **35** und **37** (Abbildung 55) sowohl durch Dimethylamin als auch durch Di-*n*-propylamin substituiert werden konnte. Dies ließ erwarten, dass die Substitution auch an entsprechend substituierten Thieno[2,3-*b*]pyridinone möglich sein würde. Diese sind zwar sterisch anspruchsvoller als die Verbindungen **35** und **37**,

allerdings liegen die betreffenden raumerfüllenden Teile der Verbindungen, bezogen auf die Substitutionsposition, auf der entgegengesetzten Seite der Moleküle.

Die Einführung und anschließende Substitution einer Tosylat-Gruppe setzte die Synthese von Thienopyridinonen voraus, die Hydroxymethyl- bzw. Hydroxyethyl-Kette in der 3-Position trugen. Die daraus resultierenden Verbindungen **45** und **46** (Abbildung 57) sind nicht nur die entscheidenden Vorstufen für die Substitution, sondern auch selbst interessante Testsubstanzen. Dies gilt natürlich nur für die Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors und nicht für Dopamin-Rezeptoren.

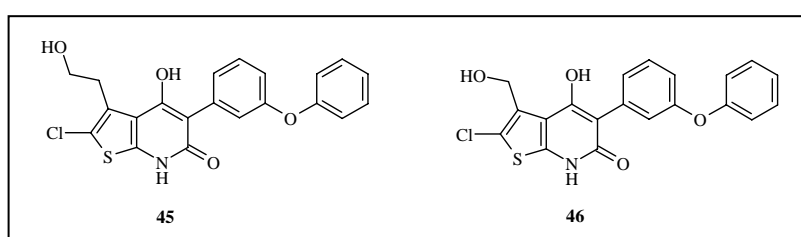


Abbildung 57: Verbindungen **45** und **46**

Die Synthese der entsprechend substituierten 2-Aminothiophene (Abbildung 58) wurde über die Gewalt-Reaktion nach Methode (4) angestrebt.

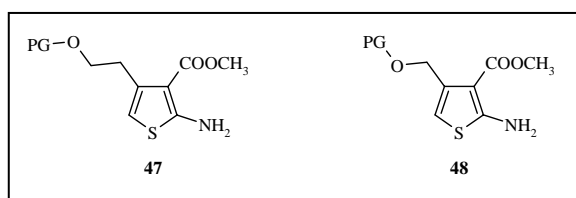


Abbildung 58: 2-Aminothiophene mit Sauerstoff-Funktionalitäten in 4-Position (PG: Schutzgruppe)

In vorangegangenen Arbeiten konnte bereits erfolgreich eine Verbindung mit einer Sauerstoff-Funktionalität (Ether) über diesen Weg hergestellt werden^[62].

Die Hydroxy-Funktion musste während der Synthese durch eine geeignete Schutzgruppe geschützt werden. Als Abgangsgruppe für die Gewalt-Reaktion sollte die Tosylat-Gruppe verwendet werden.

9.2.1 Synthese der Thieno[2,3-b]pyridinone **45** und **46**

Die Hydroxy-Funktion musste mit einer Schutzgruppe versehen werden, die sowohl basischen als auch sauren Reaktionsbedingungen widerstehen konnte. Dazu wurde die Benzoyl-Schutzgruppe ausgewählt. Die Hydroxy-Funktion wurde somit als relativ stabiler Ester geschützt. Der Benzylester ist stabil gegenüber Säuren und vielen Basen^[130]. Die Abspaltung erfolgt in Gegenwart von Hydroxid-Ionen und somit sollte die Schutzgruppe den angestrebten Reaktionsbedingungen während der Synthese standhalten.

9.2.1.1 Synthese der 2-Aminothiophene **47** und **48**

Die Synthese für das Aminothiophen **47** ging von Verbindung **34** aus, deren Herstellung bereits in Kapitel 9.1.2.2 beschrieben wurde. Die Synthese des Aminothiophen **48** erfolgte über Verbindung **36**, die käuflich erworben wurde. Der Syntheseweg der Verbindungen **47** und **48** unter Verwendung der Benzoyl-Schutzgruppe ist in Abbildung 59 dargestellt.

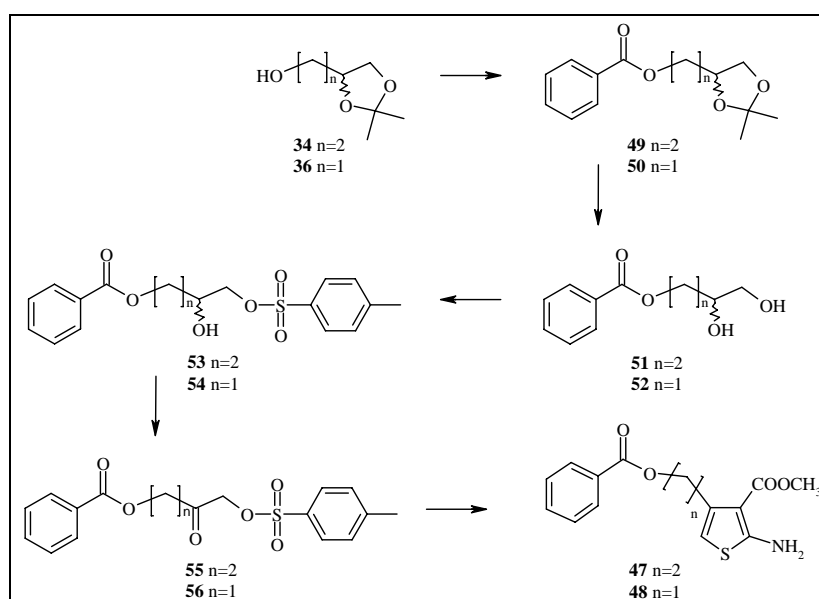
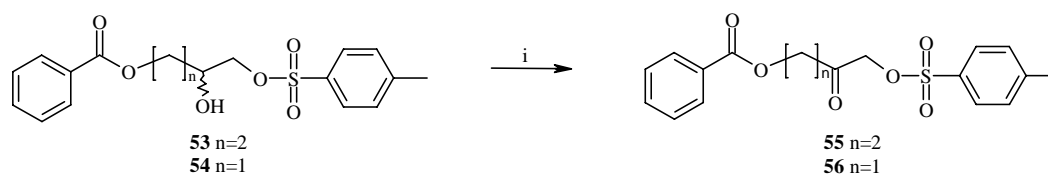


Abbildung 59: Syntheseweg der Verbindungen **47** und **48**

Die Benzoyl-Schützung der Verbindung **34** und **36** und die anschließende Acetalspaltung erfolgte unter literaturbeschriebenen Bedingungen^[152].

Die Dioxolanverbindungen wurden mit 1.2 Äquivalenten Pyridin in Dichlormethan gelöst, langsam mit frisch destilliertem Benzoylchlorid versetzt und anschließend mehrere Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung wurde Verbindung **49** vakuum-flashchromatographisch gereinigt und mit einer Ausbeute von 94 % erhalten.

Die Oxidation der sekundären Hydroxy-Gruppe zum Keton wurde zunächst mit aktiviertem Mangandioxid in absolutem Dichlormethan^[153] durchgeführt. Dabei handelt es sich zwar um ein sehr schonendes Oxidationsverfahren, allerdings führte dieses nur zu sehr geringen Ausbeuten. Verbindung **56** wurde mit nur 10 % Ausbeute gebildet. Daraufhin wurde die Oxidation nach der von Noe et al.^[129] beschriebenen Methode mit Chromschwefelsäure durchgeführt. Die Reaktion wird als zwei Phasen-Reaktion durchgeführt und ist somit, trotz der Chromschwefelsäure, ein relatives mildes Oxidationsverfahren. Dabei wurden ebenfalls recht geringe Ausbeuten um die 20 % sowohl für Verbindung **55** als auch für Verbindung **56** erzielt. Durch Variation der Reaktionsbedingungen konnten die Ausbeuten für beide Verbindungen deutlich gesteigert werden.



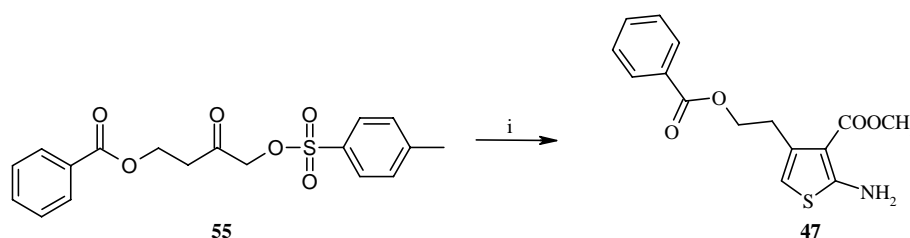
i: $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, H_2SO_4 , H_2O ; Et_2O , RT

Die sekundären Alkohole **53** und **54** wurden unter Rühren in Diethylether gelöst. Die Chromschwefelsäure wurde aus 0.3 Äquivalenten Natriumdichromat Dihydrat, konzentrierter Schwefelsäure und destilliertem Wasser hergestellt. Diese wurde anschließend so langsam zu der Diethylether-Lösung getropft, dass die Temperatur unter 25 °C lag. In der oben angegebenen Literatur^[129] wurde nach der Zugabe für 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend aufgearbeitet. Diese Vorgehensweise führte zu den bereits beschriebenen geringen Ausbeuten der Verbindungen **55** und **56**. Die Ausbeuten konnten durch die folgende Variation der Reaktionsbedingungen auf 50 % für Verbindung **56** und sogar 84 % im Falle der Verbindung **55** gesteigert werden. Die verwendete Chromschwefelsäure enthielt statt der oben angegebenen 0.3 Äquivalente die vierfache Menge (1.2 Äquivalente) an Natriumdichromat Dihydrat. Die Zugabe erfolgte in vier Portionen in sechsstündigem Abstand und die gesamte Reaktionszeit betrug 24 Stunden. Anschließend wurde die Reaktionsmischung basisch aufgearbeitet und die Produkte **55** und **56** chromatographisch gereinigt.

Die Gewalt-Reaktion mit den Verbindungen **55**, **56** wurde zunächst nach der in der Literatur^[129,131] beschriebenen Methode (4) durchgeführt. Dabei wurden äquimolare

Mengen Methylcyanacetat und Natriumsulfid Nonahydrat in absolutem Methanol vorgelegt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Die Verbindung **55** bzw. **56** wurde ebenfalls in absolutem Methanol gelöst und anschließend langsam zu der Lösung getropft. Nach Zugabe von einem Äquivalent Triethylamin wurde die Reaktionsmischung mehrere Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und Extraktion mit Diethylether erfolgte die Reinigung chromatographisch.

Verbindung **55** reagierte in sehr geringen Ausbeuten, von nur 2 %, zum gewünschten Thiophen **47**. Dabei war die Bildung von zahlreichen Nebenprodukten über Dünnschichtchromatographie zu beobachten, die allerdings nicht isoliert und identifiziert wurden.



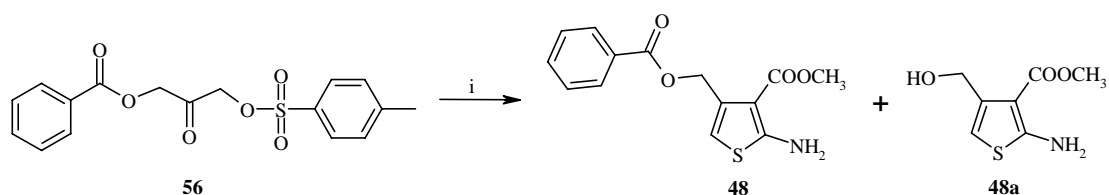
i: Methylcyanacetat, $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, Et_3N , abs. MeOH, 0 °C-RT

Die Ausbeute sollte durch Variationen der Reaktionsbedingungen erhöht und die Bildung von Nebenprodukten verringert werden. So wurde beispielsweise statt des Natriumsulfid Nonahydrats wasserfreies Natriumsulfid eingesetzt. Dabei wurde Verbindung **55** mit Methylcyanacetat und Triethylamin in absolutem Methanol vorgelegt und auf -10 °C gekühlt. Das wasserfreie Natriumsulfid wurde portionsweise zugegeben. Nach mehreren Stunden Rühren bei Raumtemperatur und entsprechender Aufarbeitung wurde Verbindung **47** wieder nur mit 2 % Ausbeute isoliert. Eine weitere Variation war die Durchführung der Gewalt-Reaktion ohne Zugabe von Triethylamin. Die Funktion der Base sollte vom ebenfalls basischen Natriumsulfid Nonahydrat übernommen werden. Dabei erfolgte die Reaktionsdurchführung wie oben und in der Literatur^[129] beschrieben, nur ohne Zugabe der Base. Nach 24 Stunden Rühren bei Raumtemperatur und entsprechender Aufarbeitung wurde Verbindung **47** mit 7 % Ausbeute isoliert. Die Bildung von Nebenprodukten fiel geringer aus.

Die Ausbeute an gewünschtem 2-Aminothiophen **47** konnte zwar erhöht werden, aber war zu gering, um die Synthese in dieser Weise fortzuführen. Deshalb wurde die Synthese des

Thiophens mit einer anderen Schutzgruppe durchgeführt. Diese wird in Kapitel 9.2.1.1.1 genauer beschrieben.

Verbindung **56** reagierte unter den literaturbeschriebenen Reaktionsbedingungen^[129,131] mit höheren Ausbeuten als **55**, von 14 %, zum gewünschten Thiophen **48**. Anders als bei Verbindung **55** wurde auch die Bildung des entschützten 2-Aminothiophens **48a** (6 %) beobachtet. Die Verbindungen **48** und **48a** konnten über Vakuumflashchromatographie getrennt werden.



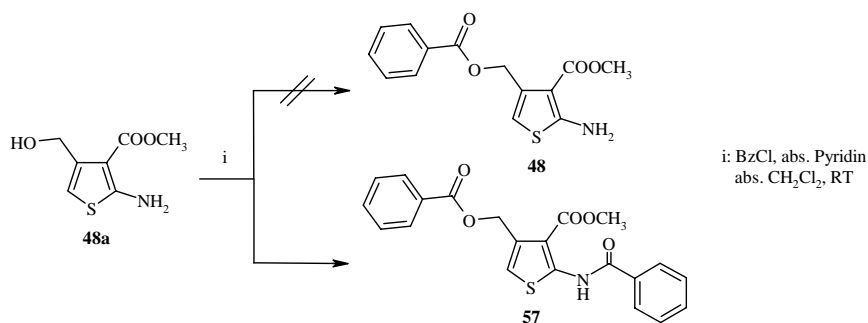
i: Methylcyanacetat, Na₂S•9H₂O, Et₃N, abs. MeOH, 0 °C bis RT^[131]

Die Durchführung der Gewald-Reaktion mit Verbindung **56** ohne Zusatz von Base führte zu einer deutlichen Erhöhung der Ausbeute von Verbindung **48**, auf 26 %. Der Anteil der ungeschützten Komponente **48a** dagegen erhöhte sich nur um 1 % auf insgesamt 7 %.

Verbindung **48** wurde somit in ausreichendem Maße erhalten, um die Synthese von Verbindung **46** (Abbildung 57) mit der Benzoyl-geschützten Komponente fortzuführen.

Die während der Gewald-Reaktion entstandene ungeschützte Verbindung **48a** sollte durch erneute Schützung der Hydroxy-Gruppe mit der Benzoyl-Schutzgruppe der Synthese wieder zugeführt werden. Dabei stellte sich das Problem, dass Verbindung **48a** zwei nucleophile Zentren aufwies. Sowohl die aliphatische Hydroxy-Gruppe als auch die aromatische Amino-Funktion konnten als Nucleophil mit dem zur Schützung verwendeten Benzoylchlorid reagieren. Da die Amino-Funktion der 2-Aminothiophene nur geringe Basizität besitzt und somit auch geringe Nucleophilie aufweisen sollte, wurde bevorzugte Substitution an der Hydroxy-Gruppe erwartet.

Verbindung **48a** wurde mit einem leichten Überschuss an absolutem Pyridin in absolutem Dichlormethan gelöst und bei Raumtemperatur langsam mit Benzoylchlorid versetzt. Nach basischer Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung wurde nicht Verbindung **48** erhalten, sondern ausschließlich Verbindung **57**, die eigentlich nur als Nebenprodukt erwartet worden war.



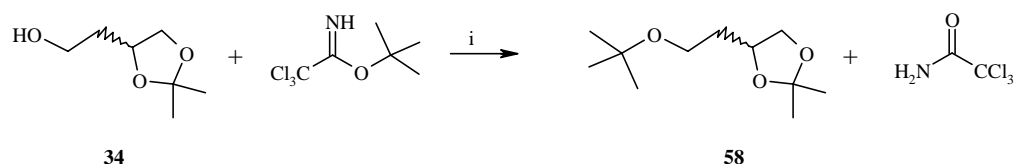
Es gelang also nicht, Verbindung **48a** durch erneute Schützung wieder der Synthese zu zuführen.

9.2.1.1.1 Änderung der Schutzgruppen-Strategie

Die Synthese des 2-Aminothiophens **47** (Abbildung 58) gelang mit der Benzoylgeschützten Hydroxy-Gruppe über die Gewald-Reaktion nach Methode (4) nur in sehr geringen Ausbeuten. Deshalb wurde die Synthese erneut, allerdings mit einer anderen Schutzgruppe, durchgeführt. Dabei wurde die Hydroxy-Gruppe nicht wieder als Ester, sondern als Ether-Funktion geschützt, und zwar als *tert*-Butylether. Die *tert*-Butyl-Schutzgruppe ist gegenüber vielen Reagenzien stabil, eine Ausnahme bilden starke Säuren. Der *tert*-Butylether zeichnet sich unter den Alkohol-Schutzgruppen durch seine Stabilität, seine leichte Einführbarkeit und Spaltung aus^[130].

Traditionelle Methoden führen die *tert*-Butyl-Schutzgruppe über Reaktionen mit Isobuten in Gegenwart von Säuren ein^[154]. Die Synthese des 2-Aminothiophens **62** verlief nach dem gleichen Schema wie die Synthese der 2-Aminothiophene **47** und **48** und ist in Abbildung 60 dargestellt. Als Ausgangsverbindung diente wie bei Verbindung **47** das Acetal **34**. Da Verbindung **34** labil gegenüber Protonensäuren ist, konnten die traditionellen Methoden zur Einführung der *tert*-Butyl-Schutzgruppe nicht verwendet werden. Armstrong et al.^[155] stellten 1988 eine Methode vor, die die Einführung der *tert*-Butyl-Schutzgruppe ohne den Umgang mit gasförmigen Isobuten ermöglichte. Auf eine starke Protonensäure zur Bildung der *tert*-Butyl-Kationen konnte bei dieser Methode ebenfalls verzichtet werden und machte sie somit kompatibel für Moleküle, die säurelabile Funktionalitäten enthalten. Die *tert*-Butyl-Kationen werden bei dieser Methode von dem Reagenz 2,2,2-Trichloracetimid säure-*tert*-butylester in Gegenwart von katalytischen Mengen einer Lewissäure geliefert. Das Reagenz wird nach Abspaltung des *tert*-Butyl-Kations zu Trichloracetamid umgelagert.

Verbindung **34** wurde mit 1.2 Äquivalenten 2,2,2-Trichloracetimid säure-*tert*-butylester in absolutem Cyclohexan gelöst und anschließend schnell mit katalytischen Mengen Bortrifluorid-Etherat versetzt. Nach zwei Stunden Rühren wurde die Reaktionsmischung basisch aufgearbeitet.



i: $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, abs. Cyclohexan

Das entstandene Trichloracetamid wurde über Kieselgel abfiltriert und nach Vertreiben des Lösungsmittels wurde Verbindung **58** vakuumflashchromatographisch gereinigt und mit 64 % Ausbeute erhalten.

Die nachfolgende Synthese des 2-Aminothiophens **62** zeigte nur wenige Abweichungen von der Synthese der Verbindung **47**.

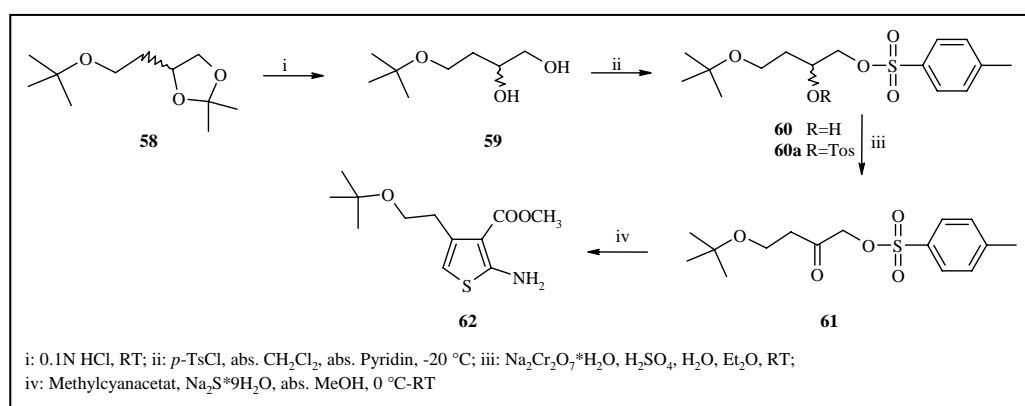


Abbildung 60: Synthese des 2-Aminothiophens **62**

Die Öffnung des Acetals erfolgte in 0.1N Salzsäure. Die Reaktion wurde, anders als bei Verbindung **49**, bei Raumtemperatur durchgeführt, um eine mögliche Abspaltung der Schutzgruppe zu vermeiden. Die Reaktionszeiten verlängerten sich dadurch nicht wesentlich, Verbindung **59** wurde nach basischer Aufarbeitung und Extraktion mit Diethylether in 86 % Ausbeute erhalten.

Die Tosylierung wurde bei tiefen Temperaturen von $-20\text{ }^\circ\text{C}$ mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in absolutem Dichlormethan in Gegenwart von absolutem Pyridin

durchgeführt, um hauptsächlich Tosylierung der primären Hydroxy-Gruppe zu erhalten. Als Hauptprodukt wurde die erwartete Verbindung **60** allerdings nur mit 44 % Ausbeute erhalten. Der Anteil der zweifach tosylierten Verbindung **60a** lag aber nur bei 5 %. Eine Verbindung, die ausschließlich Tosylierung an der sekundären Hydroxy-Gruppe aufwies, konnte nicht isoliert werden. Die Verbindungen **60** und **60a** konnten nach saurer Aufarbeitung chromatographisch getrennt werden.

Die Oxidation der Verbindung **60** zu **61** erfolgte über die in Kapitel 9.2.1.1 bereits beschriebene zwei Phasen-Reaktion mit Chromschwefelsäure. Dabei wurden Ausbeuten von 63 % erzielt.

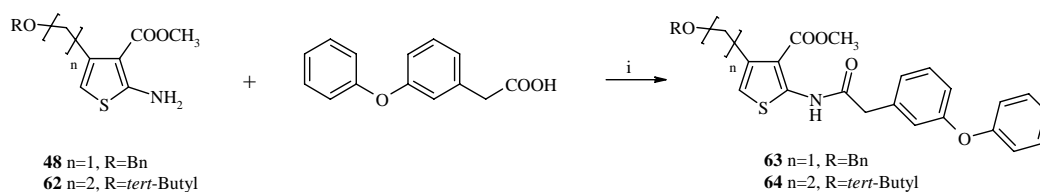
Die sich anschließende Gewalt-Reaktion wurde aufgrund der in den vorherigen Synthesen gesammelten Erfahrungen von vornherein ohne Zugabe von Base durchgeführt. Methylcyanacetat und Natriumsulfid Nonahydrat wurden in absolutem Methanol vorgelegt, auf 0 °C gekühlt und mit Verbindung **61**, ebenfalls in absolutem Methanol gelöst, versetzt. Nach 12 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung wässrig aufgearbeitet und das 2-Aminothiophen **62** nach chromatographischer Reinigung in guten Ausbeuten von 36 % erhalten.

Der Wechsel der Alkohol-Schutzgruppe führte somit zu einer deutlichen Ausbeutesteigerung bei der Gewalt-Reaktion. Trotz dieser merklichen Verbesserung wurde der Schutzgruppenwechsel für das 2-Aminothiophen **48** (Abbildung 58), mit der um eine CH₂-Einheit verkürzten Seitenkette in 4-Position, nicht in Betracht gezogen. Die erzielten Ausbeuten von Verbindung **48** mit der Benzoyl-geschützten Alkohol-Funktion waren ausreichend, um die Synthese fortzuführen. Außerdem war unklar, ob der Schutzgruppenwechsel ebenfalls eine Ausbeutesteigerung erzielen würde, schließlich unterschieden sich die Ausbeuten für Verbindung **47** und **48** mit der gleichen Schutzgruppe sehr deutlich.

9.2.1.2 Acetylierung und Chlorierung der 2-Aminothiophene **48** und **62**

Die Synthese der Verbindungen **45** und **46** (Abbildung 57) setzte die Acetylierung und anschließende Chlorierung der 2-Aminothiophene **48** und **62** voraus. Die Acetylierungen der Verbindungen **48** und **62** wurden nach Mukaiyama^[136] durchgeführt. Dabei wurden die beiden Verbindungen jeweils in absolutem Dichlormethan gelöst, mit stöchiometrischen Mengen 3-Phenoxyphenyllessigsäure und einem leichten Überschuss an Mukaiyama-

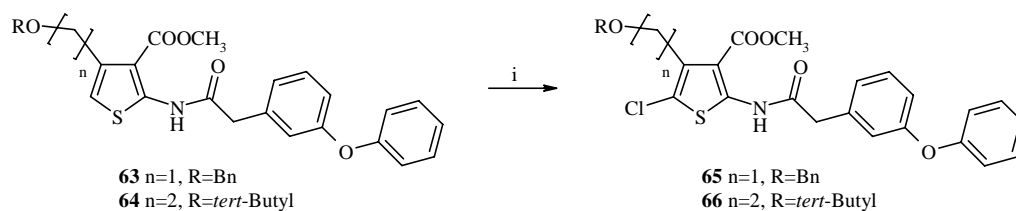
Reagenz (2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid) unter Stickstoffatmosphäre versetzt und 2.4 Äquivalente Triethylamin langsam zugegeben. Anders als bei dem 2-Aminothiophen **6** (Abbildung 41), das die BOC-Schutzgruppe trug, wurde die Reaktion nicht unter Rückfluss, sondern bei Raumtemperatur durchgeführt. Diese Variation wurde aufgrund der Schutzgruppen vorgenommen. Die Benzoyl-Schutzgruppe kann durch Triethylamin unter erhöhten Temperaturen abgespalten werden^[130]. Verbindung **48** wurde eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach saurer Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung wurde Verbindung **63** mit 78 % Ausbeute erhalten.



i: 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid, Et_3N , abs. CH_2Cl_2 , RT

Die *tert*-Butyl-Schutzgruppe ist zwar stabil gegenüber Triethylamin, aber die Reaktion mit Verbindung **62** wurde ebenfalls schonend bei Raumtemperatur durchgeführt. Nach einer Reaktionszeit von drei Stunden wurden 93 % der Verbindung **64** isoliert.

Die anschließende Chlorierung der Verbindungen **63** und **64** wurde mit *N*-Chlorsuccinimid (NCS) durchgeführt. Dabei wurden die Verbindungen **63** bzw. **64** in absolutem Chloroform mit einem Äquivalent NCS bei 50 °C Ölbadtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt.



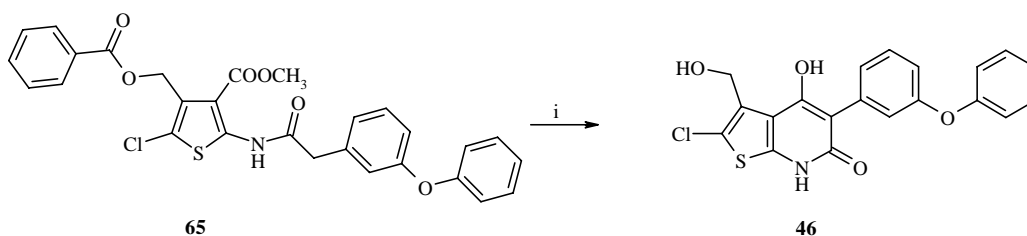
i: NCS, abs. Chloroform, 50 °C

Die Umsetzung von Verbindung **63** war erst nach 45 Stunden abgeschlossen und führte nach wässriger Aufarbeitung und Vakuumflashchromatographie zu einer Ausbeute von 98 % der Verbindung **65**. Verbindung **64** benötigte sogar Reaktionszeiten von 96 Stunden zur vollständigen Umsetzung und führte nach entsprechender Aufarbeitung zu Verbindung

66 in 92 % Ausbeute. Die Reaktionszeiten konnten durch Erhöhung der NCS Menge nicht verkürzt werden, da es dadurch zu unerwünschten Nebenreaktionen, d. h. Chlorierungen im Aromatenbereich der Substanzen, kam.

9.2.1.3 Cyclisierungsreaktionen mit Verbindung **65** und **66**

Verbindung **65** sollte mit einer üblicherweise für die Cyclisierung von Verbindungen des Typs **XV** zu Thieno[2,3-*b*]pyridinonen des Typs **I** (Abbildung 42) verwendeten ionischen Base cyclisiert werden. Der unerwünschte intramolekulare Ringschluss der Seitenkette in 4-Position des Thiophens mit der Ester-Funktion in 3-Position des Thiophens, der bei Verbindung **12a** zu beobachten war (Kapitel 8.2.3), war aufgrund der Länge der Seitenkette nicht zu erwarten. Als Base wurde Lithiumdiisopropylamid (LDA) verwendet. Die Verbindung **65** wurde in absolutem Tetrahydrofuran gelöst und unter Stickstoffatmosphäre auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurde die Base zugetropft und die Reaktionsmischung unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur für 72 Stunden gerührt. Nach saurer Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung wurde ausschließlich die entschützte Verbindung **46** in sehr geringen Ausbeuten von nur einem Prozent isoliert.

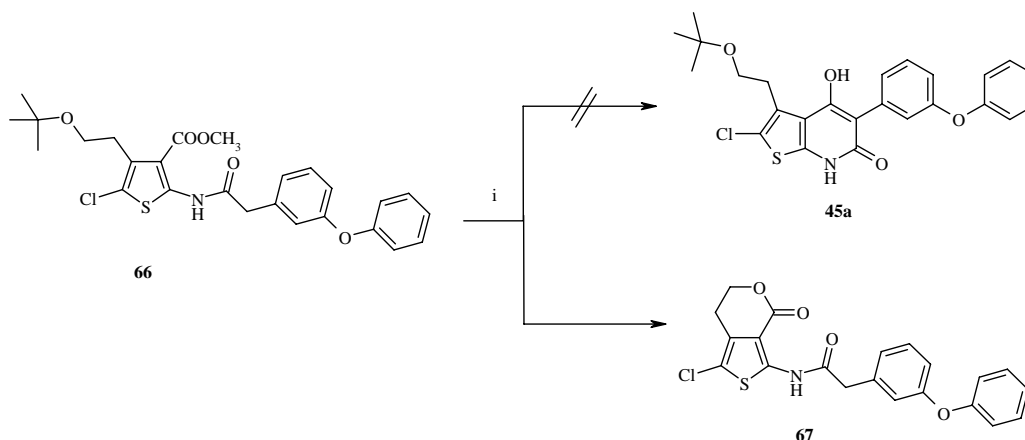


i: LDA, abs. THF, $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis RT

Die Abspaltung der Benzoyl-Schutzgruppe unter den beschriebenen Versuchsbedingungen war nicht unerwartet, erklärte allerdings nicht die geringen Ausbeuten. Die Verwendung einer anderen Base, wie die Phosphazene-Base $\text{P}_2\text{-}t\text{-Bu}$, führte nicht zu höheren Ausbeuten. Die *tert*-Butyl-Schutzgruppe sollte bei den oben beschriebenen Versuchsbedingungen stabil sein. Dies war sehr wichtig, da bei Verbindung **66** unter Abspaltung der Schutzgruppe die Seitenkette in 4-Position des Thiophens mit der Ester-Funktion in Position 3 des Thiophens in einer intramolekularen Cyclisierungsreaktion zum Lacton

reagieren konnte, wie es bei Verbindung **12a** (Kapitel 8.2.3), die zum Lactam cyclisierte, zu beobachten war.

Verbindung **66** wurde zunächst ebenfalls mit LDA in absolutem Tetrahydrofuran unter Stickstoffatmosphäre bei Temperaturen von $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ umgesetzt. Nach 18 Stunden Rühren unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung sauer aufgearbeitet. Nach Reinigung durch Vakuumflashchromatographie wurde nicht Verbindung **45** bzw. die *tert*-Butyl geschützte Verbindung **45a**, sondern das Lacton **67** isoliert.



i: LDA, abs. THF, $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis RT

Die Verwendung von Kaliumhexamethyldisilazid bei der Cyclisierung führte zu den gleichen Ergebnissen. Keinerlei Umsetzung konnte bei der Verwendung der Phosphazenen-Base P_2 -*t*-Bu beobachtet werden.

Es gelang nicht, die Verbindung **45** zu synthetisieren und Verbindung **46** wurde in so geringen Ausbeuten erhalten, dass eine anschließende Tosylierung und Substitutionsreaktion mit einem *N,N*-Dialkylamin nicht mehr möglich bzw. sinnvoll war. Ausgehend von den Verbindungen **65** und **66** wurde die Herstellung tosylierter Cyclisierungsvorstufen angestrebt, die nach Substitution zu den entsprechenden Thieno[2,3-*b*]pyridinonen cyclisiert werden sollten.

9.2.2 Einführung der *N,N*-Dialkylamino-Funktion vor der Cyclisierung

Die Einführung der *N,N*-Dialkylamino-Funktion vor der Cyclisierung (Abbildung 61) in die beiden Cyclisierungsvorstufen **65** und **66** setzte zunächst die Entschützung der Verbindungen voraus. Anschließend sollte die Tosylat-Gruppe als Abgangsgruppe eingeführt werden und durch eine entsprechende Substitutionsreaktion danach die jeweilige *N,N*-Dialkylamino-Funktion in die Moleküle eingebracht werden.

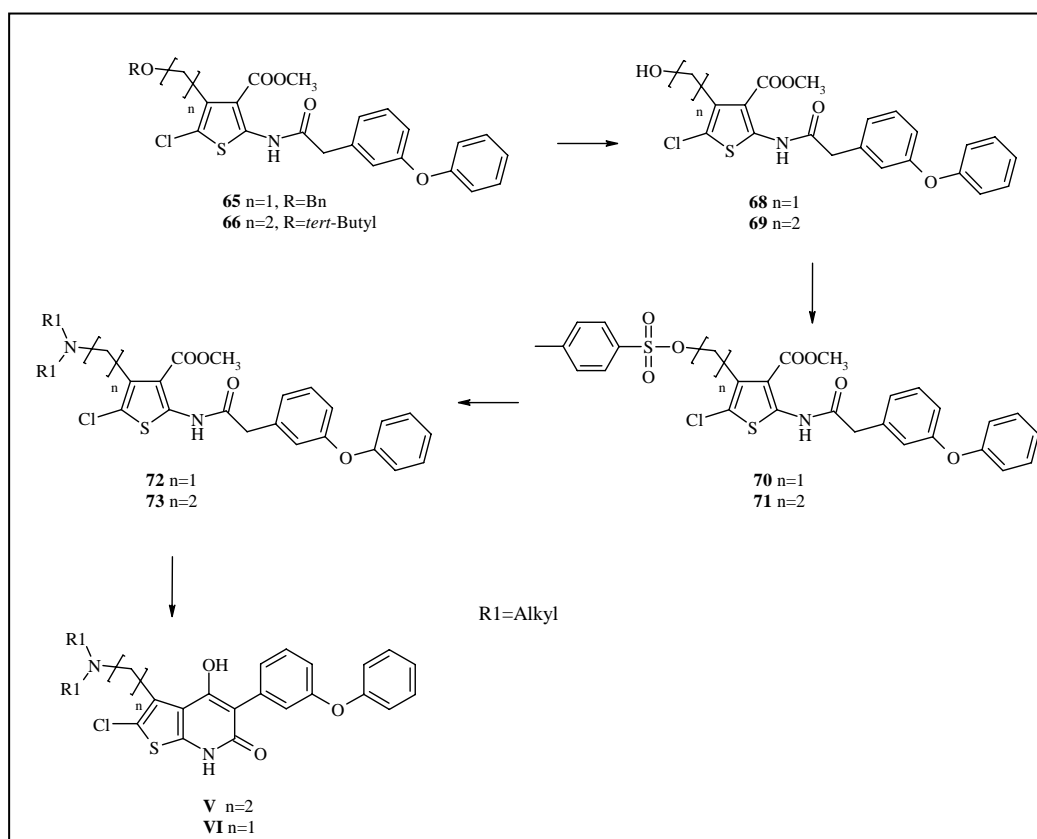


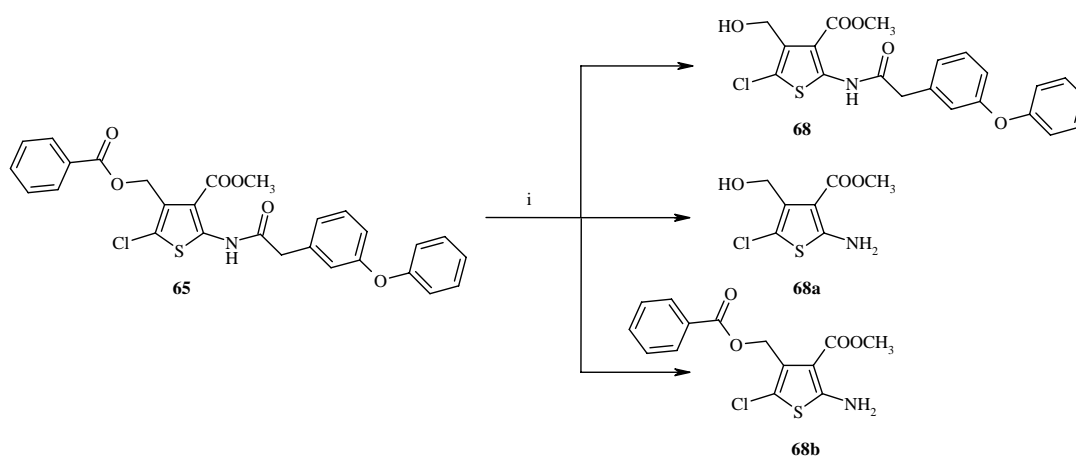
Abbildung 61: Einführung der *N,N*-Dialkyl-Funktion vor der Cyclisierung

Die daraus resultierenden Verbindungen **72**, **73** sollten über die bereits beschriebenen Cyclisierungsreaktionen zu den Thieno[2,3-*b*]pyridinonen des Strukturtyps **V** und **VI** cyclisiert werden. Die Synthese wird in den nachfolgenden Kapiteln genauer beschrieben.

9.2.2.1 Abspaltung der Schutzgruppen

Die Benzoyl-Schutzgruppe wird üblicherweise in Gegenwart von Hydroxid-Ionen abgespalten^[130]. Dabei war aber die gleichzeitige Spaltung des Methylresters in der 3-Position des Thiophens zu befürchten. Deshalb wurde die Reaktion in Methanol

durchgeführt. Verbindung **65** wurde in einer 0.5 %-methanolischen Natriumhydroxid-Lösung, die 1.1 Äquivalente NaOH enthielt^[156], für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung, Extraktion mit Ethylacetat und chromatographischer Aufarbeitung wurde neben der erwarteten Verbindung **68** auch ein Produkt (**68a**) isoliert, bei dem es neben der Abspaltung der Schutzgruppe auch zur Spaltung der amidischen Bindung in 2-Position des Thiophens kam. Des Weiteren wurde Verbindung **68b** gebildet, wobei nicht die Schutzgruppe, sondern ausschließlich die amidische Bindung gespalten wurde.

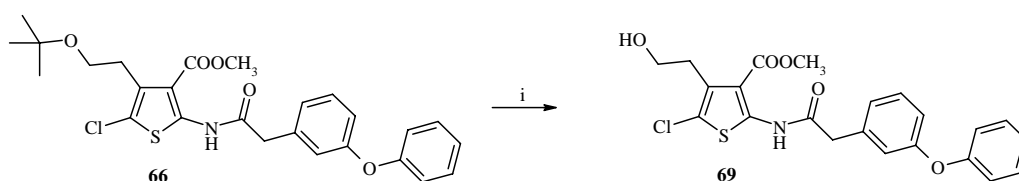


i: NaOH, MeOH, RT

Die Spaltung des Methylesters wurde nicht beobachtet. Verbindung **68a** wurde als Hauptprodukt mit 15 %, Verbindung **68** mit 4 % und Verbindung **68b** mit 6 % Ausbeute gebildet. Da die Ausbeute an Verbindung **68** viel zu gering war, um die Synthese auf diese Weise fortzusetzen, wurde eine weitere Abspaltungsmethode für die Benzoyl-Schutzgruppe angewendet. Dabei wurde Verbindung **65** in einer Mischung von Triethylamin, Methanol und Wasser im Verhältnis 1:5:1 gerührt^[157]. Da bei Raumtemperatur keine Umsetzung zu beobachten war, wurde die Lösung für weitere 10 Stunden bei einer Ölbadtemperatur von 70 °C gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung und Vakuumflashchromatographie wurden ausschließlich die Verbindungen **68a** und **68b** erhalten. Allerdings wurde nach dieser Methode Verbindung **68b** mit 34 % Ausbeute als Hauptprodukt erhalten. Verbindung **68a** wurde mit 15 % isoliert. Die sanfteste Methode zur Abspaltung der Benzoyl-Schutzgruppe ist die Reaktion mit Kaliumcarbonat. Verbindung **65** wurde mit einem Äquivalent Kaliumcarbonat in einer Mischung aus Methanol und Wasser (10:1) bei Raumtemperatur für 15 Stunden gerührt^[158]. Nach

entsprechender Aufarbeitung wurden aber wieder alle drei Verbindungen **68**, **68a** und **68b** erhalten. Dabei wurde **68a** ebenfalls als Hauptprodukt gebildet. Das gewünschte Produkt **68** wurde mit nur 7 % erhalten. Somit war eine Weiterführung des Synthesewegs zu Verbindungen des Typs **VI** nicht sinnvoll.

Die Abspaltung der *tert*-Butyl-Schutzgruppe von Verbindung **66** verlief deutlich problemloser. Dabei wurde nicht eine der gängigen Methoden mit starken Säuren, wie 10N Salzsäure, Trifluoressigsäureanhydrid oder Bromwasserstoff in Eisessig verwendet^[130], sondern eine sehr schonende Methode mit der Lewissäure Bortrifluorid^[159]. Verbindung **66** wurde in absolutem Toluol vorgelegt und mit 3.8 Äquivalenten Bortrifluorid-Etherat für eineinhalb Stunden unter Luftausschluss bei Raumtemperatur gerührt.



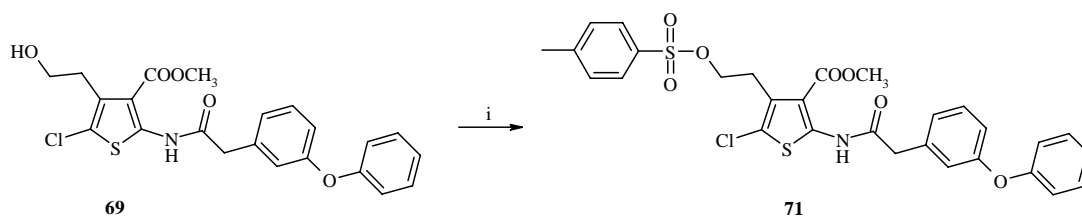
i: $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, abs. Toluol, RT

Nach basischer Aufarbeitung und Extraktion mit Diethylether kristallisierte die Verbindung beim Einengen des Lösungsmittels aus. Der kristalline Niederschlag wurde abfiltriert und zur Reinigung in einer Diethylether/Petrolether-Mischung digeriert. Das Produkt **69** wurde mit Ausbeuten von 79 % erhalten.

9.2.2.2 Einführung der Abgangsgruppe und Substitution durch eine *N,N*-Dialkylamino-Funktion

Die Substitution der *N,N*-Dialkylamino-Funktion setzte die Einführung einer Abgangsgruppe in Verbindung **69** voraus. Dabei sollte die Tosylat-Gruppe verwendet werden, da aus vorangegangenen Synthesen bekannt war, dass der Tausch von Tosylat gegen *N,N*-Dialkylamine möglich war. Hierzu wurde Verbindung **69** mit einem dreifachen Überschuss an Triethylamin und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) in absolutem Dichlormethan vorgelegt und bei Raumtemperatur langsam mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid, ebenfalls in absolutem Dichlormethan gelöst, versetzt. Nach einer

Reaktionszeit von 24 Stunden, saurer Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung wurde das Produkt **71** mit 86 % iger Ausbeute isoliert.



i: *p*-TsCl, Et₃N, DMAP, abs. CH₂Cl₂

Zunächst sollte als *N,N*-Dialkylamino-Funktion Di-*n*-propylamin eingeführt werden. Dabei wurde Verbindung **71** in Methanol gelöst und mit 4.4 Äquivalenten Di-*n*-propylamin versetzt und anfangs bei Raumtemperatur gerührt. Da auch nach mehreren Stunden keine Umsetzung zu beobachten war, wurde die Reaktionsmischung über mehrere Temperaturintervalle letztlich zum Sieden erhitzt. Nach 18 Stunden Reaktionszeit wurde die Mischung sauer aufgearbeitet. Das einzige entstandene Produkt wurde mit Vakuumflashchromatographie isoliert und gereinigt. Bei dem mit 7 % isolierten Produkt handelte es sich nicht um die erwartete Verbindung **73**, sondern um die in Abbildung 62 dargestellte Verbindung **74**.

Es kam auch in diesem Fall zu einem intramolekularen Ringschluss zwischen der Seitenkette in Position 4 und der Ester-Funktion in der 3-Position des Thiophens, der bereits bei Verbindung **12a** (siehe Kapitel 8.2.3) beobachtet worden war.

Das Chloratom in der 5-Position des Thiophens wurde durch Di-*n*-propylamin substituiert und Phenoxyphenyllessigsäure abgespalten.

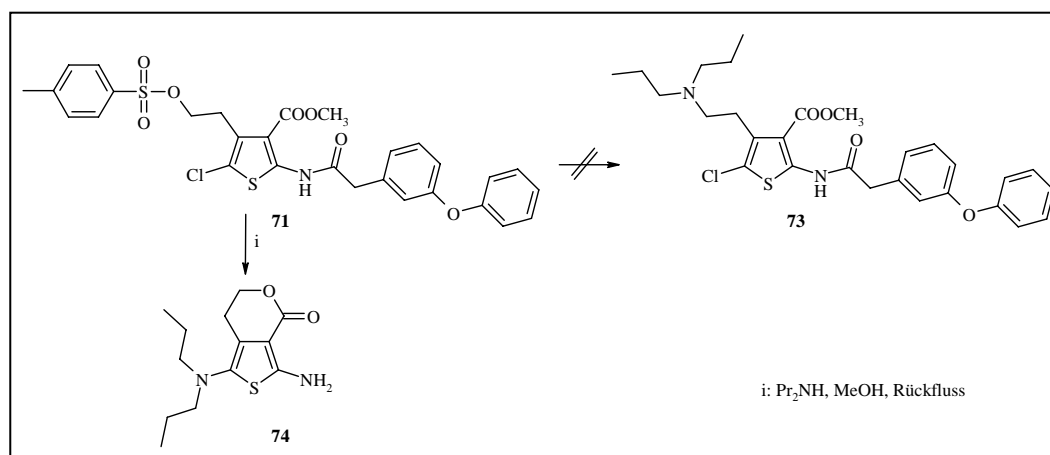


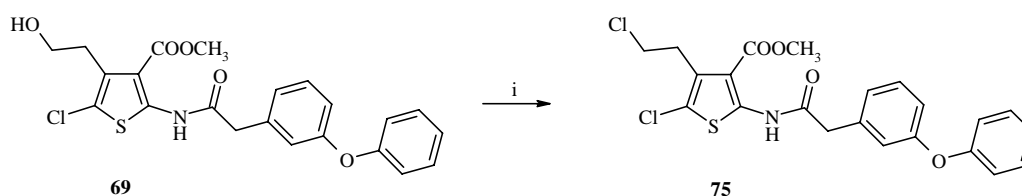
Abbildung 62: *N,N*-Dialkylamin-Tausch

Die Substitution der Tosylat-Gruppe durch Di-*n*-propylamin ist vermutlich sterisch zu stark gehindert. Die Erhöhung der Reaktionstemperatur führt dann nicht zu der erwarteten Substitution, sondern ermöglichte die Cyclisierung zum Lactonring.

Die Substitution wurde auch mit Dimethylamin, das sterisch weniger anspruchsvoll ist, unter gleichen Bedingungen durchgeführt. Bei Raumtemperatur wurde keine Umsetzung beobachtet und die Erhöhung der Reaktionstemperatur führte ebenfalls zur Bildung des Lactonrings.

Aufgrund dieser Erkenntnisse sollte die Tosylat-Gruppe durch eine sterisch weniger anspruchsvolle Abgangsgruppe ersetzt werden. Dabei wurde auf ein Halogenid, das Chlorid, zurückgegriffen. Die Einführung des Chloratoms sollte ebenfalls an Verbindung **69** erfolgen. Dabei wurde die Methode der Redoxkondensation nach Mukaiyama verwendet^[160]. Das Chloratom wurde durch Substitution der Hydroxy-Gruppe des Alkohols in Gegenwart von Triphenylphosphin in das Molekül eingeführt. Als Chloratomdonor wurde Tetrachlorkohlenstoff verwendet.

Verbindung **69** wurde mit einem leichten Überschuss an Tetrachlorkohlenstoff in Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Eine äquivalente Menge Triphenylphosphin, bezogen auf den Tetrachlorkohlenstoff, wurde ebenfalls in Dichlormethan gelöst und langsam zugetropft^[161].



i: Ph₃P, CCl₄, CH₂Cl₂, 0 °C bis RT

Nach einer Reaktionszeit von 36 Stunden und anschließender Vakuumflash-chromatographie wurde das Produkt **75** mit Ausbeuten von 51 % erhalten.

Der Mechanismus der Redoxkondensation nach Mukaiyama ist in Abbildung 63 dargestellt. Zunächst wird aus Triphenylphosphin und Tetrachlorkohlenstoff das oxophile Teilchen (a) generiert. Tetrachlorkohlenstoff wird dabei in ein Trichlorcarbanion (b) überführt. Das Phosphonium-Ion (a) wird anschließend nucleophil vom Sauerstoffatom eines Alkoholmoleküls angegriffen und bildet die Zwischenstufe (c). Nach Abspaltung eines Protons und des Chlorids entsteht (d). Das entstandene Proton reagiert mit dem

Carbanion (b) zu Chloroform. Das anfänglich in der Oxidationsstufe +4 vorliegende Kohlenstoffatom des Tetrachlorkohlenstoffs wird somit zur Oxidationsstufe +2 reduziert.

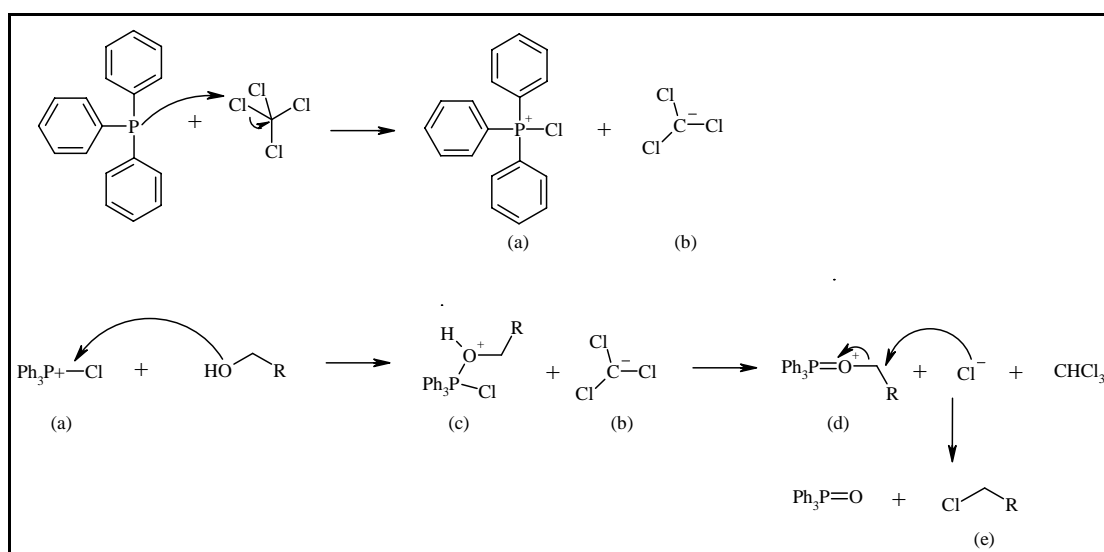


Abbildung 63: Mechanismus der Redoxkondensation nach Mukaiyama

An der Zwischenstufe (d) findet die eigentlich Substitution der OH-Gruppe durch ein Chlorid-Ion statt. Die Hydroxy-Gruppe, die eine schlechte Abgangsgruppe ist, wird nun nicht mehr als Hydroxid abgespalten, sondern wurde vorher zum Triphenylphosphinoxid umgewandelt, das unter Phosphor-Sauerstoff-Doppelbindungsbildung eine gute Abgangsgruppe darstellt. Das Chlorid-Ion greift nucleophil am Kohlenstoffatom an. Unter Austritt des Triphenylphosphins wird die Chlorkohlenwasserstoffverbindung (e) gebildet. Der Phosphor wird während der Reaktion von der Oxidationsstufe +3 zu +5 oxidiert.

Die chlorierte Verbindung **75** wurde ebenfalls mit Di-*n*-propylamin umgesetzt, um Verbindung **73** (Abbildung 62) zu erhalten. Dabei wurde Verbindung **75** mit 4.4 Äquivalenten Di-*n*-propylamin in Methanol gerührt. Bei Raumtemperatur konnte keine Umsetzung beobachtet werden. Die Erhöhung der Reaktionstemperatur führte, wie bei der Verwendung der Tosylat-Gruppe als Abgangsgruppe (Verbindung **71**), nicht zu der erwarteten Verbindung **73**, sondern es erfolgte ebenfalls die intramolekulare Cyclisierung und Substitution des aromatischen Chloratoms. Die daraus resultierende Verbindung **74** (Abbildung 62) wurde allerdings in etwas höheren Ausbeuten von 15 % erhalten als bei Verbindung **71**. Die Verwendung von Dimethylamin führte zu den gleichen Ergebnissen.

Somit ermöglichte auch die Einführung einer sterisch weniger anspruchsvollen Abgangsgruppe nicht die Austauschreaktion mit einem *N,N*-Dialkylamin.

9.2.3 Nachträgliche Alkylierung einer freien Amin-Komponente

Die Synthese der Thieno[2,3-*b*]pyridinone, die in 3-Position eine *N,N*-Dialkylaminoalkyl-Seitenkette tragen, gelang über keine der bisher beschriebenen Synthesewege. Deshalb wurde versucht, diese Funktionalität durch nachträgliche Alkylierung einer freien Amin-Komponente herzustellen. Dafür wurde die BOC-Schutzgruppe der Verbindung **12b** (Abbildung 42) unter Standardbedingungen abgespalten. Der entstandene Feststoff **76** wurde in einem Gemisch von Isopropanol/Diethylether ausgerührt. Anschließend sollten die Alkyl-Gruppen über reduktive Aminierung eingeführt werden.

Zur Einführung von zwei *n*-Propyl-Resten wurde die Verbindung **76** mit drei Äquivalenten Propionaldehyd in Methanol gelöst und unter reduktiven Bedingungen bei einem Druck von drei bar für 24 Stunden bei Raumtemperatur im Autoklaven gerührt^[162]. Anschließend wurde der Palladium-Kohle-Katalysator abfiltriert, die Reaktionsmischung basisch aufgearbeitet und das entstandene Produkt chromatographisch gereinigt.

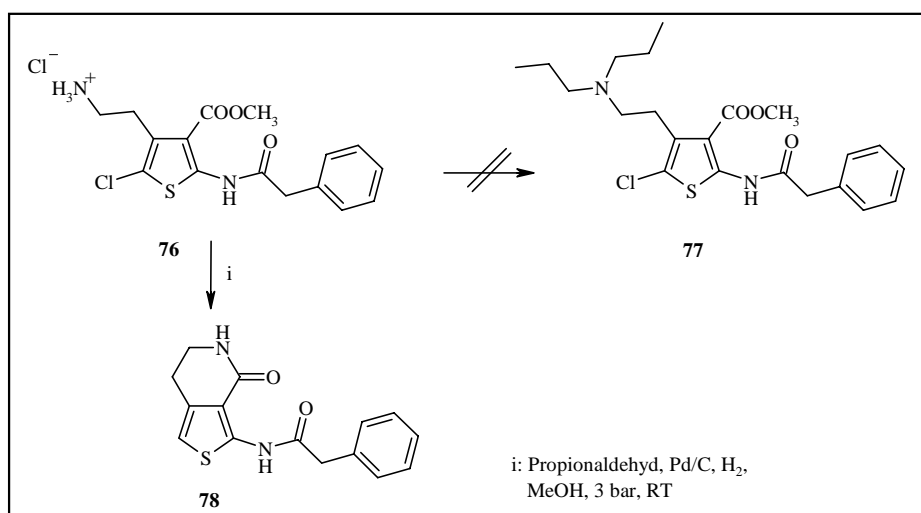


Abbildung 64: Reduktive Aminierung

Dabei handelte es sich nicht um die erwartete am Stickstoff zweifach propylierte Verbindung **77**, sondern um die in Abbildung 64 ebenfalls dargestellte Verbindung **78**, die mit 85 % Ausbeute erhalten wurde.

Neben der bereits mehrfach beobachteten intramolekularen Cyclisierung der Seitenkette in der 4-Position des Thiophens und der Ester-Funktion in Position 3 kam es unter den oben beschriebenen Reaktionsbedingungen noch zur Dehalogenierung des Thiophenrings in der 2-Position. Es konnten keinerlei Alkylierungsprodukte isoliert werden.

Die nachträgliche Alkylierung der freien Amino-Funktion der bereits cyclisierten Verbindung **2** durch reduktive Aminierung führte ebenfalls nicht zu dem gewünschten Thieno[2,3-*b*]pyridinon mit einer *N,N*-Dialkylaminoethyl-Kette an der 3-Position des Bicyclus. Unter den verschiedensten reduktiven Aminierungsbedingungen konnten keine definierten Verbindungen isoliert werden.

Mit den Verbindungen **1** und **2** konnten Thieno[2,3-*b*]pyridinone synthetisiert werden, die eine Aminoethyl-Funktion in der 3-Position aufweisen und somit potentielle Liganden an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors und an Dopamin-Rezeptoren sind. Die Verbindung **22** ist eine weitere Verbindung, die möglicherweise neben Affinität an der Gly_B-B auch Affinität zu Dopamin-Rezeptoren aufweist, da sie wie der D₂-Rezeptor-Agonist Piribedil eine Aminomethyl-Funktion besitzt. Diese befindet sich allerdings nicht in der 3-, sondern der 2-Position des Thieno[2,3-*b*]pyridinons. Es konnte mit der Verbindung **46** eine weitere Substanz hergestellt werden, die Aktivität an der Gly_B-B aufweisen sollte.

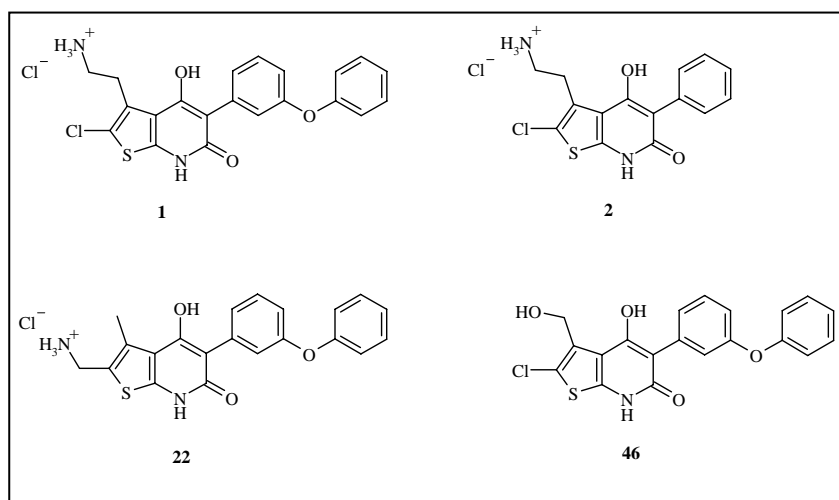


Abbildung 65: Testsubstanzen

Die Verbindungen **1**, **2** und **22** sollten auf Bindungsaffinitäten an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors und an Dopamin-Rezeptoren getestet werden. Die Testung der Bindungsaffinität der Verbindung **46** sollte aufgrund ihres Substitutionsmusters nur an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors erfolgen.

Die pharmakologischen Untersuchungen, die in nachfolgenden Kapiteln ausführlich beschrieben werden, zeigten, dass es durch die Einführung einer freien Aminoethyl-Funktion in 3-Position der Thieno[2,3-*b*]pyridinone zu einem deutlichen Affinitätsverlust an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors kommt.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurden keine weiteren Anstrengungen unternommen eine zielführende Synthese, für Thieno[2,3-*b*]pyridinone mit *N,N*-Dialkylaminoethyl-Substituenten in 3-Position, zu entwickeln.

Pharmakologischer Teil

10 Bindungsstudien

Die Affinitäten der in dieser Arbeit hergestellten Liganden an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors und den Bindungsstellen der Dopamin-Rezeptoren sollten über Bindungsstellenanalysen mit radioaktiv markierten Liganden bestimmt werden. Für die Durchführbarkeit von Bindungsstellenanalysen müssen die vier folgenden Bedingungen erfüllt sein^[163]:

- Reversibilität der Bindung zwischen Rezeptor und radioaktiv markiertem Ligand
- Sättigbarkeit des Rezeptors
- Klare und möglichst lineare Dosis-Abhängigkeit der Ligandenbindung am Rezeptor
- Hohe Spezifität des radioaktiv markierten Liganden

Die Bindungsstellenanalysen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, beinhalteten die Ermittlung der hemmenden Wirkung der zu testenden Substanzen auf die Bindung eines Radioliganden an der Bindungsstelle des entsprechenden Rezeptors. Hierzu wurde die Testsubstanz mit einem radioaktiven Liganden und einer definierten Menge von Gewebe-Homogenat, das den entsprechenden Rezeptor enthielt, inkubiert, bis sich ein Bindungsgleichgewicht eingestellt hatte. Nach Trennung des gebundenen Anteils des radioaktiven Liganden vom ungebundenen Anteil wurde dieser durch geeignete Methoden quantifiziert.

10.1 Theoretische Grundlagen der Bindungsstudien

Die Wechselwirkung eines Liganden L mit einer Bindungsstelle B (Gl. 2) unterliegt dem Massenwirkungsgesetz (Gl. 3).



Die Beschreibung des Gleichgewichts einer Ligand-Rezeptor-Wechselwirkung erfolgt üblicherweise über die Dissoziation-Gleichgewichtskonstante K_D , die häufig auch als Dissoziationskonstante bezeichnet wird.

Die Definition der Dissoziations-Gleichgewichtskonstante lautet wie folgt: (Konzentrationen werden im weiteren Verlauf durch eckige Klammern kenntlich gemacht)

$$\text{Gl. 3} \quad K_D = \frac{([B] \cdot [L])}{[BL]}$$

K_D : Dissoziations-Gleichgewichtskonstante, B: unbesetzte Bindungsstellen, L: freier Ligand, BL: Ligand-Bindungsstellen-Komplex

Durch die Verwendung von Radioliganden sind die Konzentrationen von L und BL messbar, wenn ein geeignetes Verfahren für die Trennung des gebundenen Liganden BL vom ungebundenen Liganden L vorhanden ist. Die Anzahl der freien Bindungsstellen B dagegen ist nicht direkt messbar. Sie steht aber in einem einfachen Zusammenhang mit BL.

$$\text{Gl. 4} \quad [B] = [B_M] - [BL]$$

B_M : maximale Anzahl der Bindungsstellen

Die maximale Anzahl der Bindungsstellen B_M ist davon abhängig, wieviel Gewebematerial im Versuch eingesetzt wird. Durch Einsetzen des obigen Zusammenhangs für [B] in die Gl. 3 und Umformung nach [BL] ergibt sich die Clark'sche Gleichung, eine so genannte Sättigungsfunktion, welche die quantitative Beziehung zwischen [L] und [BL] beschreibt.

$$\text{Gl. 5} \quad [BL] = \frac{[B_M] \cdot [L]}{([L] + K_D)}$$

Formal entspricht diese Gleichung der Michaelis-Menten-Kinetik für eine Enzym-katalysierte Reaktion mit einem Substrat^[164].

10.1.1 Unspezifische Bindung

Ein Problem, das bei der experimentellen Durchführung von Bindungsstudien mit Radioliganden immer auftritt, ist die so genannte unspezifische Bindung. Ein geeigneter Radioligand bindet in niedrigen Konzentrationen sehr spezifisch und selektiv an die zu untersuchende Bindungsstelle. Bei höheren Konzentrationen kommt es allerdings auch zur unspezifischen Bindung an andere Protein- und Gewebestrukturen, die ebenfalls im

Gewebe-Homogenat enthalten sind. Aber auch an nicht-biologische Materialien, wie Reagenzgläser und Mikrotiterplatten, binden einige Radioliganden unspezifisch. Entsprechend wird im Versuch nicht nur der Ligandenanteil, der an die zu untersuchende Bindungsstelle gebunden ist bestimmt, sondern auch der Anteil, der unspezifisch an andere Materialien gebunden ist. Die Summe aus spezifischer und unspezifischer Bindung wird als Gesamtbindung bezeichnet. Um aus der gemessenen Gesamtbindung die spezifische Bindung des Liganden zu bestimmen, muss bei jedem Experiment die unspezifische Bindung ermittelt und von der Gesamtbindung subtrahiert werden. Die unspezifische Bindung ist experimentell relativ einfach durchzuführen und wird in Kapitel 10.2.4 genauer beschrieben.

Die spezifische und unspezifische Ligandbindung unterscheiden sich in wesentlichen Punkten. Die spezifische Bindung ist charakterisiert durch eine hohe Affinität zu den Bindungsstellen. Die unspezifische Bindung dagegen zeichnet sich durch geringe Affinität aus. Somit wird ein zugesetzter Radioligand im Gewebe-Homogenat zunächst die hochaffinen spezifischen Bindungsstellen bis zur Sättigung besetzen und anschließend in verstärktem Maße unspezifisch binden. Dementsprechend muss Gl. 5, die die Bindung des Liganden beschreibt, um den Anteil der unspezifischen Bindung erweitert werden. Größen, die mit tiefgestelltem Suffixen S oder U bezeichnet sind, beschreiben die spezifische (S) oder unspezifische (U) Bindung.

$$\text{Gl. 6} \quad [BL] = [B_S] \frac{[L]}{[L] + K_S} + [B_U] \frac{[L]}{[L] + K_U}$$

Je höher die Konzentration des Radioliganden wird, desto größer wird der Anteil der unspezifischen Bindung. Deshalb sollten Bindungsstellenanalysen immer mit möglichst geringen Radioligandkonzentrationen durchgeführt werden. Mit der Annahme, dass $[L] \ll K_U$ ergibt sich für die Gesamtbindung aus Gl. 6:

$$\text{Gl. 7} \quad [BL] = [B_S] \frac{[L]}{[L] + K_S} + [B_U] \frac{[L]}{K_U}$$

Der Term der spezifischen Bindung entspricht einer Sättigungsfunktion und zeigt bei der Auftragung von $[BL]$ gegen $[L]$ einen asymptotischen Verlauf.

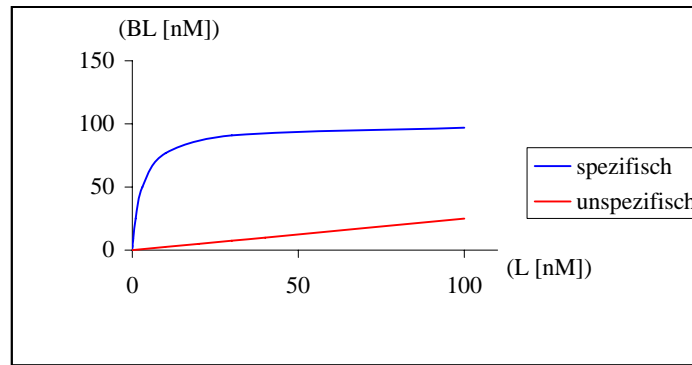


Abbildung 66: Graphische Darstellung der spezifischen und unspezifischen Bindung

Der Term der unspezifischen Bindung dagegen ist linear von der Ligandkonzentration abhängig^[164].

10.1.2 Auswertung von Sättigungs- und Verdrängungsexperimenten

Die Wechselwirkungen einer Testsubstanz mit einer bestimmten Bindungsstelle können auf zwei Arten untersucht werden.

- Radioaktive Markierung der Testsubstanz (Sättigungsexperimente)
- Einfluss der Testsubstanz auf die Bindung eines Radioliganden (Verdrängungsexperimente)

Als Radioliganden sind nur Substanzen mit hohen Affinitäten geeignet. Substanzen mit geringen Affinitäten müssen in hohen Konzentrationen eingesetzt werden und führen zu hohen Anteilen an unspezifischer Bindung. Die Affinitäten neuer Verbindungen sind allerdings unbekannt und es bietet sich die Durchführung von Verdrängungsexperimenten an.

Der Radioligand bindet an der zu untersuchenden Bindungsstelle. Die Zugabe einer Testsubstanz führt idealerweise zu einer Hemmung der Bindung des Radioliganden. Hierbei muss man zwischen der kompetitiven und der nicht-kompetitiven Hemmung unterscheiden. Im ersten Fall bindet die Testsubstanz an derselben Bindungsstelle wie der Radioligand. Die kompetitive Hemmung ist von der Konzentration des Radioliganden abhängig. Bindet die Testsubstanz allerdings an einer anderen Stelle des Rezeptors und löst dadurch eine Konformationsänderung aus, die sich hemmend auf die Bindung des

Radioliganden auswirkt, spricht man von nicht-kompetitiver Hemmung. Diese ist unabhängig von der Radioligandkonzentration^[164].

Sättigungsexperimente werden häufig über den so genannten Scatchard-Plot graphisch und rechnerisch ausgewertet. Dieses Transformationsverfahren wurde 1949 von G. Scatchard^[165] entwickelt und ermöglicht die Linearisierung der experimentell ermittelten Bindungsdaten. Die Scatchard-Gleichung lässt sich aus der Clark'schen Gleichung (Gl. 5) herleiten und ergibt sich zu:

$$\text{Gl. 8} \quad \frac{[BL]}{[L]} = \frac{([B_M] - [BL])}{K_D} = -\frac{1}{K_D} \cdot ([BL] - [B_M])$$

Durch die Auftragung des Quotienten aus spezifisch gebundenem Ligand [BL] zu freiem Ligand [L] als Funktion des spezifisch gebundenen Liganden erhält man den Scatchard-Plot. Homogene Rezeptorpopulationen ohne interagierende Bindungsstellen führen zu einer Geraden mit der Steigung $-1/K_D$, der Abszissenabschnitt liefert die maximale Anzahl der Bindungsstellen $[B_M]$. Der Scatchard-Plot ermöglicht somit die Ermittlung von B_M und der Dissoziationskonstante K_D . Durch Vertauschung der Achsen ergibt sich die so genannte Eadie-Hofstee-Darstellung. Die so erhaltene Gerade weist die Steigung $-K_D$ auf, die maximale Anzahl der Bindungsstellen ergibt sich hierbei als Ordinatenabschnitt^[166].

Bei bekannter Bindungsstellenkonzentration $[B_M]$ können Bindungsdaten auch nach Hill linearisiert werden. Dieses Verfahren bietet eine weitere Möglichkeit, qualitative Eigenschaften einer Rezeptorpopulation zu charakterisieren. Die Hill-Gleichung lautet wie folgt:

$$\text{Gl. 9} \quad \log \frac{[BL]}{[B_M] - [BL]} = n_H \log [L] - n_H \log K_D$$

n_H : Hill-Koeffizient

Die Auftragung von $\log([BL]/([B_M]-[BL]))$ gegen $\log[L]$ führt zu einer Geraden, wobei die Dissoziations-Gleichgewichtskonstante K_D als Abszissenabschnitt abgelesen werden kann. Ein Hill-Koeffizient von $n_H=1$ weist auf eine homogene Rezeptorpopulation ohne Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Bindungsstellen hin. Bei $n_H < 1$ spricht man von negativer Kooperativität, die Bindung eines Moleküls erschwert die Bindung weiterer Moleküle oder die Bindung erfolgt mit unterschiedlichen Affinitäten an verschiedenen

Bindungsstellen. Ist der Hill-Koeffizient $n_H > 1$, liegt positive Kooperativität vor, d. h. die Bindung eines Moleküls erleichtert die Bindung weiterer Moleküle.

In Verdrängungsexperimenten wird ein Radioligand durch ansteigende Konzentrationen einer unmarkierten Substanz von der Bindungsstelle verdrängt. Substanzen, die den Radioliganden von der Bindungsstelle verdrängen, werden im Folgenden als Inhibitoren bezeichnet. Ein Maß für die Affinität eines Inhibitors ist der IC_{50} -Wert; dieser gibt die Konzentration des Inhibitors an, die zur halbmaximalen Hemmung bzw. Verdrängung der spezifischen Bindung des Radioliganden führen. Die Hemmung einer Bindung kann durch folgende Gleichung beschrieben werden, die sich aus der Clark'schen Gleichung (Gl. 5), einer Sättigungsfunktion, ergibt:

$$\text{Gl. 10} \quad [BL] = [BL_0] \frac{IC_{50}}{[I] + IC_{50}}$$

BL_0 : gebundener Radioligand in Abwesenheit eines Inhibitors, IC_{50} : Inhibitorkonzentration bei halbmaximaler Hemmung, I : Inhibitor

Die Stärke eines kompetitiven Inhibitors ist von der Konzentration des Radioliganden abhängig. IC_{50} -Werte müssen daher immer mit der Radioligandenkonzentration angegeben werden, bei der die Bestimmung erfolgte. Die Transformation der obigen Gleichung (Gl. 10) in eine doppelt-logarithmische Darstellung (Gl. 11) ermöglicht die Auswertung des Verdrängungsexperiments über den Hill-Plot.

$$\text{Gl. 11} \quad \log \frac{[BL]}{[BL_0] - [BL]} = \log IC_{50} - \log [I]$$

Die graphische Auftragung von $\log([BL]/([BL_0]-[BL]))$ gegen $\log[I]$ liefert eine Gerade, deren Abszissenabschnitt den IC_{50} -Wert liefert. Dabei sollte die Steigung der Hemmkurve -1 betragen. Im Experiment werden häufig Abweichungen von der Einheitssteigung beobachtet, ausgelöst durch die Phänomene der positiven oder negativen Kooperativität. Diese Abweichungen werden, wie bei Sättigungsexperimenten, durch die Einführung der entsprechenden Hill-Koeffizienten ausgeglichen (Gl. 12).

$$\text{Gl. 12} \quad \log \frac{[BL]}{[BL_0] - [BL]} = n_H \log IC_{50} - n_H \log [I]$$

Eine von der Radioligandkonzentration unabhängige Größe ist die Inhibitionskonstante K_i . Die Cheng-Prusoff-Näherung^[167] (Gl. 13) gibt die Beziehung zwischen dem IC_{50} -Wert und der Inhibitionskonstanten an. Je niedriger die Radioligandkonzentration, desto ähnlicher werden sich die beiden Werte.

$$\text{Gl. 13} \quad K_i = \frac{IC_{50}}{(1 + [L]/K_D)}$$

K_i : Inhibitionskonstante

Die Inhibitionskonstante K_i wird analog zur Dissoziations-Gleichgewichtskonstanten K_D eines Radioliganden über das Massenwirkungsgesetz definiert.

Verdrängungsexperimente werden in der Regel aber über eine Hemmungsfunktion (Gl. 10) ausgewertet. Hierbei muss ebenfalls der Hill-Koeffizient berücksichtigt werden. Dies führt zu folgender Gleichung:

$$\text{Gl. 14} \quad [BL] = [BL_0] \frac{IC_{50}^{n_H}}{[I]^{n_H} + IC_{50}^{n_H}}$$

Die graphische Auswertung erfolgt meist über die Auftragung der Konzentration des Radioligand-Bindungsstellen-Komplex (BL) gegen den Logarithmus der Konzentration des Inhibitors (Abbildung 67). Dies führt zu sigmoiden Kurven, deren Wendepunkt bei 50 % der maximalen Hemmung liegt. Der entsprechende Abszissenwert ist der Logarithmus des IC_{50} -Wertes. Aus dem experimentell ermittelten IC_{50} -Wert kann mittels der Cheng-Prusoff-Näherung (Gl. 13) die Inhibitionskonstante der getesteten Substanz ermittelt werden. Die Radioligandkonzentration (L) ist bekannt und die Dissoziations-Gleichgewichtskonstante des Radioliganden muss unter den gleichen Versuchsbedingungen bestimmt werden. Bei einem etablierten Bindungsstellen-Assay muss diese nicht bei jedem Versuch mitbestimmt werden, sollte aber hin und wieder neu ermittelt werden, um sicher zu gehen, dass die Versuchsbedingungen konstant sind.

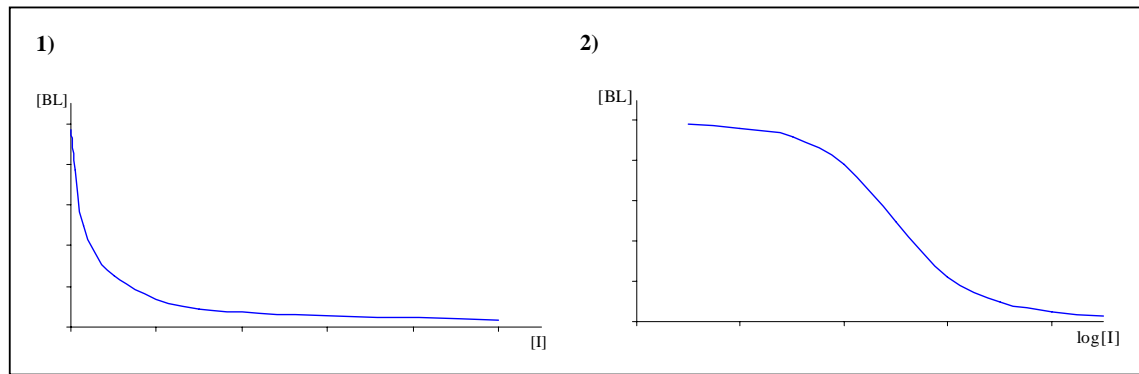


Abbildung 67: Verdrängungskurven: 1) arithmetische Darstellung, 2) halblogarithmische Darstellung

Der Anteil der unspezifischen Bindung und die maximale Anzahl der Bindungsstellen (BM) muss zur korrekten Bestimmung der Affinität des Inhibitors natürlich ebenfalls bestimmt werden. Die graphische und rechnerische Auswertung der Ergebnisse erfolgt in der Regel durch geeignete Computersoftware^[164].

10.2 Praktische Grundlagen der Bindungsstudien

Die Grundvoraussetzung für die analytische Erfassung von Ligand-Bindungsstellen-Wechselwirkungen ist eine ausreichend empfindliche Nachweisteknik. Diese muss auch die Erfassung von sehr geringen Konzentrationen an Ligand-Bindungsstellen-Komplexen ermöglichen. Dies wird durch die Verwendung von radioaktiv markierten Liganden mit hoher spezifischer Aktivität ermöglicht.

Die Bindungsstudien-Assays werden mit Gewebe-Homogenaten durchgeführt, in denen sich der zu untersuchende Rezeptor (Bindungsstelle) findet. Diese Homogenate können relativ einfach aus nativen Geweben oder gezüchteten transfizierten Zellen gewonnen werden.

Die quantitative Messung der Konzentration an Radioligand-Bindungsstellen-Komplexen setzt neben einem markierten hochaffinen Liganden auch ein geeignetes Verfahren zur Trennung von gebundenem und ungebundenem Liganden voraus. Durch die Trennung kommt es allerdings zur Störung des Bindungsgleichgewichts. Um eine Verfälschung der Messwerte zu vermeiden, muss die Trennung möglichst rasch erfolgen. Die am häufigsten verwendeten Verfahren sind hierbei die Filtrations- und die Zentrifugationsmethode.

Im Verdrängungsexperiment wird in Pufferlösung eine gegebene Membrangewebe-Fraktion mit einem Radioliganden und einem Inhibitor in unterschiedlichen Konzentrationen inkubiert. Nach Einstellung eines Bindungsgleichgewichts wird der freie

Anteil des Radioliganden vom gebundenen Anteil durch eine geeignete Methode getrennt und der gebundene Anteil über Radioaktivitätsmessungen bestimmt. Die Bedingungen für die Einstellung des Bindungsgleichgewichts wie pH-Wert, Temperatur, osmotischer Druck, Membranmenge, Zeitraum der Inkubation und Anzahl der Waschvorgänge müssen in Vorexperimenten optimiert werden^[163]. Um die hemmende Wirkung einer Testsubstanz zu ermitteln, müssen in den Experimenten in der Regel die maximale Anzahl der spezifischen Bindungsstellen (B_M), die Dissoziations-Gleichgewichtskonstante (K_D) des Radioliganden und immer die unspezifische Bindung des Radioliganden mitbestimmt werden. Die Experimente werden in der Regel als Duplicates oder Triplicates durchgeführt^[164].

10.2.1 Radioliganden

Das am häufigsten verwendete Radionuklid für die Markierung von Liganden ist Tritium (^3H). Tritium ist ein so genannter β -Strahler mit einer Halbwertszeit von 12.4 Jahren. Der Einbau von Tritiumatomen führt im Allgemeinen nicht zu Veränderungen der chemischen und pharmakologischen Eigenschaften des Liganden. Die spezifische Aktivität eines Radioliganden wird üblicherweise in Ci/mmol angegeben. Ist im Durchschnitt ein Tritiumatom pro Molekül vorhanden, weist der Radioligand eine spezifische Aktivität von etwa 28.9 Ci/mmol auf.

Als Radioliganden können die endogenen Liganden oder hochaffine Agonisten und Antagonisten der entsprechenden Bindungsstellen verwendet werden. Untersuchungen an Rezeptoren, die verschiedene Subtypen aufweisen, sollten mit exogenen Liganden durchgeführt werden, wenn neben der Affinität der Testsubstanz auch die Selektivität bestimmt werden soll. Die endogenen Liganden sind hierfür nicht geeignet, da diese an allen Subtypen eines Rezeptors binden.

Nach der Trennung von gebundenem und ungebundenem Radioligand wird der gebundene Anteil durch Radioaktivitätsmessungen bestimmt. Die β -Strahlung der Tritiumatome kann aufgrund ihrer geringen Reichweite von 6 Millimetern nicht direkt erfasst werden. Dieses Problem wird durch die Zugabe eines Szintillators beseitigt. Die π -Elektronen der konjugierten Doppelbindungen des Szintillators werden durch den Tritiumzerfall angeregt. Die aufgenommene Energie wird anschließend in Form von Lichtblitzen abgegeben, die vom Zählgerät registriert werden können. Die Proben werden mittels eines Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometers ausgezählt^[163]. Das Gerät registriert hierbei die radioaktiven

Zerfallsereignisse innerhalb eines Zeitintervalls, die als *counts per minute* (cpm) angegeben werden. Unter Berücksichtigung der Zählausbeute des Gerätes wird über die Software des Gerätes aus den cpm die eigentlich in der Probe vorhandene Radioaktivität berechnet. Die übliche Aktivitätseinheit für Zählgeräte sind *decays per minute* (dpm), Zerfälle pro Minute, die aus den cpm berechnet werden. Die dpm können unter Berücksichtigung der jeweiligen spezifischen Aktivität des Radioliganden, die vom Hersteller angegeben werden, in molare Einheiten umgerechnet werden^[164].

10.2.2 Gewebe-Homogenate

Die Bindungsassays werden mit feindispersen Suspensionen von rezeptortragenden Zellmembranpartikeln durchgeführt. Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Bindungsstudien wurde mit nativen Geweben gearbeitet. Hierbei werden Gewebestücke aus Hirnbereichen von Rattenhirnen entnommen, die den entsprechenden Rezeptor in hohen Dichten exprimieren. Das Gewebestück wird anschließend mit einem Homogenisator oder Ultraturrax in einem hypotonen Medium zerkleinert und homogenisiert. Dabei kommt es zur vollständigen Desintegration der Zellen unter Freisetzung der Zellorganellen. Das hypotone Medium erleichtert die vollständige Desintegration aufgrund des osmotischen Schocks, den die Zellen erleiden. Anschließend wird zentrifugiert, der Überstand vom Bodensatz abgetrennt und erneut zentrifugiert. Um die so erhaltenen Membranpartikel von niedermolekularen Substanzen, wie Glutaminsäure, Glycin, Peptiden und Fettsäuren zu befreien, wird das Homogenat mehrfach in Puffer suspendiert und erneut zentrifugiert. Bindungsexperimente an Glutamat-Rezeptoren erfordern eine besonders gründliche Reinigung der Membranen, da natives Gewebe große Mengen an freier Glutaminsäure aufweist, die zu Verfälschung der Messwerte führen. Dabei wird ein Detergens wie Triton X-100 (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenylpolyethylenglykol) zum Waschen der Membranen verwendet. Die erhaltenen Membranpräparationen können bei tiefen Temperaturen (-80 °C) über mehrere Monate gelagert werden. Vor dem Einsatz in einem Bindungsexperiment müssen die aufgetauten Membranen noch einmal gewaschen werden^[164].

10.2.3 Trennmethode

10.2.3.1 Zentrifugation

Die Zentrifugationsmethode ist die Methode der Wahl für hydrophile Radioliganden mit relativ schwacher Affinität. Diese Methode wird im Allgemeinen nur eingesetzt, wenn die Filtrationsmethode nicht verwendet werden kann, aufgrund zu schwacher Bindung des Radioliganden oder zu starker unspezifischer Bindung des Radioliganden an Glasfiltern. Die Zentrifugationsmethode ist nicht automatisierbar. Die Versuche müssen in Plastikröhrchen durchgeführt werden, die hohe Schwerefelder tolerieren und anschließend direkt im Szintillationszähler gezählt werden können.

Nachdem alle Komponenten des Assays zusammen pipettiert worden sind, wird bei entsprechender Temperatur über einen bestimmten Zeitraum inkubiert. Anschließend werden die Röhrchen in einem geeigneten Rotorenkopf zentrifugiert. Der Überstand wird mittels einer Membranpumpe abgesaugt und das verbliebene Membranpellet mehrfach mit Pufferlösung gewaschen, die ebenfalls abgesaugt wird. Zur quantitativen Erfassung des Radioliganden muss dieser aus dem Membranpellet freigesetzt werden. Schwach gebundene Liganden können durch kurze Inkubation mit Wasser freigesetzt werden. Nach Zugabe eines wasserlöslichen Szintillators kann der Versuch quantitativ ausgewertet werden. Stark gebundene Radioliganden verlangen den Einsatz von so genannten *tissue solubilizern* (starke organische Basen in Methanol)^[164].

10.2.3.2 Filtration

Die Filtrationsmethode ist das am häufigsten eingesetzte Verfahren für hochaffine Radioliganden ($K_D < 10$ nM). Die Versuche können in beliebigen Gefäßen durchgeführt werden. Nachdem alle Komponenten des Assays zusammen gegeben worden sind, wird bei entsprechender Temperatur über einen bestimmten Zeitraum inkubiert. Anschließend werden die Röhrchen mit Pufferlösung aufgefüllt und die Membranen über eine geeignete Vorrichtung abfiltriert. Die Filtration erfolgt über Glasfilter mit verschiedenen Porengrößen. Diese Filter weisen nur eine geringe Neigung für die Bindung von lipophilen Liganden auf. Durch die Vorbehandlung der Filter mit verdünnter Polyethylenimin-Lösung kann die unspezifische Bindung basischer Radioliganden reduziert werden. Die Röhrchen und die auf den Filtern befindlichen Membranen werden mehrfach mit Puffer-

lösung gewaschen. Die Filter werden in Szintillationsröhrchen überführt und nach der Zugabe von Szintillator unter Erwärmung und Schütteln zur Freisetzung des Radioliganden für einige Zeit inkubiert. Die quantitative Auswertung erfolgt mit Hilfe eines Szintillationszählers. Ein großer Vorteil dieser Methode ist ihre Automatisierbarkeit. Dabei werden automatische Filtrieranlagen verwendet, so genannte *Harvester*^[164].

10.2.4 Bestimmung der unspezifischen Bindung

Das Phänomen der unspezifischen Bindung, das immer bei der Durchführung von Bindungsexperimenten auftritt, wurde bereits in Kapitel 10.1.1 beschrieben. Experimentell lässt sich der Anteil der unspezifischen Bindung des Radioliganden zur Gesamtbindung relativ einfach über Sättigungsexperimente bestimmen und muss in jedem Experiment, unabhängig davon ob es sich um Sättigungs- oder Verdrängungsexperimente handelt, mitbestimmt werden. Dabei wird die Konzentration der Radioligand-Bindungsstellen-Komplexe in Gegenwart eines mindestens 100-fachen Überschusses an kaltem Radioligand oder einer anderen nicht-markierten Substanz mit hoher Affinität zur untersuchten Bindungsstelle bestimmt. Der große Überschuss der nicht-markierten Substanz führt zur nahezu vollständigen Verdrängung des Radioliganden von der spezifischen Bindungsstelle, nicht aber von den unspezifischen Bindungsstellen. Die dann gemessene Konzentration an gebundenem Radioliganden entspricht praktisch ausschließlich dem Anteil der unspezifischen Bindung^[164].

10.2.5 Bestimmung von B_M und K_D

Die Bestimmung der maximalen Anzahl der spezifischen Bindungsstellen (B_M) und der Dissoziations-Gleichgewichtskonstante des Radioliganden (K_D) erfolgt über Sättigungsexperimente. Dabei wird der Radioligand über einen weiten Konzentrationsbereich mit aliquoten Teilen desselben Gewebe-Homogenates inkubiert. Nach der Trennung von gebundenem und ungebundenem Radioligand und Messung der Radioaktivität kann der Versuch ausgewertet werden. Nach Umrechnung der Daten auf molare Einheiten werden diese über einen Scatchard-Plot linearisiert. Nach Korrektur um den Anteil der unspezifischen Bindung ergibt sich B_M durch Extrapolation des Graphen auf die Abszisse. Die Steigung der Geraden entspricht dem negativen reziproken Wert der Gleichgewichtskonstanten K_D ^[163]. Die Linearisierung kann auch über die Eadie-Hofstee-Darstellung

erfolgen. Dabei ergibt sich B_M aus dem Ordinatenabschnitt und die Steigung der Geraden entspricht dem negativen Wert von K_D ^[164].

Beide Darstellung führen nur dann zu einer Geraden, wenn der Radioligand nur mit einer homogenen Rezeptorpopulation interagiert. Führen die Daten nicht zu einer linearen Darstellung, müssen die Experimente durch Kurvenanpassung mittels Computerprogrammen ausgewertet werden. Neben den Phänomenen der positiven und negativen Kooperativität kann auch eine Verarmung an Radioligand oder die Bindung des Radioliganden an verschiedenen Populationen von Bindungsstellen für die nicht-Linearität der Daten verantwortlich sein^[164].

10.2.6 Bestimmung von IC_{50} - und K_i -Werten

Eine Testsubstanz, deren Potenzen nicht vorausgesagt werden kann, wird zunächst bei zwei relativ hohen, weit auseinander liegenden Konzentrationen, wie 1 und 100 μM , in einem Verdrängungsexperiment getestet. Hemmt keine der beiden Konzentrationen die Bindung des Radioliganden, so muss die Substanz als inaktiv bezeichnet werden. Wird eine Hemmung beobachtet, müssen weitere Experimente über einen weiten Konzentrationsbereich durchgeführt werden, um den IC_{50} -Wert zu bestimmen^[164]. Nach Durchführung des Experiments, der Trennung des ungebundenen Anteils vom gebundenen Anteil des Radioliganden und der Messung der Radioaktivität erfolgt die Bestimmung des IC_{50} -wertes wie in Kapitel 10.1.2 beschrieben. Der so erhaltene IC_{50} -Wert stellt ein direktes Maß für die Affinität des Inhibitors zur Bindungsstelle dar, immer bezogen auf die eingesetzte Radioligandkonzentration. Über die Cheng-Prusoff-Näherung (Gl. 13) kann der konzentrationsabhängige IC_{50} -Wert in die konzentrationsunabhängige Inhibitionskonstante K_i umgerechnet werden^[163].

10.3 Durchführung und Ergebnisse der Bindungsstudien

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Bindungsstellenanalysen wurden mit bereits etablierten Bindungsassays durchgeführt. Es war daher nicht mehr nötig, Vorexperimente zur Optimierung der Einstellung des Bindungsgleichgewichtes durchzuführen. Die verwendeten Radiochemikalien wurden von NEN Life Science Products und Research Biochemicals International (RBI) bezogen. Alle wässrigen Lösungen wurden mit Milli-Q

Wasser angesetzt. Zur Auswertung der Ergebnisse wurde das GraphPad Prism™ Programm (Version 3.02) verwendet.

10.3.1 Bestimmung der Affinitäten zur Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors

Die Rezeptorbindungsuntersuchungen wurden mit Rattenhirnmembranpräparationen aus dem Hippocampus und cerebralem Cortex männlicher Wistar-Ratten (4-7 Monate) durchgeführt. Die Hirnteile wurden mit einem Glas/Teflon Potter-Homogenisator in kaltem 50 mM TRIS-Acetat Puffer (pH 7.0) homogenisiert. Nach Zentrifugation (10 min, 4 °C, 7500 g) wurde der Überstand abgetrennt und dieser erneut zentrifugiert (10 min, 4 °C, 35 000 g). Anschließend wurde das Membran-Pellet zum Waschen viermal resuspendiert und immer wieder zentrifugiert. Während des zweiten Waschschrilles wurden die Membranen zusätzlich mit 0.02 % Triton X-100 Lösung versetzt und für 10 min bei 37 °C inkubiert. Nach erneuter Suspension in TRIS-Acetat Puffer wurden Aliquote der Membransuspension bei –80 °C gelagert und erst kurz vor Durchführung des Assays wieder aufgetaut. Vor der Verwendung wurden die Membranen noch zweimal mit TRIS-Acetat Puffer (pH 7.6) gewaschen.

Als Radioligand wurde [³H] Glycin (spezifische Aktivität 50 Ci/mmol), der endogene Agonist der Bindungsstelle, verwendet. Die unspezifische Bindung wurde mit D-Serin (100 µM) bestimmt. D-Serin ist in einigen Hirnteilen der endogene Ligand der Glycin-Bindungsstelle und besitzt höhere Affinität als Glycin selbst.

Als Problem bei [³H] Glycin-Bindungsassays erweist sich immer, dass auch in gründlich gereinigten Membranen und an den verwendeten Materialien Glycin vorhanden ist. Man hat somit bei jedem Experiment einen Glycin-Hintergrund. Deshalb wurde in jedem Experiment, um einen Vergleich zu ermöglichen, ebenfalls kaltes Glycin in vier verschiedenen Konzentrationen getestet.

Als Trennmethode wurde die Zentrifugation verwendet, da die Bindung des [³H]Glycin zur Bindungsstelle zu schwach ist, um die Filtrationsmethode zu verwenden.

Die Experimente wurden jeweils in 48 Biovials durchgeführt, die hohe Schwerefelder tolerieren und zur Zählung im Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometer geeignet sind.

Alle Bestimmungen wurden als zweifach Bestimmungen durchgeführt. Bei den Verdrängungsexperimenten wurden fünf Konzentrationen der Testsubstanzen eingesetzt. Von den Testsubstanzen wurden 1 mM Stocklösungen in 50 mM TRIS-Acetat Puffer

(pH 7.0) hergestellt. Schwer löslichen Substanzen wurden bis zu 10 % DMSO zugesetzt. Die Verdünnungsreihen wurden mit 50 mM TRIS-Acetat Puffer (pH 7.6) hergestellt. Die Membranen (50 mg) wurden in 25 ml TRIS-Acetat Puffer (pH 7.6) suspendiert und mit 10 μ M Glutaminsäure versetzt. Der Zusatz von Glutaminsäure steigert die Affinität von Glycin zu seiner Bindungsstelle. Die Bindungsassays wurden in 50 mM TRIS-Acetat Puffer (pH 7.6) durchgeführt.

Der Radioligand [3 H]Glycin (10 nM) wurde mit 1 mg Membran/Vial und den Inhibitoren in verschiedenen Konzentrationen bei 4 °C für 30 Minuten inkubiert.

Anschließend wurden die Biovials zentrifugiert (15 min, 4 °C, 18 000 g) und zweimal mit 2.5 ml eisgekühltem Waschpuffer (20 mM TRIS-Acetat Puffer mit 10 mM Magnesiumacetat) gewaschen. Der Zusatz von Magnesiumionen verringert die Dissoziationsgeschwindigkeit des Glycins vom Rezeptor, ebenso wie die tiefen Temperaturen. Zur Freisetzung des Radioliganden wurden die Membranen mit je 100 μ l Wasser für 20 Minuten bei 65 °C inkubiert. Anschließend wurden je 2 ml wasserlöslicher Szintillator (Ultima Gold) zugegeben und die Radioaktivität der Proben mittels eines Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometers bestimmt. Die Dissoziations-Gleichgewichtskonstante des Radioliganden [3 H]Glycin wurde zu $K_D = 40$ nM bestimmt.

Neben den in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen **1**, **2**, **22** und **46** (Abbildung 65) wurden noch zwei in der Arbeitsgruppe synthetisierte Verbindungen als Referenzsubstanzen getestet.

Beide Verbindungen weisen in der Gruppe der Thieno[2,3-*b*]pyridinone die höchsten Affinitäten für die Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors auf. Verbindung **XVI**^[61] weist mit dem Ethyl-Rest in Position 3 die optimale Kettenlänge für die lipophile Bindungstasche auf.

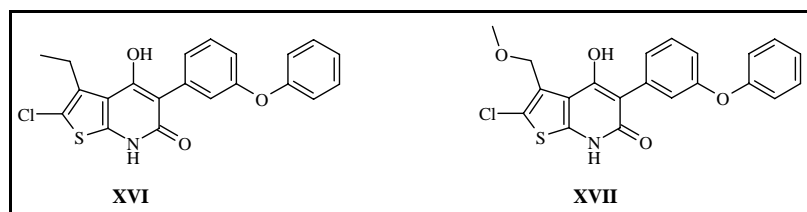
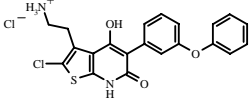
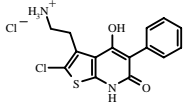
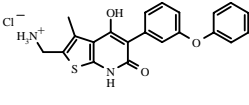
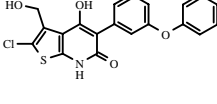
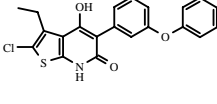
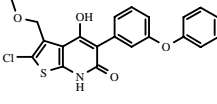


Abbildung 68: Referenzsubstanzen **XVI** und **XVII**

Verbindung **XVII**^[62] sollte als Vergleichssubstanz für Verbindung **46** dienen, die statt der Ether-Funktion in Position 3 die freie Hydroxy-Gruppe trägt. Die Substanzen **1**, **2** und **22**

konnten nur bis zu Konzentrationen von 100 μM eingesetzt werden, da es sonst zu Ausfällungen im Assay kam.

Tabelle 2: Bindungsdaten an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors

Nr.	Struktur	$K_i \pm S_a$ (n)
1		16.50 $\mu\text{M} \pm 5.30$ (3)
2		4.55 μM , 5.35 μM
22		1.98 $\mu\text{M} \pm 1.12$ (4)
46		69.00 nM ± 48.00 (5)
XVI		1.11 nM ± 0.24 (5)
XVII		1.60 nM ± 0.97 (7)

n: Anzahl der Messungen
Sa: Standardabweichung

10.3.2 Bestimmung der Affinitäten an Dopamin-Rezeptoren

Dopamin-Rezeptoren können als G-Protein-gekoppelte Rezeptoren in einem *high affinity state* (Rezeptor und G-Protein sind assoziiert) und einem *low affinity state* (Rezeptor und G-Protein sind dissoziiert) vorliegen. Agonisten besitzen an Rezeptoren im *low affinity state* deutlich geringere Affinitäten als wenn diese im *high affinity state* vorliegen. Die Affinitäten von Antagonisten ändern sich nur geringfügig. G-Protein gekoppelte Rezeptoren werden durch die Gegenwart von Guanosin triphosphat oder Natriumionen in den *low affinity state* überführt. Unter physiologischen Bedingungen befinden sich die meisten Rezeptoren im *low affinity state*, da in intakten Zellen immer Guanosin triphosphat vorhanden ist. Bindungsstudien an Membranpräparationen sollten

daher auch mit Rezeptoren im *low affinity state* durchgeführt werden^[168]. Dies wurde durch die Zugabe von Natriumchlorid-Lösung bei den Experimenten erreicht.

Die Bindungsstellenanalysen an Dopamin-Rezeptoren wurden mit Rattenhirnmembranpräparationen aus dem Striatum männlicher Wistar-Ratten (4-7 Monate) durchgeführt. Die Präparation des Gewebe-Homogenats erfolgte wie in Kapitel 10.3.1 bereits beschreiben. Lediglich der Reinigungsschritt, der die Inkubation mit Triton X-100 beinhaltete, wurde durch 20 min Inkubation in 50 mM TRIS-Acetat Puffer (pH 7.0) bei 37 °C ersetzt. Das Gewebe-Homogenat wurde in TRIS-Acetat Puffer (pH 7.0) suspendiert und in geeigneten Aliquoten bei -80 °C gelagert und erst kurz vor Durchführung des Assays aufgetaut. Vor der Verwendung wurden die Membranen noch zweimal mit TRIS-Acetat Puffer (pH 7.0) gewaschen.

Als Radioligand wurde [³H]Racloprid (spezifische Aktivität 80 Ci/mmol), ein D₂-selektiver Antagonist, verwendet. Racloprid (Abbildung 22) gehört wie Sulpirid zur Strukturklasse der Benzamide. Trotz hoher Affinität und Selektivität besitzt die Substanz nur ein geringes klinisches Potential. Die Verwendung eines D₂-selektiven Liganden ermöglichte nur die Bestimmung der Affinitäten zu D₂-ähnlichen Rezeptoren.

Die unspezifische Bindung wurde mit unmarkiertem Racloprid bestimmt (100 nM).

Die Trennung von gebundenem und ungebundenem Radioliganden erfolgte mittels der Filtrationsmethode.

Die Experimente wurden jeweils in 48 Reagenzgläsern durchgeführt, die Zählung im Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometer erfolgte in so genannten Minivials.

Alle Bestimmungen wurden als dreifach Bestimmungen durchgeführt. Die Verdrängungsexperimente wurden mit vier Konzentrationen der Testsubstanzen durchgeführt. Die Verdünnungsreihen wurden mit 50 mM TRIS-Acetat Puffer (pH 7.0) aus den 1 mM Stocklösungen der Testsubstanzen hergestellt. Die Bindungsassays wurden in 50 mM TRIS-Acetat Puffer (pH 7.0) durchgeführt.

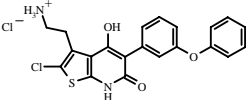
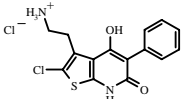
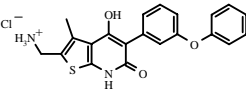
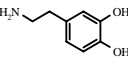
Der Radioligand [³H]Racloprid (1 nM) wurde mit 1 mg Membran/Reagenzglas, 100 mM Natriumchlorid und den Inhibitoren in verschiedenen Konzentrationen bei Raumtemperatur für eine Stunde inkubiert.

Anschließend wurden die Proben über einen 48-Proben *Zell-Harvester* unter leichtem Vakuum filtriert. Zuvor wurden die verwendeten Filter für 30 Minuten in 0.03 % Polyethylenimin-Lösung eingeweicht. Die abfiltrierten Membranen wurden zweimal mit 5 ml Waschpuffer (20 mM TRIS-Acetat Puffer) gewaschen. Die Filter der einzelnen Proben wurden in Minivials überführt. Zur Freisetzung des Radioliganden wurden je

2.5 ml Szintillator auf Toluol-Basis (Ultima Gold) zugegeben und für 30 Minuten unter Schütteln bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde die Radioaktivität der Proben mittels Flüssigkeits-Szintillations-Spektrometrie bestimmt. Die Dissoziations-Gleichgewichtskonstante des Radioliganden [^3H]Racloprid wurde zu $K_D = 0.8 \text{ nM}$ bestimmt.

Neben den in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen **1**, **2** und **22** (Abbildung 65) wurde auch Dopamin **II** (Abbildung 23) als Referenzsubstanz getestet. Die Substanzen **1**, **2** und **22** konnten nur bis zu Konzentrationen von $100 \mu\text{M}$ eingesetzt werden, da es sonst zu Ausfällungen im Assay kam.

Tabelle 3: Bindungsdaten an den Bindungsstellen der D_2 -ähnlichen Rezeptoren

Nr.	Struktur	K_i
1		$> 12 \mu\text{M}$
2		$> 4 \mu\text{M}$
22		$> 40 \mu\text{M}$
II		$0.92 \mu\text{M}$

Zusammenfassung und Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnten Verbindungen, die Strukturmerkmale von NMDA-Rezeptor-Antagonisten und Dopamin-Rezeptor-Agonisten beinhalten, synthetisiert und charakterisiert werden.

Durch pharmakologische Bindungsstudien wurden die Verbindungen **1**, **2** und **22** bezüglich Ihrer Affinität an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors und an Dopamin-Rezeptoren untersucht (Tabelle 2, Tabelle 3).

Es handelte sich dabei um Hybrid-Moleküle vom überlappenden Typ (Abbildung 4). Als Leitstrukturen dienten Thienopyridinone, die bereits als Glycin-Bindungsstellen-Antagonisten etabliert waren. In diese Strukturen wurden Funktionalitäten von Dopamin-Rezeptor-Agonisten integriert. Verbindung **1** und **2** enthalten die Aminoethyl-Funktion des endogenen Agonisten Dopamin und Verbindung **22** die Aminomethyl-Funktion des D₂-Agonisten Piribedil (Abbildung 32).

Die Affinitäten an der Glycin-Bindungsstelle wurden über Verdrängungsexperimente mit Tritium-markiertem Glycin und die Affinitäten an Dopamin-Rezeptoren über Verdrängungsexperimente mit Tritium-markiertem Racloprid (D₂-selektiv) experimentell ermittelt.

Die Verbindungen **1**, **2** und **22** weisen Affinitäten im mikromolaren Bereich zur Glycin-Bindungsstelle auf. Allerdings zeigen Verbindungen der gleichen Verbindungsklasse mit sterisch vergleichbaren Substituenten in der 3- oder 2-Position des Thienopyridinon-Gerüsts deutlich bessere Affinitäten (niedriger nanomolarer Bereich auf). Dies lässt den Schluss zu, dass der Affinitätsverlust auf ungünstige elektrostatische Wechselwirkungen des geladenen Substituenten (Aminofunktion liegt bei pH 7.0 protoniert vor) des Liganden mit dem Rezeptorprotein zurückzuführen sind.

Dies zeigt sich auch bei Verbindung **46**, die mit einem K_i-Wert von 69 nM (Tabelle 2) zwar eine recht hohe Affinität zur Glycin-Bindungsstelle aufweist, aber im Vergleich zu Verbindung **XVII** mit einem K_i-Wert von 1.6 nM deutlich an Affinität verliert. Verbindung **46** trägt in Position 3 des Thienopyridinon-Gerüsts eine hydrophile Methylhydroxy-Funktion im Vergleich zur Methylmethoxy-Gruppe der Verbindung **XVII**.

Die Affinitäten der Verbindungen **1**, **2** und **22** an Dopamin-Rezeptoren sind unbefriedigend. Verbindung **2**, die im Vergleich zu Verbindung **1** einen verkürzten

Substituenten in der 5-Position trägt, weist tendenziell etwas bessere K_i -Werte im mikromolaren Bereich auf als Verbindung **1**. Verbindung **22** zeigt nahezu keine Affinität zu Dopamin-Rezeptoren.

Hybrid-Moleküle vom überlappenden Typ, die neben der Thienopyridinon-Struktur auch Strukturmerkmale des Dopamin-Rezeptor-Agonisten Ropinirol enthalten, konnten trotz verschiedenster Syntheseansätze im Rahmen dieser Arbeit synthetisch nicht zugänglich gemacht werden. Weitere Anstrengungen wurden aufgrund des bereits deutlichen Affinitätsverlusts der Verbindungen **1** und **2** mit der freien Amino-Funktion nicht unternommen.

Im Rahmen der synthetischen Arbeiten konnte Methode (4) der Gewalt-Reaktion bezüglich Ausbeuten und Anzahl der Nebenprodukte optimiert werden (siehe Kapitel 9.2.1.1).

Mit Verbindung **46** konnte ein weiterer Ligand der Thienopyridinon-Reihe mit Affinitäten zur Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors im nanomolaren Bereich synthetisiert werden.

Hybrid-Moleküle vom überlappenden Typ führten zu Verbindungen mit dualen Affinitäten an NMDA- und an Dopamin-Rezeptoren. Allerdings wurden für beide Rezeptortypen nur Affinitäten im mikromolaren Bereich erzielt, wobei deutlich bessere Affinitäten für den NMDA-Rezeptor resultierten. Dies ist sicherlich auf die gewählten Ausgangsstrukturen der Thienopyridinone zurückzuführen, die bereits als Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors etabliert waren.

Zugang zu dual affinen Verbindungen mit Affinitäten im nanomolaren Bereich lassen sich möglicherweise über Hybrid-Moleküle vom verbundenen Typ realisieren. Die Verknüpfung von Thienopyridinonen mit Dopamin-Rezeptor-Agonisten könnte über einen Spacer in der 5-Position erfolgen. Der Dopamin-Rezeptor-Agonist befände sich dann in der *bulk tolerance* Region der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors, die auch sterisch anspruchsvolle Substituenten toleriert. Auswirkungen auf die Affinitäten zu den beiden Rezeptor-Typen lassen sich allerdings, wie die vorliegende Arbeit zeigt, nicht eindeutig vorhersagen.

Experimenteller Teil

11 Allgemeine Angaben

Dünnschichtchromatographie (DC): DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Firma Merck KgaA), Schichtdicke 0.2 mm. Die Chromatogramme wurden durch UV-Licht, durch Einwirken von Ninhydrin-Lösung oder Molybdato-phosphorsäure-Lösung sichtbar gemacht.

Vakuumflashchromatographie (VFC): Kieselgel 60 (Firma Merck KgaA), Korngröße 0.04-0.063 mm; Verhältnis Substanz/Kieselgel: 1/20.

Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (Firma Merck KgaA), Korngröße 0.04-0.063 mm; Verhältnis Substanz/Kieselgel: 1/50.

Kernresonanzspektroskopie (NMR): 300 MHz ¹H-NMR-Spektren wurden an einem Bruker AC 300 und 50 MHz ¹³C-NMR-Spektren an einem Bruker AC 200 aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen (δ -Werte) wurden in parts per million (ppm), Kopplungen in Hz angegeben. Folgenden Abkürzungen stehen für die Feinstrukturen der Protonensignale: s: Singulett; bs: breites Singulett, d: Dublett, dd: Dublett von Dublett, t: Triplett, q: Quartett, m: Multiplett. Die Aufnahme aller Spektren erfolgte bei Raumtemperatur.

Interne Standards	¹ H-NMR (ppm)	¹³ C-NMR (ppm)
CDCl ₃	7.26	77.2
DMSO-d ₆	2.50	39.5

Elementaranalysen: Die Messungen wurden am Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt durchgeführt (CHN-Rapid; Firma Heraeus); Probenvorbereitung: zwölfstündiges Trocknen über Phosphorpentoxid im Hochvakuum bei 40 °C. Die Abweichungen von den theoretischen Werten lagen im Bereich von ± 0.4 %.

Massenspektroskopie (MS): Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte am Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt.

ESI:

Elektrosprayionisationsmassenspektrometer (Fisons Instruments VG Platform II)

MALDI-TOF:

Matrix-Assistent-Laser-Desorption-Ionisations-Time-Of-Flight-Massenspektrometer
(Fison Instruments)

Schmelzpunkte (Schmp.): Heitzischmikroskop nach Kofler (Firma Bock), unkorrigiert.

Lösungsmittel und Reagenzien:

Aceton: Destillation über Phosphorpentoxid

Benzol: Destillation über Natrium

Dichlormethan: Destillation über Phosphorpentoxid

Chloroform: Destillation über Phosphorpentoxid

Cyclohexan: Destillation über Calciumchlorid

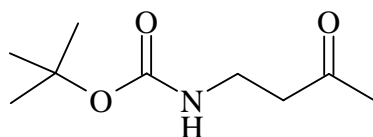
Methanol: Destillation über Magnesium

Tetrahydrofuran: Vortrocknung über KOH, Destillation über Natrium

Petrolether (40-60) wurde vor Verwendung destilliert. Andere Lösungsmittel und Reagenzien wurden in der für die organische Synthese handelsüblichen Qualität eingesetzt.

12 Chemische Synthesen

N-(3-Oxobutyl)carbamidsäure-*tert*-butylester **4**



4

Durchführung:

Eine Lösung von 8.83 g (40.48 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat und 16.94 ml (121.44 mmol) Triethylamin wurde in 70 ml abs. Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. 5.00 g (40.48 mmol) 4-Aminobutan-2-onhydrochlorid wurde in 20 ml abs. DMSO gelöst und unter Rühren zu der Reaktionsmischung getropft. Die Reaktionsmischung wurde bei 0 °C gerührt bis keine CO₂-Entwicklung mehr zu beobachten war (5-6 h). Anschließend wurde dreimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (200 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 6.46 g (85 % d. Th.)

Aussehen: gelbliches Öl

DC: R_f = 0.26 (Et₂O/PE 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 4.92 (bs, 1H, NH); 3.25 (q, 2H, ³J=5.9 Hz, 1-CH₂); 2.58 (t, 2H, ³J=5.7 Hz, 2-CH₂); 2.09 (s, 3H, CH₃); 1.34 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 208.06 (s, 3-C); 155.85 (s, C(O)OC(CH₃)₃); 79.25 (s, C(CH₃)₃); 43.51 (t, 1-CH₂); 35.19 (t, 2-CH₂); 30.11 (q, CH₃); 28.36 (q, C(CH₃)₃).

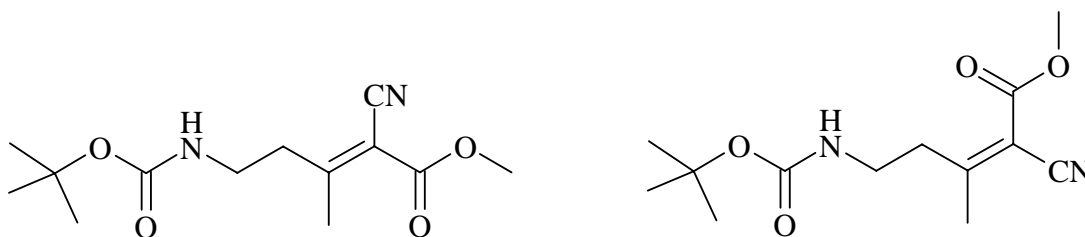
C₉H₁₇NO₃ (187.29 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 57.74	H 9.51	N 7.48
	gef.	C 57.52	H 8.98	N 7.19

MS (ESI): 205 ((M+1)+NH₃), 188 (M+1), 132 ((M+1)-*tert*-butyl), 88 ((M+1)-BOC).

BRN: 1942314

CAS: 54614-95-8

(*EZ*)-5-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-2-cyan-3-methylpent-2-ensäuremethylester 5**5****Durchführung:**

Eine Lösung von 6.46 g (34.51 mmol) *N*-(3-Oxobutyl)carbamidsäure-*tert*-butylester **4**, 3.42 g (34.51 mmol) Methylcyanacetat, 0.99 ml (17.25 mmol) Eisessig und 68 μ l (0.69 mmol) Piperidin in 30 ml Benzol wurde 12 h am Wasserabscheider zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Benzol verdünnt und viermal mit halbgesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (200 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 7.86 g (85 % d. Th.)

Aussehen: gelbes Öl

DC: R_f = 0.29 (Et₂O/PE 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 4.80 (bs, 1H, NH); 4.71 (bs, 1H, NH); 3.83 (s, 3H, OCH₃); 3.82 (s, 3H, OCH₃); 3.39 (m, 4H, 5-CH₂, *EZ*); 3.01 (t, 2H, ³J=6.7 Hz, 4-CH₂); 2.77 (t, 2H, ³J=6.7 Hz, 4-CH₂); 2.45 (s, 3H, CH₃); 2.35 (s, 3H, CH₃); 1.43 (s, 9H, C(CH₃)₃, *EZ*).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 174.64 (s, 3-C); 162.31 (s, C(O)OCH₃); 162.03 (s, C(O)OCH₃); 155.84 (s, C(O)OC(CH₃)₃); 115.53 (s, CN); 115.27 (s, CN); 106.22 (s, 2-C); 105.96 (s, 2-C); 79.76 (s, C(CH₃)₃); 52.62 (q, OCH₃); 52.46 (q, OCH₃); 41.57 (t, 5-CH₂); 38.89 (t, 5-CH₂); 38.40 (t, 4-CH₂); 35.79 (t, 4-CH₂); 28.30 (q, C(CH₃)₃); 25.59 (q, CH₃); 21.36 (q, CH₃).

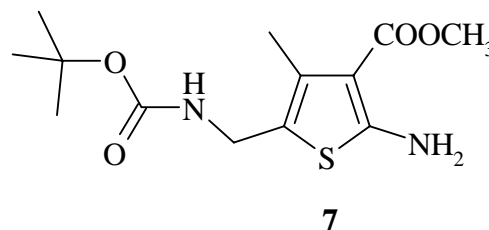
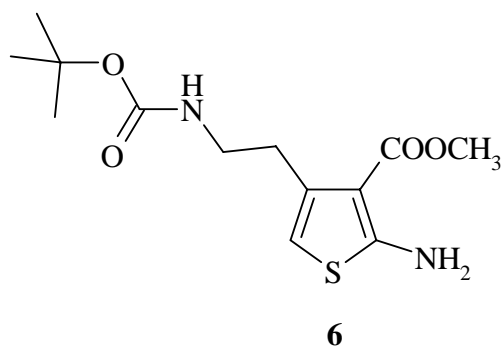
$C_{13}H_{20}N_2O_4$ (268.29 g/mol)

Elementaranalyse: ber. C 58.19 H 7.51 N 10.43
 gef. C 57.94 H 7.77 N 10.16

MS (ESI): 286 ((M+1)+H₂O), 269 (M+1), 213 ((M+1)-*tert*-butyl), 169 ((M+1)-BOC).

BRN: 8843637

2-Amino-4-[[2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl]thiophen-3-carbonsäuremethylester 6 und 2-Amino-5-[[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]methyl]-4-methylthiophen-3-carbonsäuremethylester 7



Durchführung:

5 g (18.6 mmol) 5-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-2-cyan-3-methylpent-2-ensäuremethylester **5**, 775 mg (24.18 mmol) Schwefel und 1.34 ml (12.78 mmol) Diethylamin wurden in 40 ml abs. Methanol suspendiert und für 12 h bei 40 °C Ölbadtemperatur kräftig gerührt. Anschließend wurde nicht umgesetzter Schwefel abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (200 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:2) gereinigt.

Ausbeute: **6:** 0.89 g (16 % d. Th.)

7: 1.84 g (33 % d. Th.)

Verbindung 6:

Aussehen: gelbliche Kristalle

Schmp.: 117-118 °C^[131]

DC: R_f = 0.33 (Et₂O/PE 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 6.15 (bs, 2H, NH₂); 6.00 (s, 1H, 5-CH); 4.52 (bs, 1H, NH); 3.75 (s, 3H, OCH₃); 3.27 (q, 2H, ³J=6.1 Hz, 2-CH₂); 2.80 (t, 2H, ³J=6.5 Hz, 1-CH₂); 1.36 (s, 9H, C(CH₃)₃).

^{13}C -NMR (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 166.00$ (s, $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{OCH}_3$); 164.65 (s, 2-C); 155.91 (s, $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 137.62 (s, 4-C); 105.57 (s, 3-C); 104.17 (d, 5-C); 79.08 (s, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$); 50.84 (q, OCH_3); 40.34 (t, 2- CH_2); 32.15 (t, 1- CH_2); 28.42 (q, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$).

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (300.36 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 51.98	H 6.71	N 9.32
	gef.	C 51.87	H 6.68	N 9.24

MS (ESI): 301 (M+1), 283 ((M+1)- NH_3), 245 ((M+1)-*tert*-butyl), 201 ((M+1)-BOC).

BRN: 8849058

Verbindung 7:

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 133-134 °C^[131]

DC: $R_f = 0.40$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 2:1)

^1H -NMR (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 6.08$ (bs, 2H, NH_2); 4.70 (bs, 1H, NH); 4.28 (d, 2H, $^3\text{J}=5.3$ Hz, CH_2); 3.85 (s, 3H, OCH_3); 2.26 (s, 3H, CH_3); 1.49 (s, 9H, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$).

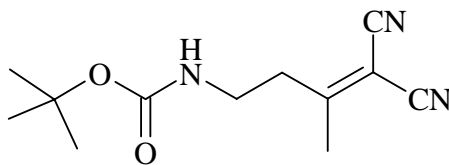
^{13}C -NMR (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 166.39$ (s, $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{OCH}_3$); 162.59 (s, 2-C); 155.48 (s, $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 132.96 (s, 5-C); 116.17 (s, 4-C); 106.61 (s, 3-C); 79.64 (s, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$); 50.71 (q, OCH_3); 36.96 (t, CH_2); 28.37 (q, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$); 14.80 (q, CH_3).

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (300.36 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 51.98	H 6.71	N 9.32
	gef.	C 52.17	H 6.80	N 9.52

MS (ESI): 301 (M+1), 283 ((M+1)- NH_3), 245 ((M+1)-*tert*-butyl).

BRN: 8851173

(4,4-Dicyan-3-methylbut-3-enyl)carbaminsäure-*tert*-butylester 8**8****Durchführung:**

Eine Lösung von 2 g (10.68 mmol) *N*-(3-Oxobutyl)carbaminsäure-*tert*-butylester **4**, 706 mg (10.68 mmol) Malonsäuredinitril, 0.31 ml (5.34 mmol) Eisessig und 21 μ l (0.21 mmol) Piperidin in 30 ml Benzol wurde für 24 h am Wasserabscheider zum Sieden erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde dreimal mit halbkonzentrierter NaCl-Lösung gewaschen, die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der entstandene Niederschlag wurde in einem Diethylether/Petrolether-Gemisch 1:5 umkristallisiert.

Ausbeute: 551 mg (22 % d. Th.)

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 118-119 °C

DC: R_f = 0.23 (Et₂O/PE 2:1)

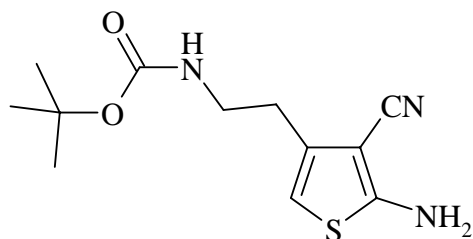
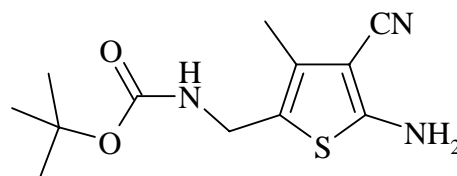
¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 4.73 (bs, 1H, NH-BOC); 3.41 (q, 2H, ³J=6.3 Hz, 1-CH₂); 2.74 (t, 2H, ³J=6.3 Hz, 2-CH₂); 2.36 (s, 3H, CH₃); 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 155.88 (s, C(O)OC(CH₃)₃); 111.85 (s, CN); 111.60 (s, CN); 87.42 (s, 3-C); 80.26 (s, 4-C); 77.20 (s, C(CH₃)₃), 39.31 (t, 1-CH₂); 38.27 (t, 2-CH₂); 22.82 (q, C(CH₃)₃).

C₁₂H₁₇N₃O₂ (235.29 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 61.26	H 7.28	N 17.86
	gef.	C 61.31	H 7.25	N 17.22

**2-Amino-4-[[2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino]ethyl]thiophen-3-carbonitril 9 und
2-Amino-5-[[2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino]methyl]thiophen-3-carbonitril 10**

**9****10****Durchführung:**

Eine Lösung von 500 mg (2.12 mmol) (4,4-Dicyan-3-methylbut-3-enyl)carbaminsäure-*tert*-butylester **8**, 68 mg (2.12 mmol) Schwefel und 0.11 ml (1.06 mmol) Diethylamin in 10 ml abs. Methanol wurde für 6 h bei 40 °C Ölbadtemperatur gerührt. Anschließend wurde von nicht umgesetztem Schwefel abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (10 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:2) gereinigt.

Ausbeute: **9:** 56 mg (10 % d. Th.)

10: 153 mg (27 % d. Th.)

Verbindung 9:

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 104-105 °C

DC: R_f = 0.39 (Et₂O/PE 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 6.06 (s, 1H, 5-CH); 4.79 (bs, 1H, NH-BOC); 3.38 (q, 2H, ³J=6.4 Hz, 2-CH₂); 2.72 (t, 2H, ³J=6.7 Hz, 1-CH₂); 1.43 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 162.61 (s, 2-C); 155.78 (s, C(O)OC(CH₃)₃); 137.13 (s, 4-C); 115.07 (s, CN); 106.08 (d, 5-CH); 89.83 (s, 3-C); 79.45 (s, C(CH₃)₃), 39.71 (t, 2-CH₂); 30.48 (t, 1-CH₂); 28.33 (q, C(CH₃)₃).

$C_{12}H_{17}N_3O_2S$ (273.35 g/mol)

MS (ESI): 266 (M-1).

Verbindung 10:

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 123-124 °C

DC: $R_f = 0.43$ (Et₂O/PE 2:1)

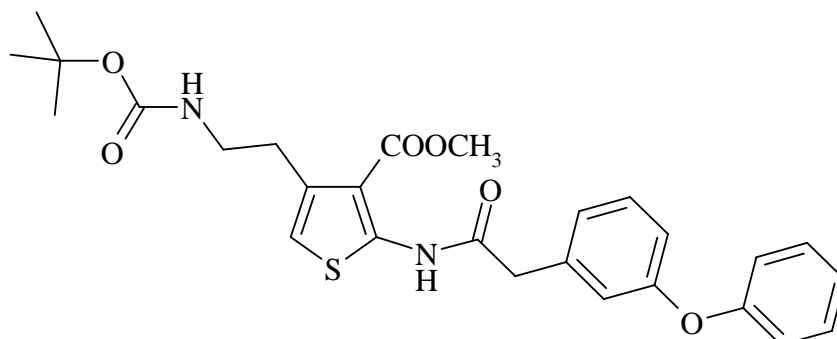
¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 4.78 (bs, 1H, NH-BOC); 4.18 (d, 2H, ³J=5.8 Hz, CH₂); 2.13 (s, 3H, CH₃); 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 160.71 (s, 2-C); 155.48 (s, C(O)OC(CH₃)₃); 131.95 (s, 5-C); 119.67 (s, CN); 115.31 (s, 4-C); 90.56 (s, 3-C); 79.98 (s, C(CH₃)₃), 36.98 (t, CH₂); 28.33 (q, C(CH₃)₃); 12.86 (q, CH₃).

$C_{12}H_{17}N_3O_2S$ (273.35 g/mol)

MS (ESI): 283 ((M-1)+NH₃), 266 (M-1).

4-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-2-[[3-phenoxyphenyl)acetyl]amino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 11a



11a

Durchführung:

Eine Lösung von 2 g (6.66 mmol) **6**, 1.52 g (6.66 mmol) 3-Phenoxyphenylessigsäure, 2.04 g (7.99 mmol) 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid und 2.2 ml (15.98 mmol) Triethylamin in 45 ml abs. Dichlormethan wurde unter Stickstoffatmosphäre für 2 h zum Sieden erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan verdünnt und dreimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (80 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 3.12 g (92 % d. Th.)

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 92-93 °C

DC: R_f = 0.70 (Et₂O/D (1:2))

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.07 (bs, 1H, NH); 7.32-7.23 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.07-6.89 (m, 6H, phenoxyphenyl); 6.38 (s, 1H, 5-CH); 4.45 (bs, 1H, NH-BOC); 3.73 (s, 3H, OCH₃); 3.72 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.25 (q, 2H, ³J=6.2 Hz, 2-CH₂); 2.87 (t, 2H, ³J=6.6 Hz, 1-CH₂); 1.34 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 167.98 (s, NH-C(O)); 165.87 (s, C(O)OCH₃); 158.00 (s, 3-C, phenyl); 156.88 (s, C-OPhR, phenoxy); 155.81 (s, C(O)O-C(CH₃)₃); 150.39 (s, 2-C); 135.85 (s, 1-C, phenyl); 135.13 (s, 4-C); 130.44 (d, 5-CH, phenyl); 129.76

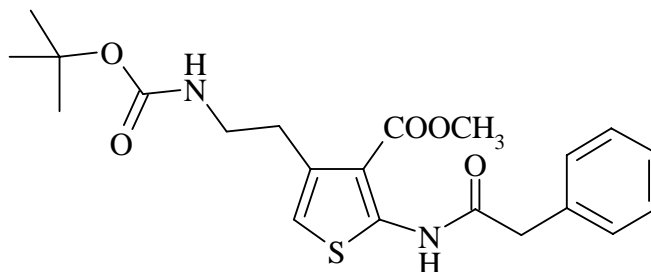
(d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.30 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.50 (d, 6-CH, phenyl); 119.95 (d, 4-CH, phenyl); 119.13 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 117.98 (d, 2-CH, phenyl); 114.04 (d, 5-CH); 111.52 (s, 3-C); 79.20 (s, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$); 51.54 (q, OCH_3); 43.72 (t, $\text{NH-C}(\text{O})\underline{\text{CH}_2}$); 40.42 (t, 2- CH_2); 31.67 (t, 1- CH_2); 28.38 (q, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$).

$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (510.59 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 63.35	H 5.92	N 5.48
	gef.	C 63.16	H 6.07	N 5.36

MS (ESI): 528 ((M+1)+ OH⁻), 511 (M+1), 455 ((M+1)-*tert*-butyl), 411 ((M+1)-BOC).

4-{{2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino}ethyl}-2-[(phenylacetyl)amino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 11b



11b

Durchführung:

Zu einer Lösung von 1.86 g (6.19 mmol) 2-Amino-4-{{2-(*tert*-butoxycarbonyl)amino}ethyl}thiophen-3-carbonsäuremethylester **6** und 844 mg (6.19 mmol) Phenylessigsäure in 50 ml abs. Dichlormethan wurden 1.9 g (7.43 mmol) 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid und 2.5 ml (17.83 mmol) Triethylamin gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 1 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung dreimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (70 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 2.51 g (97 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 89-90 °C

DC: R_f = 0.23 (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.03 (bs, 1H, NH); 7.43-7.31 (m, 5H, phenyl); 6.44 (s, 1H, 5-CH); 4.52 (bs, 1H, NH-BOC); 3.82 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.73 (s, 3H, OCH₃); 3.31 (q, 2H, ³J=6.4 Hz, 2-CH₂), 2.92 (t, 2H, ³J=6.7 Hz, 1-CH₂), 1.40 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 168.26 (s, NH-C(O)); 165.65 (s, C(O)OCH₃); 155.79 (s, C(O)OC(CH₃)₃); 150.27 (s, 2-C); 135.94 (s, 4-C); 133.38 (s, 1-C, phenyl); 129.56 (d, 3-CH/5-CH, phenyl); 129.13 (d, 2-CH/6-CH, phenyl); 127.70 (d, 4-CH,

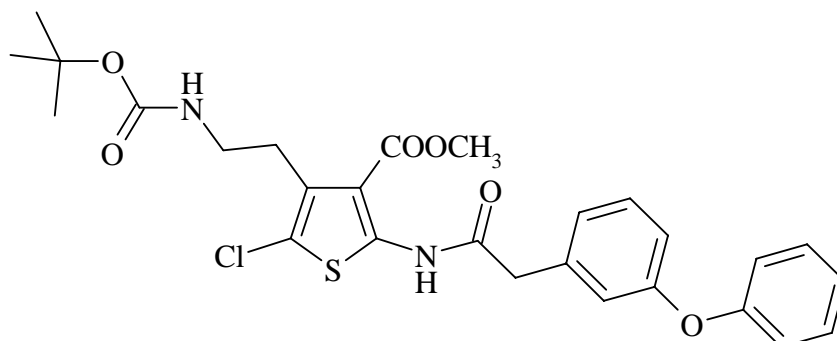
phenyl); 114.00 (d, 5-CH); 111.47 (s, 3-C); 79.14 (s, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$); 51.45 (q, OCH_3); 43.93 (t, $\text{NH-C}(\text{O})\underline{\text{CH}_2}$); 40.35 (t, 2- CH_2); 31.60 (t, 1- CH_2); 28.36 (q, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$).

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (418.52 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 60.27	H 6.26	N 6.69
	gef.	C 60.32	H 6.01	N 6.57

MS (ESI): 441 ((M+1)+Na), 436 ((M+1)+ NH_4^+), 419 (M+1).

**4-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-5-chlor-
2-[[3-phenoxyphenyl)acetyl]amino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 12a**



12a

Durchführung:

1.26 g (2.46 mmol) **11a** und 328 mg (2.46 mmol) NCS wurden in 20 ml abs. Chloroform gelöst und unter Argonatmosphäre für 24 h bei 50 °C Ölbadtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Dichlormethan verdünnt und dreimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der ölige Rückstand wurde mittels VFC (30 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.25 g (90 % d. Th.)

Aussehen: farblose Nadeln

Schmp.: 125-126 °C

DC: R_f = 0.41 (Et₂O/PE 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.18 (bs, 1H, NH); 7.41-7.32 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.16-6.99 (m, 6H, phenoxyphenyl); 4.56 (bs, 1H, NH-BOC); 3.82 (s, 3H, OCH₃); 3.80 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.28 (q, 2H, ³J=6.0 Hz, 2-CH₂); 2.99 (t, 2H, ³J=6.6 Hz, 1-CH₂); 1.33 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 168.21 (s, NH-C(O)); 165.14 (s, C(O)OCH₃); 158.10 (s, 3-C, phenyl); 156.81 (s, C-OPhR, phenoxy); 155.78 (s, C(O)O-C(CH₃)₃); 146.81 (s, 2-C); 134.78 (s, 1-C, phenyl); 131.57 (s, 4-C); 130.54 (d, 5-CH, phenyl); 129.78 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.24 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.58 (d, 6-CH, phenyl); 119.87

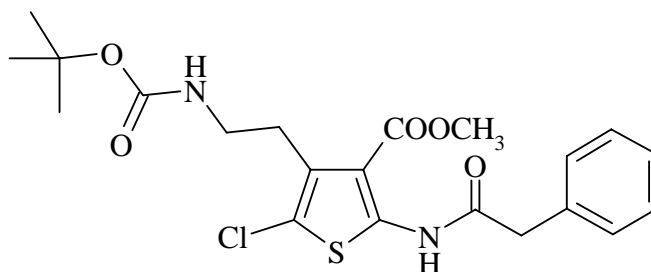
(d, 4-CH, phenyl); 119.48 (s, 5-C); 119.17 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.07 (d, 2-CH, phenyl); 110.59 (s, 3-C); 79.09 (s, C(CH₃)₃); 51.78 (q, OCH₃); 43.42 (t, NH-C(O)CH₂); 40.12 (t, 2-CH₂); 29.67 (t, 1-CH₂); 28.36 (q, C(CH₃)₃).

C₂₇H₂₉ClN₂O₆S (545.03 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 59.83	H 5.39	N 5.16
	gef.	C 59.58	H 5.40	N 4.92

MS (ESI): 545 (M+1(³⁷Cl)), 543 (M+1(³⁵Cl)).

4-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-5-chlor-2-[(phenylacetyl)amino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **12b**



12b

Durchführung:

Eine Lösung von 5.22 g (12.48 mmol) 4-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-2-[(phenylacetyl)amino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **11b** und 1.67 g (12.8 mmol) NCS in 100 ml abs. Chloroform wurde für 42 h bei 50 °C Ölbadtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt und die Reaktionsmischung zweimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (160 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 5.28 g (91 % d. Th.)

Aussehen: farblose Nadeln

Schmp.: 115-117 °C

DC: R_f = 0.22 (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.05 (bs, 1H, NH); 7.44-7.32 (m, 5H, phenyl); 4.55 (bs, 1H, NH-BOC); 3.82 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.73 (s, 3H, OCH₃); 3.26 (q, 2H, ³J=6.4 Hz, 2-CH₂), 2.97 (t, 2H, ³J=6.6 Hz, 1-CH₂), 1.39 (s, 9H, C(CH₃)₃).

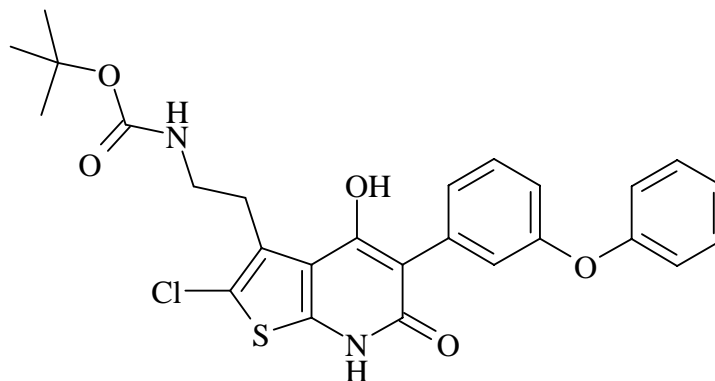
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 168.51 (s, NH-C(O)); 164.91 (s, C(O)OCH₃); 155.75 (s, C(O)OC(CH₃)₃); 146.68 (s, 2-C); 133.03 (s, 1-C, phenyl); 131.65 (s, 4-C); 129.57 (d, 3-CH/5-CH, phenyl); 129.23 (d, 2-CH/6-CH, phenyl); 127.86 (d, 4-CH, phenyl); 119.43 (s, 5-C); 110.54 (s, 3-C); 79.05 (s, C(CH₃)₃); 51.69 (q, OCH₃); 43.63 (t, NH-C(O)CH₂); 40.10 (t, 2-CH₂); 28.49 (t, 1-CH₂); 28.34 (q, C(CH₃)₃).

$C_{21}H_{25}ClN_2O_5S$ (452.96 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 55.69	H 5.56	N 6.18
	gef.	C 55.50	H 5.54	N 6.33

MS (ESI): 453 (M-1(^{37}Cl)), 451 (M-1(^{35}Cl)).

3-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-2-chlor-4-hydroxy-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7-dihydrothieno[2,3-*b*]pyridin-6-on 13a



13a

Durchführung:

Eine Lösung von 4.53 g (8.31 mmol) **12a** in 90 ml abs. THF wurde unter Stickstoffatmosphäre auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und 13.76 ml (27.52 mmol) Phosphazenen-Base $\text{P}_2\text{-}t\text{-Bu}$ (2M-Lösung in THF) langsam zugetropft. Die Lösung wurde 7 d unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit 50 ml dest. H_2O versetzt, mit 2N HCl neutralisiert und anschließend dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingeeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (80 g Kieselgel, Laufmittel: MeOH/D 1:40). Anschließend wurde das Produkt in einer Mischung von $\text{Et}_2\text{O/PE}$ 1:10 digeriert.

Ausbeute: 50 mg (1 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 163-164 $^{\circ}\text{C}$

DC: $R_f = 0.39$ (MeOH/D 9:1)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 13.14$ (bs, 1H, NH), 7.38-7.31 (m, 3H, phenoxy-phenyl); 7.13-6.88 (m, 6H, phenoxyphenyl); 3.79 (bs, 1H, NH-BOC); 3.06-2.95 (m, 2H, 2- CH_2); 2.95-2.93 (m, 2H, 1- CH_2); 1.31 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

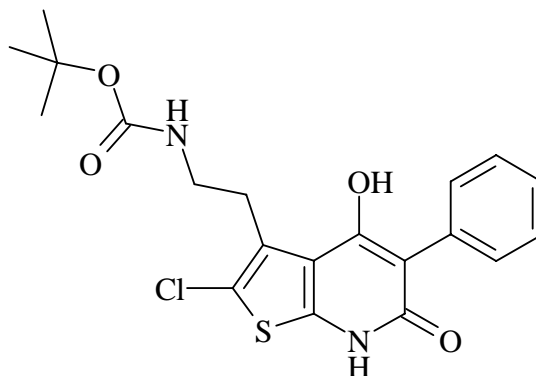
^{13}C -NMR (DMSO- d_6) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 167.90$ (s, 6-C); 156.75 (s, 3-C, phenyl); 156.61 (s, $\underline{\text{C}}$ -OPhR, phenoxy); 155.78 (s, $\underline{\text{C}}$ (O)O-C(CH $_3$) $_3$); 135.58 (s, 1-C, phenyl); 133.51 (s, 3-C); 130.15 (d, 5-CH, phenyl); 129.93 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.63 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.37 (d, 6-CH, phenyl); 119.81 (d, 4-CH, phenyl); 118.61 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 117.28 (d, 2-CH, phenyl); 117.23 (s, 5-C); 77.29 (s, C(CH $_3$) $_3$); 42.29 (t, 2-CH $_2$); 28.96 (t, 1-CH $_2$); 28.23 (q, C($\underline{\text{C}}$ H $_3$) $_3$).

C $_{26}$ H $_{25}$ ClN $_2$ O $_5$ S•0.5 H $_2$ O (522.00 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 59.82	H 5.02	N 5.36
	gef.	C 59.88	H 4.83	N 5.51

MS (MALDI): 513 (M).

3-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-2-chlor-4-hydroxy-5-phenyl-6,7-dihydrothieno[2,3-*b*]pyridin-6-on 13b



13b

Durchführung:

4.19 g (9.25 mmol) 4-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-5-chlor-2-[(phenylacetyl)-amino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **12b** wurden in 100 ml abs. THF gelöst und auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurden unter Stickstoffatmosphäre 15.26 ml (30.52 mmol) Phosphazenen-Base P_2 -*t*-Bu (2M-Lösung in THF) langsam zugetropft. Die Lösung wurde 6 d unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit 50 ml dest. H_2O versetzt, mit 2N HCl neutralisiert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (80 g Kieselgel, Laufmittel: MeOH/D 1:30). Anschließend wurde das Produkt in einer Mischung von Et_2O /Hex 1:9 digeriert.

Ausbeute: 96 mg (2 % d. Th.)

Aussehen: hellbeiger Feststoff

Schmp.: 172-173 $^{\circ}\text{C}$

DC: $R_f = 0.35$ (MeOH/D 1:9)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 11.22$ (bs, 1H, NH); 7.47-7.14 (m, 5H, phenyl); 5.35 (bs, 1H, NH-BOC); 3.06-3.00 (m, 2H, 2- CH_2), 2.92-2.83 (m, 2H, 1- CH_2), 1.30 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

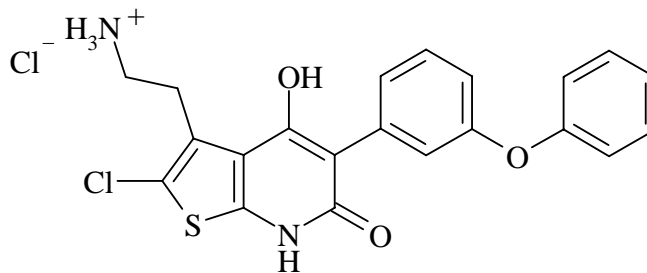
^{13}C -NMR (DMSO- d_6) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 169.03$ (s, 6-C); 155.32 (s, $\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$); 144.84 (s, 7a-C); 134.05 (s, 1-C, phenyl); 132.48 (s, 3-C); 130.32 (s, 5-C); 129.46 (d, 3-CH/5-CH, phenyl); 128.70 (d, 2-CH/6-CH, phenyl); 127.97 (d, 4-CH, phenyl); 125.26 (s, 2-C); 111.38 (s, 3a-C); 79.64 (s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 42.03 (t, 2- CH_2); 28.17 (t, 1- CH_2/q , $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S} \cdot 1.0 \text{ H}_2\text{O}$ (438.93 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 54.73	H 5.28	N 6.38
	gef.	C 54.47	H 5.42	N 6.20

MS (ESI): 439 ((M-1(^{37}Cl))+ NH_4^+), 437 ((M-1(^{35}Cl))+ NH_4^+), 421 (M-1(^{37}Cl)), 419 (M-1(^{35}Cl)).

**3-[(2-Amino)ethyl]-2-chlor-4-hydroxy-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7-dihydrothieno-
[2,3-*b*]pyridin-6-onhydrochlorid **1****



1

Durchführung:

Eine Mischung aus 48 mg (0.09 mmol) **13a** und 0.24 ml (0.72 mmol) 3N HCl in 1 ml Ethylacetat wurde für 60 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde zweimal in Methanol aufgenommen und vorhandene Essigsäure koevaporiert. Der erhaltene Feststoff wurde in einer Isopropanol/Diethylether-Mischung 2:1 für 10 h ausgerührt, filtriert und getrocknet.

Ausbeute: 29 mg (72 % d. Th.)

Aussehen: grauer Feststoff

Schmp.: 200-201 °C

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) (300 MHz): δ (ppm) = 13.76 (bs, 1H, NH), 11.37 (s, 1H, OH); 8.01 (bs, 3H, NH₃⁺); 7.41-7.36 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.14-6.94 (m, 6H, phenoxyphenyl); 2.92-2.87 (m, 2H, 2-CH₂); 2.72 (bs, 2H, 1-CH₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) (50 MHz): δ (ppm) = 168.87 (s, 6-C); 165.49 (s, 4-C); 156.85 (s, 3-C, phenyl); 156.58 (s, C-OPhR, phenoxy); 145.28 (s, 7a-C); 135.90 (s, 1-C, phenyl); 130.38 (d, 5-CH, phenyl); 130.31 (s, 3-C); 130.01 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.85 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.43 (d, 6-CH, phenyl); 120.00 (d, 4-CH, phenyl); 118.57 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 117.85 (s, 5-C); 117.68 (d, 2-CH, phenyl); 111.38 (s, 2-C); 41.79 (t, 2-CH₂); 25.56 (t, 1-CH₂).

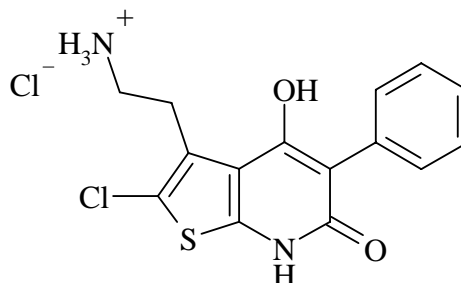
$C_{21}H_{18}Cl_2N_2O_3S \cdot 0.2 H_2O$ (452.96 g/mol)

Elementaranalyse:

ber.	C	55.69	H	4.09	N	6.18
gef.	C	55.77	H	4.40	N	6.14

MS (ESI): 433 ((M+1(^{37}Cl))+NH $_4^+$ (-HCl)), 445 ((M+1(^{35}Cl))+NH $_4^+$ (-HCl)).

**3-[(2-Amino)ethyl]-2-chlor-4-hydroxy-5-phenyl-6,7-dihydrothieno[2,3-b]-
pyridin-6-onhydrochlorid 2**



2

Durchführung:

Eine Mischung von 80 mg (0.19 mmol) **13b** und 0.5 ml (1.52 mmol) 3N HCl in 1 ml Ethylacetat wurde für 36 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde zweimal in Methanol aufgenommen und vorhandene Essigsäure koevaporiert. Der entstandene Feststoff wurde in einer Isopropanol/Diethylether-Mischung 2:1 für 24 h ausgerührt, filtriert und getrocknet.

Ausbeute: 60 mg (89 % d. Th.)

Aussehen: farblose Feststoff

Schmp.: > 220 °C (Zersetzung)

¹H-NMR (DMSO-d₆) (300 MHz): δ(ppm) = 12.35 (s, 1H, OH); 11.14 (bs, 1H, NH); 8.08 (bs, 3H, NH₃⁺); 7.49-7.47 (m, 1H, phenyl); 7.25-7.14 (m, 4H, phenyl); 3.08-3.02 (m, 2H, 2-CH₂), 2.84-2.76 (m, 2H, 1-CH₂).

¹³C-NMR (DMSO-d₆) (50 MHz): δ(ppm) = 165.10 (s, 6-C); 163.36 (s, 4-C); 145.11 (s, 7a-C); 138.65 (s, 3-C); 133.20 (s, 1-C, phenyl); 131.33 (s, 5-C); 130.47 (d, 3-CH/5-CH, phenyl); 127.94 (d, 2-CH/6-CH, phenyl); 125.37 (d, 4-CH, phenyl); 117.96 (s, 2-C); 111.11 (s, 3a-C); 38.29 (t, 2-CH₂); 25.53 (t, 1-CH₂).

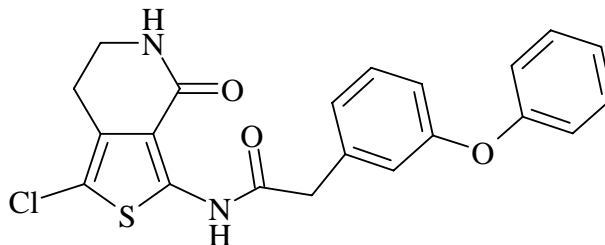
$C_{15}H_{14}Cl_2N_2O_2S \cdot 1.0 H_2O \cdot 0.7 HCl$ (400.80 g/mol)

Elementaranalyse:

ber.	C	44.95	H	4.20	N	6.99
gef.	C	45.27	H	4.42	N	6.62

MS (ESI): 395 ((M-1(^{37}Cl))+HCl), 393 ((M-1(^{35}Cl))+HCl).

***N*-(1-Chlor-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,4-*c*]pyridinyl)-
3-(3-phenoxyphenyl)acetamid **14****



14

Durchführung:

500 mg (0.92 mmol) **12a** wurden in 5 ml abs. THF vorgelegt und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurden 1.01 ml (2.02 mmol) LDA (2M in n-Heptan) innerhalb von 10 min zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 42 h bei -30 bis $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit 4 ml dest. H_2O versetzt, mit 1N HCl auf pH 7 gestellt und anschließend dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (50 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/PE 5:1) gereinigt.

Ausbeute: 140 mg (37 % d. Th.)

Aussehen: gelbliche Kristalle

Schmp.: 168-170 $^{\circ}\text{C}$

DC: $R_f = 0.31$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{D}$ 1:9)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 11.15$ (bs, 1H, NH); 7.38-7.31 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.11-6.98 (m, 6H, phenoxyphenyl); 5.77 (bs, 1H, NH); 3.78 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.47 (t, 2H, 6-CH₂); 2.80 (t, 2H, 7-CH₂).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 168.02$ (s, NH-C(O)); 165.57 (s, 4-C); 157.94 (s, 3-C, phenyl); 156.91 (s, C-OPhR, phenoxy); 143.14 (s, 3-C); 134.94 (s, 1-C, phenyl); 129.36 (s, 7a-C); 130.41 (d, 5-CH, phenyl); 129.74 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.24 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.43 (d, 6-CH, phenyl); 119.91 (d, 4-CH, phenyl); 119.14 (d, 2C, *o*-C,

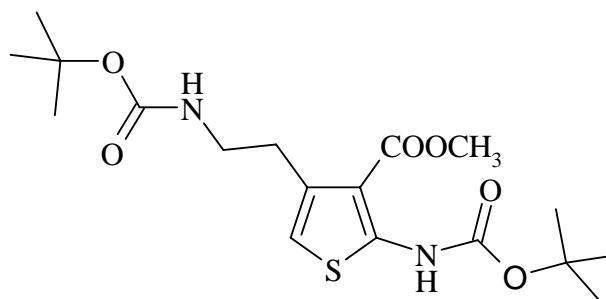
phenoxy); 118.06 (d, 2-CH, phenyl); 115.08 (s, 1-C); 110.88 (s, 3a-C); 43.08 (t, NH-C(O)CH₂); 40.67 (t, 6-CH₂); 22.79 (t, 7-CH₂).

C₂₁H₁₇ClN₂O₃S (412.87 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 61.09	H 4.15	N 6.78
	gef.	C 61.28	H 4.52	N 6.81

MS (ESI): 415 (M+1(³⁷Cl)), 413 (M+1(³⁵Cl)), 378 ((M+1)-Cl).

2-*tert*-Butoxycarbonylamino-4-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]thiophen-3-carbonsäuremethylester 16



16

Durchführung:

Eine Lösung von 100 mg (0.19 mmol) **11a**, 2 mg (0.019 mmol) DMAP und 104 mg (0.47 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat in 3 ml Acetonitril wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (2 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 22 mg (24 % d. Th.)

Aussehen: gelbes Öl

DC: R_f = 0.44 (Et₂O/PE (2:1))

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 10.36 (bs, 1H, NH); 6.39 (s, 1H, 5-CH); 4.56 (bs, 1H, NH-BOC); 3.90 (s, 3H, OCH₃); 3.35 (q, 2H, ³J=6.1 Hz, 2-CH₂); 2.95 (t, 2H, ³J=6.6 Hz, 1-CH₂); 1.54/1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃).

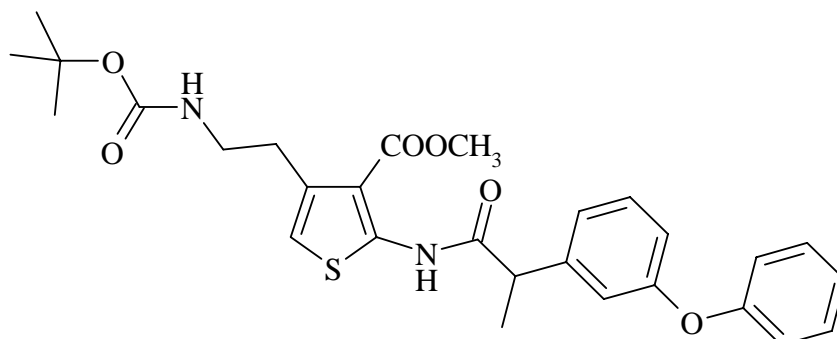
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 165.27 (s, C(O)OCH₃); 155.85/153.42 (s, C(O)O-C(CH₃)₃); 152.12 (s, 2-C); 135.99 (s, 4-C); 112.29 (d, 5-CH); 109.77 (s, 3-C); 82.19/79.20 (s, C(CH₃)₃); 51.52 (q, OCH₃); 40.38 (t, 2-CH₂); 31.85 (t, 1-CH₂); 28.40/28.20 (q, C(CH₃)₃).

$C_{18}H_{28}N_2O_6S \cdot 0.4 C_2H_5OC_2H_5$ (430.15 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 54.73	H 7.50	N 6.51
	gef.	C 54.85	H 7.18	N 6.31

MS (ESI): 418 ((M+1)+NH₄⁺), 401 (M+1)

4-([2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl)-2-[2-(3-phenoxyphenyl)-propionylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 18



18

Durchführung:

200 mg (0.39 mmol) **11a** wurden in 8 ml abs. THF vorgelegt und auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Zu der Lösung wurden 0.88 ml (1.76 mmol) LDA (2M-Lösung in THF) zugetropft und für 30 min gerührt, anschließend wurden 61 mg (0.43 mmol) Methyljodid zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 20 h bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit 5 ml dest. H_2O versetzt und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (2 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 45 mg (22 % d. Th.)

Aussehen: gelbes Öl

DC: $R_f = 0.43$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ (2:1))

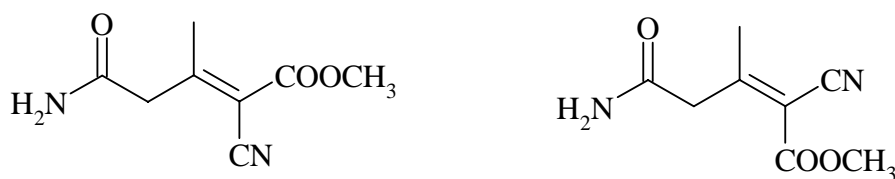
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 11.20$ (bs, 1H, NH); 7.37-7.31 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.14-6.93 (m, 6H, phenoxyphenyl); 6.46 (s, 1H, 5-CH); 4.51 (bs, 1H, NH-BOC); 3.83 (s, 3H, OCH_3); 3.65-3.54 (m, 1H, NH-C(O)CH); 3.35-3.33 (m, 2H, 2- CH_2); 2.95 (t, 2H, $^3\text{J}=6.5$ Hz, 1- CH_2); 1.65-1.57 (m, 3H, CH_3); 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 171.21$ (s, NH-C(O)); 166.00 (s, C(O)OCH₃); 157.86 (s, 3-C, phenyl); 156.93 (s, C-OPhR, phenoxy); 155.80 (s, C(O)O-C(CH₃)₃); 150.71 (s, 2-C); 141.78 (s, 1-C, phenyl); 135.78 (s, 4-C); 130.37 (d, 5-CH, phenyl); 129.72

(d, 2C, *m*-C, phenoxy); 123.40 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 122.49 (d, 6-CH, phenyl); 118.98 (d, 4-CH, phenyl); 118.34 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 117.85 (d, 2-CH, phenyl); 113.91 (d, 5-CH); 111.34 (s, 3-C); 79.18 (s, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$); 51.54 (q, OCH₃); 47.28 (t, NH-C(O) $\underline{\text{C}}\text{H}$); 40.42 (t, 2-CH₂); 30.87 (t, 1-CH₂); 28.36 (q, C($\underline{\text{C}}\text{H}_3$)₃); 17.89 (q, CH₃).

C₂₈H₃₂N₂O₆S (524.64 g/mol)

MS (ESI): 523 (M-1).

(E_Z)-4-Carbamoyl-2-cyan-3-methylbut-2-ensäuremethylester 20**20****Durchführung:**

Zu einer Suspension von 10 g (99 mmol) Acetessigsäureamid in 80 ml Benzol wurden 10.8 g (109 mmol) Methylcyanacetat, 153 mg (1.98 mmol) Ammoniumacetat und 1.14 ml (19.8 mmol) Eisessig gegeben. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Beendigung der Wasserabscheidung zum Sieden erhitzt (18-20 h). Anschließend wurde die Lösung bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in dest. H₂O aufgenommen und die wässrige Phase zehnmal mit einer Mischung aus Dichlormethan/Isopropanol (3:1) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Feststoff wurde mittels VFC (50 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/PE 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 2.10 g (12 % d. Th.)**Aussehen:** farbloser Feststoff**Schmp.:** 104-106 °C**DC:** R_f = 0.61 (MeOH/D 1:9)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 6.43 (bs, 2H, NH₂); 5.58 (bs, 2H, NH₂); 3.84 (s, 3H, OCH₃); 3.81 (s, 3H, OCH₃); 3.68 (s, 2H, CH₂); 3.45 (s, 2H, CH₂); 2.50 (s, 3H, CH₃); 2.41 (s, 3H, CH₃).

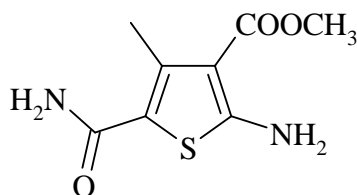
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 169.95/169.74 (s, H₂N-C(O)R); 168.71/168.19 (s, 3-C); 163.04/161.64 (s, C(O)OCH₃); 115.60/114.77 (s, CN); 107.10/106.28 (s, 2-C); 53.18/52.78 (q, OCH₃); 46.71/42.93 (t, 4-CH₂); 26.29/21.91 (q, CH₃).

$C_8H_{10}N_2O_3$ (182.18 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 52.83	H 5.70	N 14.67
	gef.	C 53.25	H 5.61	N 14.79

MS (ESI): 183 (M+1), 166 ((M+1)-NH₂).

2-Amino-5-carbamoyl-4-methylthiophen-3-carbonsäuremethylester **21**

**21****Durchführung:**

Zu einer Lösung von 1.45 g (7.96 mmol) (*EZ*)-4-Carbamoyl-2-cyan-3-methylbut-2-ensäuremethylester **20** und 256 mg (7.96 mmol) Schwefel in 15 ml abs. Methanol wurden unter Rühren 0.58 ml (5.57 mmol) Diethylamin gegeben und für 2 h bei 40 °C Ölbadtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in wenig Methanol aufgenommen, mit etwas Kieselgel versetzt und erneut bis zur Trockene eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels VFC (40 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/PE 1:1).

Ausbeute: 630 mg (37 % d. Th.)

Aussehen: rosafarbene Kristalle

Schmp.: 205-207 °C

DC: $R_f = 0.27$ (MeOH/D 1:18)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.61$ (bs, 2H, NH_2); 7.04 (bs, 2H, NH_2); 3.67 (s, 3H, OCH_3); 3.30 (s, 3H, CH_3).

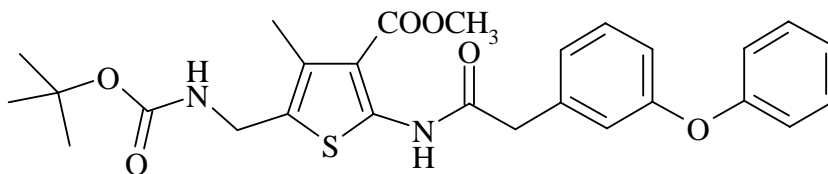
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 165.23$ (s, $\text{H}_2\text{NC}(\text{O})\text{R}$); 164.77 (s, 2-C); 164.33 (s, $\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$); 139.94 (s, 5-C); 112.96 (s, 4-C); 105.29 (s, 3-C), 50.61 (q, OCH_3); 15.94 (q, CH_3).

$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (214.24 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 44.85	H 4.70	N 13.08
	gef.	C 45.02	H 4.92	N 12.94

MS (ESI): 215 (M+1), 198 ((M+1)- NH_2).

5-[[*tert*-Butoxycarbonyl]amino]methyl}-4-methyl-2-[[3-phenoxyphenyl]acetyl]amino}thiophen-3-carbonsäuremethylester **23**



23

Durchführung:

Eine Lösung von 1.68 g (5.61 mmol) 2-Amino-5-[[*tert*-butoxycarbonyl]amino]methyl}-4-methylthiophen-3-carbonsäuremethylester **7**, 1.28 g (5.61 mmol) 3-Phenoxyphenyl-essigsäure und 1.72 g (6.73 mmol) 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid in 30 ml abs. Dichlormethan wurde mit 1.01 ml (13.46 mmol) Triethylamin versetzt und für 2 h unter Argonatmosphäre zum Sieden erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan verdünnt und dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (60 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O) gereinigt.

Ausbeute: 2.66 g (93 % d. Th.)

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 128-129 °C

DC: R_f = 0.75 (D/Et₂O 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.07 (bs, 1H, NH); 7.31-7.23 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.06-6.89 (m, 6H, phenoxyphenyl); 4.62 (bs, 1H, NH); 4.26 (d, 2H, CH₂); 3.71 (s, 5H, OCH₃/NH-C(O)CH₂); 2.20 (s, 3H, CH₃); 1.37 (s, 9H, ³J=4.5 Hz, C(CH₃)₃).

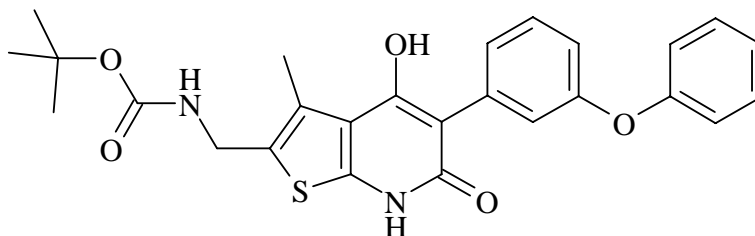
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 167.89 (s, NH-C(O)); 166.30 (s, C(O)OCH₃); 157.97 (s, 3-C, phenyl); 156.94 (s, C-OPhR, phenoxy); 155.48 (s, C(O)O-C(CH₃)₃); 147.93 (s, 2-C); 135.20 (s, 1-C, phenyl); 131.18 (s, 5-C); 130.43 (d, 5-CH, phenyl); 129.76 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 125.72 (s, 4-C); 124.31 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.48 (d, 6-CH, phenyl); 119.95 (d, 4-CH, phenyl); 119.12 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.00 (d, 2-CH, phenyl); 112.94 (s, 3-C); 78.75 (s, C(CH₃)₃); 51.43 (q, OCH₃); 43.71 (t, NH-C(O)CH₂); 37.06 (t, CH₂); 28.37 (q, C(CH₃)₃); 14.27 (q, CH₃).

$C_{27}H_{30}N_2O_6S$ (510.59 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 63.51	H 5.92	N 5.48
	gef.	C 63.25	H 6.16	N 5.19

MS (ESI): 529 ((M+1)+H₂O), 511 (M+1).

2-[[*tert*-Butoxycarbonyl]amino]methyl]-4-hydroxy-3-methyl-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7-dihydrothieno[2,3-*b*]pyridin-6-on **24**



24

Durchführung:

500 mg (0.98 mmol) 5-[[*tert*-Butoxycarbonyl]amino]methyl]-4-methyl-2-[[3-phenoxyphenyl]acetyl]amino}thiophen-3-carbonsäuremethylester **23** wurde in THF vorgelegt und die Lösung auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Anschließend wurden 1.61 ml (3.23 mmol) LDA innerhalb von 10 min zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 48 h bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Danach wurde sie bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit 4 ml dest. H_2O versetzt und dreimal mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit 1N HCl auf pH 7.0 gestellt und anschließend dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (2 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/PE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 45 mg (10 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 198-200 $^{\circ}\text{C}$

DC: $R_f = 0.44$ (MeOH/D 1:9)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (300 MHz): δ (ppm) = 11.90 (bs, 1H, OH); 9.65 (bs, 1H, NH); 7.44-7.32 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.13-6.91 (m, 6H, phenoxyphenyl); 4.18 (d, 2H, $^3J=5.6\text{ Hz}$, CH_2); 2.35 (s, 3H, CH_3); 1.38 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) (50 MHz): δ (ppm) = 161.85 (s, 6-C); 157.08 (s, 4-C); 155.95 (s, 3-C, phenyl); 155.53 (s, $\underline{\text{C}}$ -OPhR, phenoxy); 142.94 (s, 7a-C); 135.63 (s, 1-C, phenyl); 129.91 (s, 2-C); 129.84 (d, 5-CH, phenyl); 129.30 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 127.74 (s, 3-C); 126.78 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 122.96 (d, 6-CH, phenyl); 121.91 (d, 4-CH, phenyl);

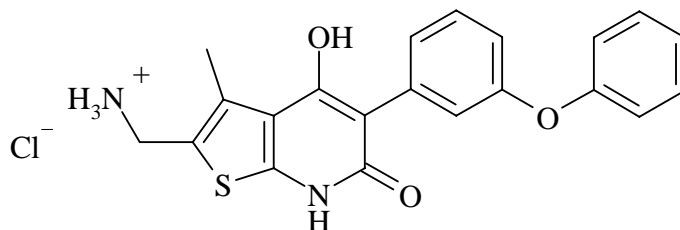
118.24/118.20 (d, 3C, *o*-C, phenoxy/2-CH, phenyl); 117.09 (s, 5-C); 108.08 (s, 3a-C); 77.98 (s, C(CH₃)₃); 36.24 (t, CH₂); 28.18 (q, C(CH₃)₃); 13.84 (q, CH₃).

C₂₆H₂₆N₂O₅S•1.7 C₄H₈O₂ (628.35)

Elementaranalyse:	ber.	C 62.70	H 6.35	N 4.46
	gef.	C 62.54	H 6.31	N 4.66

MS (ESI): 477 (M-1).

**2-[(Amino)methyl]-4-hydroxy-3-methyl-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7-dihydrothieno-
[2,3-*b*]pyridin-6-onhydrochlorid **22****



22

Durchführung:

Eine Lösung von 80 mg (0.17 mmol) 2-[[*tert*-Butoxycarbonyl]amino]methyl}-4-hydroxy-3-methyl-5-(3-phenoxyphenyl)-6,7-dihydrothieno[2,3-*b*]pyridin-6-on **24** und 0.45 ml 3N HCl in 0.45 ml Ethylacetat wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Diethylether verdünnt und mehrfach mit dest. H₂O extrahiert. Die wässrige Phase wurde bis zur Trockene eingengt, der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und mit Diethylether bis zur Trübung versetzt. Zur Vervollständigung der Kristallisation wurde die Mischung über Nacht bei –28 °C gelagert.

Ausbeute: 51 mg (72 % d. Th.)

Aussehen: beiger Feststoff

Schmp.: 260-265 °C

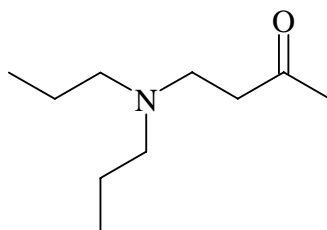
¹H-NMR (DMSO-*d*₆) (300 MHz): δ(ppm) = 11.90 (bs, 1H, OH); 9.88 (bs, 1H, NH); 8.32 (bs, 3H, NH₃⁺); 7.43-7.35 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.13-7.06 (m, 4H, phenoxyphenyl); 6.96-6.91 (m, 2H, phenoxyphenyl); 4.16 (d, 2H, CH₂); 2.44 (s, 3H, CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) (50 MHz): δ(ppm) = 161.94 (s, 6-C); 159.15 (s, 4-C); 156.96 (s, 3-C, phenyl); 156.17 (s, C-OPhR, phenoxy); 142.89 (s, 7a-C); 134.79 (s, 1-C, phenyl); 132.86 (s, 3-C); 129.85 (d, 5-CH, phenyl); 129.57 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 118.7 (s, 2-C); 126.71 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.07 (d, 6-CH, phenyl); 121.88 (d, 4-CH, phenyl); 118.32 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 117.56 (d, 2-CH, phenyl); 115.32 (s, 5-C); 108.86 (s, 3a-C); 34.53 (t, CH₂); 14.24 (q, CH₃).

$C_{21}H_{19}ClN_2O_3S \cdot 1.5 H_2O \cdot 1.1 HCl$ (482.04)

Elementaranalyse: ber. C 52.33 H 4.83 N 5.81
 gef. C 52.36 H 5.33 N 5.61

MS (ESI): 379 ((M+1)-HCl).

4-Di-*n*-propylaminobutan-2-on 27**27****Durchführung:**

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 10.83 g (107.01 mmol) Di-*n*-propylamin und 20 ml Ethylacetat wurden 5.9 ml (71.34 mmol) But-3-en-2-on langsam zugetropft und die Reaktionsmischung für 24 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde im Membranpumpenvakuum destilliert (Übergangstemperatur: 120-125 °C/10 mbar).

Ausbeute: 7.57 g (62% d. Th.)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

Brechungsindex: $n_D^{25} = 1.4333$ (Lit.^[143]; $n_D^{25} = 1.4331$)

DC: $R_f = 0.40$ (Et₂O/PE 2:1), (DC-Platte mit 5%-Et₃N/Et₂O-Lösung imprägniert)

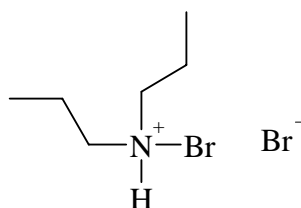
¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 2.76 (t, 2H, ³J=7.2 Hz, 4-CH₂); 2.56 (t, 2H, ³J=7.2 Hz, 3-CH₂); 2.35 (t, 4H, ³J=7.6 Hz, 1-CH₂, propyl); 2.17 (s, 3H, 1-CH₃); 1.44 (m, 4H, 2-CH₂, propyl); 0.87 (t, 6H, ³J=7.3 Hz, 3-CH₃, propyl).

C₁₀H₂₁NO (171.27 g/mol)

MS (ESI): 172 (M+1).

BRN: 1757200

CAS: 16634-96-1

Di-*n*-propylbromaminhydrobromid 31**31****Durchführung:**

Eine Lösung von 1 g (5.8 mmol) 4-Di-*n*-propylaminobutan-2-on **27** in 0.6 ml Eisessig und 4 ml dest. H₂O wurde langsam mit 0.6 ml (11.6 mmol) Brom versetzt und für 48 h bei 70 °C Ölbadtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bis zur Trockene eingedampft. Der verbliebene Rückstand wurde in Ethanol gelöst, die Lösung wurde mit wenig *n*-Hexan überschichtet. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mehrfach mit Ethylacetat gewaschen.

Ausbeute: 263 mg (17 % d. Th.)

Aussehen: brauner wachsartiger Feststoff

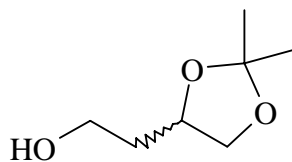
Schmp.: 28-29 °C

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 8.93 (bs, 1H, NH); 2.92 (bs, 4H, 1-CH₂); 2.00-1.92 (m, 4H, 2-CH₂); 1.01 (t, 6H, ³J=7.2 Hz, 3-CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 49.30 (t, 2C, 1-CH₂); 19.30 (t, 2C, 2-CH₂); 11.33 (q, 2C, 3-CH₃).

C₆H₁₄BrN•HBr (261.99 g/mol)

MS (ESI): 180 ((M+1)-HBr), 102 ((M+1)-Br(-HBr)).

(*RS*)-2-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethanol 34**34****Durchführung:**

20 g (188 mmol) (*RS*)-Butan-1,2,4-triol wurde in 500 ml Aceton vorgelegt und mit 50 g Na_2SO_4 und 896 mg (4.7 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure Monohydrat versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde festes Na_2CO_3 zugegeben und weitere 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mehrmals mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Nach Trocknung im Membranpumpenvakuum wurde das Produkt in ausreichender Reinheit erhalten.

Ausbeute: 23.4 g (85 % d. Th.)

Aussehen: farbloses Öl

DC: $R_f = 0.33$ (MeOH/EtOAc 1:2)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 4.25$ (quin, 1H, $^3J=6.4$ Hz, 4-CH); 4.10 (dd, 1H, $^3J=6.0$ Hz, 5- CH_2'); 3.82 (t, 2H, $^3J=5.7$ Hz, 1- CH_2); 3.58 (dd, 1H, $^3J=7.4$ Hz, 5- CH_2''); 2.37 (bs, 1H, Hydroxyproton); 1.80 (q, 2H, $^3J=5.8$ Hz, 2- CH_2); 1.41 (s, 3H, CH_3); 1.34 (s, 3H, CH_3).

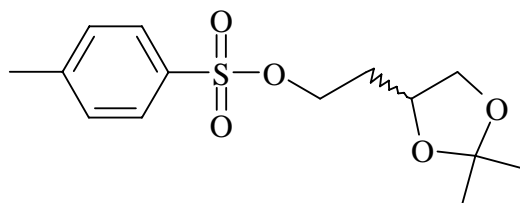
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 109.03$ (s, 2-C); 75.00 (d, 4-CH); 69.42 (t, 5- CH_2); 60.47 (t, 1- CH_2); 35.63 (t, 2- CH_2); 26.84 (q, CH_3); 25.63 (q, CH_3).

$C_7H_{14}O_3$ (146.19 g/mol)

MS (ESI): 164 ((M+1)+H₂O), 147 (M+1).

BRN: 1236630

CAS: 5754-34-7

(*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-2-(2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethylester 35**35****Durchführung:**

Zu einer auf $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung von 14.85 g (101.12 mmol) (*RS*)-2-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethanol **34** und 19.3 g (101.12 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in 40 ml abs. Dichlormethan wurden 40.7 ml (505.6 mmol) abs. Pyridin getropft und die Reaktionsmischung für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das entstandene Pyridinhydrochlorid abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und dreimal mit dest. H_2O und einmal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels VFC (450 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 16.5 g (54 % d. Th.)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

DC: $R_f = 0.39$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 3:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.80$ (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.36 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.20-4.00 (m, 3H, 4-CH/2-CH₂); 4.02 (t, 1H, $^3J=6.1$ Hz, 5-CH₂'); 3.52 (t, 1H, $^3J=7.3$ Hz, 5-CH₂''); 2.46 (s, 3H, CH₃, tosyl); 1.92-1.87 (m, 2H, 1-CH₂); 1.40 (s, 3H, CH₃); 1.35 (s, 3H, CH₃).

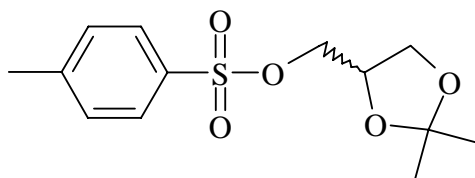
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 144.81$ (s, 4-C, tosyl); 133.04 (s, 1-C, tosyl); 129.85 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 127.92 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 109.05 (s, 2-C); 72.32 (d, 4-CH); 67.38 (t, 5-CH₂); 66.80 (t, 2-CH₂); 33.18 (t, 1-CH₂); 26.83 (q, CH₃); 25.53 (q, CH₃); 21.62 (q, CH₃, tosyl).

$C_{14}H_{20}O_5S$ (300.38 g/mol)

MS (ESI): 318 ((M+1)+H₂O), 301 (M+1).

BRN: 3620640

CAS: 94992-56-0

(RS)-Toluol-4-sulfonsäure-2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethylester 37**37****Durchführung:**

15 g (113.49 mmol) Solketal **36** und 21.66 g (113.49 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid wurden in 40 ml abs. Dichlormethan gelöst und auf $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Die Lösung wurde langsam mit 45.7 ml (567.45 mmol) abs. Pyridin versetzt und die Reaktionsmischung für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das entstandene Pyridinhydrochlorid abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und dreimal mit dest. H_2O und einmal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels VFC (480 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 22.7 g (70 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 31-32 $^{\circ}\text{C}$ (Lit.^[169]: 28-30 $^{\circ}\text{C}$)

DC: $R_f = 0.45$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 2:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.82$ (d, 2H, $^3J=8.1$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.37 (d, 2H, $^3J=8.1$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.39-4.27 (m, 3H, 4-CH/ CH_2); 4.10 (dd, 1H, $^3J=6.3$ Hz, 5- CH_2'); 3.82 (dd, 1H, $^3J=5.8$ Hz, 5- CH_2''); 2.44 (s, 3H, CH_3 , tosyl); 1.42 (s, 3H, CH_3); 1.37 (s, 3H, CH_3).

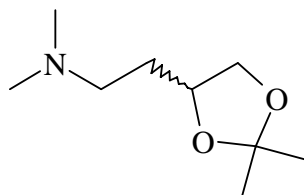
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 144.79$ (s, 4-C, tosyl); 133.14 (s, 1-C, tosyl); 129.75 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 127.94 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 109.75 (s, 2-C); 73.42 (d, 4-CH); 66.38 (t, 5- CH_2); 65.80 (t, CH_2); 26.83 (q, CH_3); 25.30 (q, CH_3); 21.61 (q, CH_3 , tosyl).

$C_{13}H_{18}O_5S$ (286.35 g/mol)

MS (ESI): 287 (M+1).

BRN: 89799

CAS: 7305-59-1

(*RS*)-[2-(2,2-Dimethyl-[1,3]dioxolan-4-yl)ethyl]dimethylamin 38a**38a****Durchführung:**

Eine Mischung von 10 g (33.3 mmol) (*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-2-(2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethylester **35** und 16.5 ml (146.52 mmol) Dimethylamin-Lösung (40 % ig in H₂O) in 15 ml Ethanol wurde für 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung bis zur Trockene eingedampft. Der verbliebene Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und zweimal mit dest. H₂O und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde im Membranpumpenvakuum destilliert (Übergangstemperatur: 80-85 °C/24 mbar).

Ausbeute: 2.72 g (47 % d. Th.)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

DC: R_f = 0.18 (MeOH/D 1:9)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 4.17-4.04 (m, 2H, 4-CH/5-CH₂''); 3.55 (t, 1H, ³J=7.2 Hz, 5-CH₂''); 2.41-2.28 (m, 2H, 1-CH₂); 2.23 (s, 6H, CH₃, methyl); 1.83-1.68 (m, 2H, 2-CH₂); 1.40 (s, 3H, CH₃), 1.36 (s, 3H, CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 108.65 (s, 2-C); 74.64 (d, 4-CH); 69.48 (t, 5-CH₂); 56.18 (t, 1-CH₂); 45.47 (q, 2C, CH₃, methyl); 31.92 (t, 2-CH₂); 26.91 (q, CH₃); 25.70 (q, CH₃).

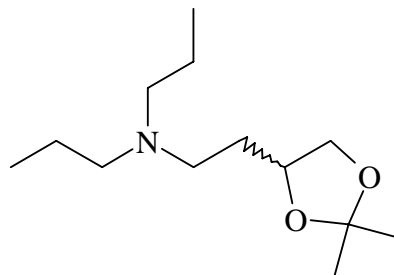
$C_9H_{19}NO_2$ (173.26 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 62.39	H 11.05	N 8.08
	gef.	C 62.21	H 10.92	N 8.25

MS (ESI): 174 (M+1), 116 ((M+1)-Propanol).

BRN: 5918520

CAS: 74654-14-1

(RS)-[2-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethyl]di-*n*-propylamin 38b**38b****Durchführung:**

Eine Mischung von 3.9 g (13 mmol) (*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-2-(2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethylester **35** und 7.82 ml (57.2 mmol) Di-*n*-propylamin in 10 ml Ethanol wurde für 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde bis zur Trockene eingedampft. Der verbliebene Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und zweimal mit dest. H₂O und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und wieder bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde im Membranpumpenvakuum destilliert (Übergangstemperatur: 115-110 °C/18 mbar).

Ausbeute: 1.53 g (51 % d. Th.)

Aussehen: hellgelbe Flüssigkeit

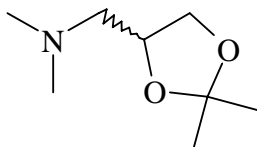
DC: R_f = 0.28 (MeOH/D 1:9)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 4.14-4.07 (m, 2H, 4-CH/5-CH₂’); 3.53 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 5-CH₂’); 2.55-2.47 (m, 2H, 1-CH₂); 2.35 (t, 4H, ³J=7.4 Hz, 1-CH₂, propyl); 1.87-1.48 (m, 2H, 2-CH₂); 1.45-1.35 (m, 10H, 2-CH₂/CH₃, propyl); 0.87 (t, 6H, ³J=7.3 Hz, 3-CH₃, propyl).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 108.44 (s, 2-C); 74.86 (d, 4-CH); 69.56 (t, 5-CH₂); 56.22 (t, 1-CH₂); 50.58 (t, 2C, 1-CH₂, propyl); 31.37 (t, 2-CH₂); 26.94 (q, CH₃); 25.71 (q, CH₃); 20.22 (t, 2C, 2-CH₂, propyl); 11.92 (q, 2C, 3-CH₃, propyl).

C₁₃H₂₇NO₂ (229.37 g/mol)

MS (ESI): 230 (M+1).

(RS)-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethyl)dimethylamin 39a**39a****Durchführung:**

10 g (34.92 mmol) (*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethylester **37** wurden in 15 ml Ethanol vorgelegt und mit 5.9 ml (115.24 mmol) Dimethylamin-Lösung (40 %ig in H₂O) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bis zur Trockene eingedampft. Der verbliebene Rückstand wurde im Membranpumpenvakuum destilliert (Übergangstemperatur: 70 °C/27 mbar).

Ausbeute: 3.08 g (55 % d. Th.)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

DC: R_f = 0.39 (MeOH/D 1:6)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 4.23 (quin, 1H, ³J=6.3 Hz, 4-CH); 4.07 (t, 1H, ³J=7.5 Hz, 5-CH₂'); 3.59 (t, 1H, ³J=7.5 Hz, 5-CH₂''); 2.53-2.32 (m, 2H, CH₂); 2.28 (s, 6H, CH₃, methyl); 1.41 (s, 3H, CH₃); 1.36 (s, 3H, CH₃).

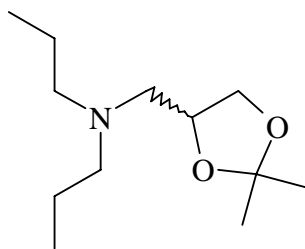
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 109.12 (s, 2-C); 73.97 (d, 4-CH); 68.37 (t, 5-CH₂); 62.61 (t, CH₂); 46.12 (q, 2C, CH₃, methyl); 26.88 (q, CH₃); 25.51 (q, CH₃).

C₈H₁₇NO₂ (159.23 g/mol)

MS (ESI): 160 (M+1), 102 ((M+1)-Propanol).

BRN: 105706

CAS: 72143-07-8

(*RS*)-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethyl)di-*n*-propylamin 39b**39b****Durchführung:**

20 g (69.84 mmol) (*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethylester **37** wurden in Ethanol vorgelegt und mit 31.6 ml (230.48 mmol) Di-*n*-propylamin versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bis zur Trockene eingedampft. Der verbliebene Rückstand wurde im Membranpumpenvakuum destilliert (Übergangstemperatur: 114 °C/24 mbar).

Ausbeute: 10.82 g (72 % d. Th.)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

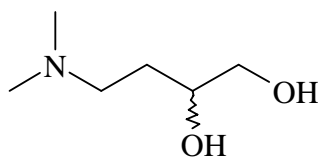
DC: $R_f = 0.43$ (MeOH/D 1:9)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 4.17$ (quin, 1H, $^3J=6.2$ Hz, 4-CH); 4.06 (t, 1H, $^3J=6.2$ Hz, 5- CH_2'); 3.64 (t, 1H, $^3J=6.7$ Hz, 5- CH_2''); 2.60-2.42 (m, 2H, CH_2); 2.39-2.36 (m, 4H, 1- CH_2 , propyl); 1.44-1.41 (m, 4H, 2- CH_2 , propyl); 1.40 (s, 3H, CH_3); 1.35 (s, 3H, CH_3); 0.85 (t, 6H, $^3J=7.3$ Hz, 3- CH_3 , propyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 108.87$ (s, 2-C); 74.67 (d, 4-CH); 68.79 (t, 5- CH_2); 57.53 (t, 2C, 1- CH_2 , propyl); 57.09 (t, CH_2); 26.93 (q, CH_3); 25.56 (q, CH_3); 20.28 (t, 2C, 2- CH_2 , propyl); 11.80 (q, 2C, 3- CH_3 , propyl).

$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ (215.34 g/mol)

MS (ESI): 216 (M+1), 158 ((M+1)-Propanol).

(*RS*)-4-Dimethylaminobutan-1,2-diol 40a**40a****Durchführung:**

Eine Lösung von 2.4 g (13.85 mmol) (*RS*)-[2-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethyl]-dimethylamin **38a** und 13.85 ml (27.7 mmol) 2N HCl in 15 ml Methanol wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde festes NaHCO₃ zugegeben, die Lösung filtriert und bis zur Trockene eingengt. Als Rückstand wurde das reine Produkt erhalten.

Ausbeute: 1.71 g (93 % d. Th.)

Aussehen: gelbes Öl

DC: R_f = 0.13 (MeOH/EtOAc 1:2), (DC-Platte mit 5%-Et₃N/Et₂O-Lösung imprägniert)

¹H-NMR (DMSO-d₆) (300 MHz): δ(ppm) = 4.14 (bs, 2H, Hydroxyprotonen) 3.48-3.43 (m, 1H, 2-CH); 3.31-3.20 (m, 2H, 1-CH₂); 2.43-2.35 (m, 2H, 4-CH₂); 2.18 (s, 6H, CH₃, methyl); 1.61-1.57 (m, 2H, 3-CH₂'); 1.40-1.36 (m, 2H, 3-CH₂'').

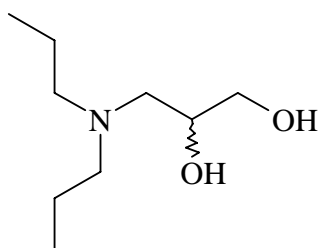
¹³C-NMR (DMSO-d₆) (50 MHz): δ(ppm) = 70.19 (d, 2-CH); 65.86 (t, 1-CH₂); 56.01 (t, 4-CH₂); 44.77 (q, 2C, CH₃, methyl); 30.77 (t, 3-CH₂).

C₆H₁₅NO₂ (133.19 g/mol)

MS (ESI): 134 (M+1).

BRN: 5916353

CAS: 74654-02-7

(RS)-3-Di-*n*-propylaminopropan-1,2-diol 41b**41b****Durchführung:**

11.14 g (51.75 mmol) (*RS*)-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethyl)di-*n*-propylamin **39b** wurde in einer Mischung von 51.75 ml 2N HCl und 50 ml Methanol vorgelegt und bis zur Klärung der Lösung bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit festem NaHCO₃ alkalisiert, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde in dest. H₂O aufgenommen und mehrfach mit Chloroform gewaschen. Die organischen Phasen wurden verworfen und die wässrige Phase erneut zur Trockene eingengt. Als Rückstand wurde das reine Produkt erhalten.

Ausbeute: 8.73 g (96 % d. Th.)

Aussehen: orangefarbenes Öl

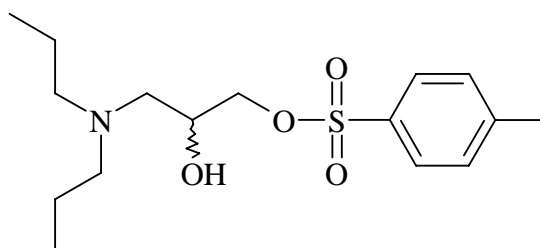
DC: R_f = 0.12 (MeOH/D 1:9)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 3.77-3.70 (m, 2H, 2-CH, 1-CH₂''); 3.51-3.47 (m, 1H, 1-CH₂''); 3.08 (bs, 2H, Hydroxyprotonen); 2.63-2.38 (m, 6H, 3-CH₂, 1-CH₂, propyl); 1.52-1.40 (m, 4H, 2-CH₂, propyl); 0.89 (t, 6H, ³J=7.3 Hz, 3-CH₃, propyl).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 67.26 (d, 2-CH); 64.87 (t, 1-CH₂); 56.85 (t, 2C, 1-CH₂, propyl); 56.33 (t, 3-CH₂); 20.21 (t, 2C, 2-CH₂, propyl); 11.70 (q, 2C, 3-CH₃, propyl).

C₉H₂₁NO₂ (175.27 g/mol)

MS (ESI): 176 (M+1).

(*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-3-di-*n*-propylamino-2-hydroxypropylester 43b**43b****Durchführung:**

Zu einer auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung von 3.05 g (17.4 mmol) (*RS*)-3-Di-*n*-propylaminopropan-1,2-diol **41b** in 20 ml abs. Dichlormethan wurde eine Mischung von 3.32 g (17.4 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in 4.9 ml (60.9 mmol) Pyridin getropft. Die Reaktionsmischung wurde 24 h bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt und zweimal mit 2N HCl gewaschen. Die organische Phase wurde nochmals mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Anschließend wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (100 g Kieselgel, Laufmittel: 1. D, 2. MeOH/D 1:100) gereinigt.

Ausbeute: 4.3 g (75 % d.Th.)

Aussehen: rötliches Öl

DC: $R_f = 0.28$ (MeOH/D 1:9)

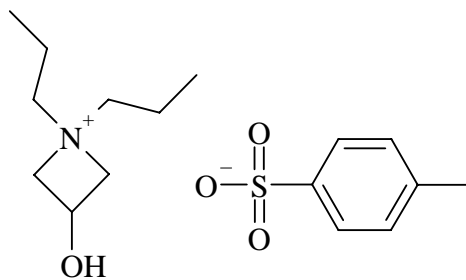
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.79$ (d, 2H, $^3J=8.1$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.38 (d, 2H, $^3J=8.1$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 5.96 (bs, 1H, Hydroxyproton); 4.45 (bs, 1H, 2-CH); 4.11-4.07 (m, 1H, 1-CH $_2$ '); 3.97-3.91 (m, 1H, 1-CH $_2$ ''); 3.25-3.06 (m, 6H, 3-CH $_2$, 1-CH $_2$, propyl); 2.47 (s, 3H, CH $_3$, tosyl); 1.91-1.78 (m, 4H, 2-CH $_2$, propyl); 1.00 (t, 6H, $^3J=7.3$ Hz, 3-CH $_3$, propyl).

$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_4\text{S}$ (329.46 g/mol)

MS (ESI): 330 (M+1).

Stabilität: Verbindung **43b** zersetzt sich relativ schnell, auch bei Lagerung unter $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, sowohl in Lösung, als auch in Substanz zu Verbindung **44**.

3-Hydroxy-1,1-di-*n*-propylazetidinium-toluol-4-sulfonat **44**

**44**

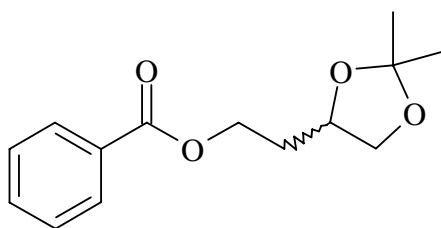
Aussehen: hochviskoses rötliches Öl

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.76$ (d, 2H, $^3J=8.0$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.17 (d, 2H, $^3J=8.0$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 6.53 (d, 1H, $^3J=5.6$ Hz, Hydroxyproton); 4.95-4.93 (m, 1H, 3-CH); 4.63-4.56 (m, 2H, CH_2); 4.33-4.27 (m, 2H, CH_2); 3.49-3.43 (m, 2H, 1- CH_2 , propyl); 3.27-3.22 (m, 2H, 1- CH_2 , propyl); 2.35 (s, 3H, CH_3 , tosyl); 1.59-1.45 (m, 4H, 2- CH_2 , propyl); 0.99-0.87 (m, 6H, 3- CH_3 , propyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 143.10$ (s, 4-C, tosyl); 139.62 (s, 1-C, tosyl); 128.70 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 125.86 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 71.90 (t, 2- CH_2 /4- CH_2); 62.48 (t, 1- CH_2 , propyl); 60.74 (t, 1- CH_2 , propyl); 59.16 (d, 3-CH); 21.24 (q, CH_3 , tosyl); 16.35 (t, 2- CH_2 , propyl); 16.00 (t, 2- CH_2 , propyl); 10.45 (q, 2C, 3- CH_3 , propyl).

$\text{C}_9\text{H}_{20}\text{NO} \cdot \text{C}_7\text{H}_7\text{O}_3\text{S}$ (329.46 g/mol)

MS (ESI): 158 (M-Tos).

(*RS*)-Benzoessäure-2-(2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethylester 49**49****Durchführung:**

Zu einer Lösung von 30 g (205 mmol) (*RS*)-2-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)-ethanol **34** und 21.5 ml (266.78 mmol) Pyridin in abs. Dichlormethan wurden 34.61 g (246.25 mmol) frisch destilliertes Benzoylchlorid so langsam zugetropft, dass die Innentemperatur unterhalb 35 °C lag. Die Reaktionsmischung wurde für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde auf 300 g Eiswasser gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (600 g Kieselgel, Laufmittel: 1. D/PE 1:1, 2. D) gereinigt.

Ausbeute: 48.1 g (94 % d. Th.)

Aussehen: farbloses Öl

DC: R_f = 0.45 (Et₂O/PE 1:5)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 8.03 (d, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.56 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.43 (t, 2H, ³J=7.5 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 4.51-4.37 (m, 3H, 1-CH₂); 4.29-4.25 (m, 1H, 4-CH); 4.29 (dd, 1H, ³J=6.0 Hz, 5-CH₂′); 3.64 (dd, 1H, ³J=7.5 Hz, 5-CH₂′′); 2.13-1.95 (m, 2H, 2-CH₂); 1.42 (s, 3H, CH₃); 1.36 (s, 3H, CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 166.44 (s, Bn-C(O)OR); 132.96 (d, 4-CH, benzoyl); 130.15 (s, 1-C, benzoyl); 129.52 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.36 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 108.95 (s, 2-C); 73.34 (d, 4-CH); 69.43 (t, 5-CH₂); 61.88 (t, 1-CH₂); 32.96 (t, 2-CH₂); 26.93 (q, CH₃); 25.66 (q, CH₃).

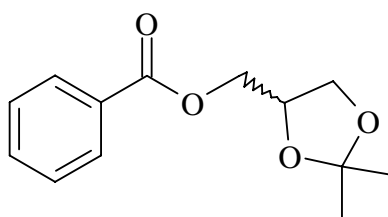
$C_{14}H_{16}O_4$ (250.30 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 67.18	H 7.25
	gef.	C 67.44	H 7.25

MS (ESI): 268 ((M+1)+H₂O), 251 (M+1), 193 ((M+1)-Propanol).

BRN: 4428175

CAS: 95598-71-3

(*RS*)-Benzoessäure-2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethylester 50**50****Durchführung:**

Zu einer Lösung von 20 g (151.33 mmol) (*RS*)-2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethanol **36** und 13.4 ml (166.46 mmol) Pyridin in 60 ml abs. Dichlormethan wurden 23.4 g (166.46 mmol) frisch destilliertes Benzoylchlorid so langsam getropft, dass die Innentemperatur unterhalb 35 °C lag. Die Reaktionsmischung wurde für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf 200 g Eiswasser gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde im Ölpumpenvakuum destilliert (Übergangstemperatur: 110-115 °C/2•10⁻² mbar).

Ausbeute: 32.3 g (90% d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 33-34 °C (Lit.^[170]: 34-35 °C)

DC: R_f = 0.18 (Et₂O/PE 1:5)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 8.03 (d, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.55 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.42 (t, 2H, ³J=7.5 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 4.46-4.30 (m, 3H, 4-CH/CH₂); 4.13 (dd, 1H, ³J=6.3 Hz, 5-CH₂'); 3.85 (dd, 1H, ³J=5.8 Hz, 5-CH₂' '); 1.46 (s, 3H, CH₃); 1.39 (s, 3H, CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 166.33 (s, Bn-C(O)OR); 133.12 (d, 4-CH, benzoyl); 129.78 (s, 1-C, benzoyl); 129.70 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.32 (d, 3-CH/

5-CH, benzoyl); 109.85 (s, 2-C); 73.68 (d, 4-CH); 66.41 (t, 5-CH₂); 65.02 (t, CH₂); 26.72 (q, CH₃); 25.37 (q, CH₃).

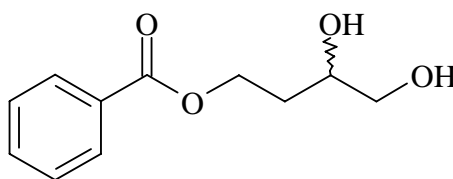
C₁₃H₁₆O₄ (236.26 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 66.09	H 6.83
	gef.	C 65.89	H 7.05

MS (ESI): 237 (M+1), 179 ((M+1)-Propanol), 105 ((M+1)-Propanol, Bz).

BRN: 84120

CAS: 3254-41-9

(*RS*)-Benzoessäure-3,4-dihydroxybutylester 51**51****Durchführung:**

15 g (59.93 mmol) (*RS*)-Benzoessäure-2-(2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethylester **49** wurden in 65 ml 0.1N HCl vorgelegt und bis zur Klärung der Lösung bei 60 °C Ölbadtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde nach dem Abkühlen mit 2N NaOH neutralisiert und einmal mit 50 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels VFC (40 g Kieselgel, Laufmittel: 1. Et₂O/PE 1:1, 2. Et₂O) gereinigt. Die wässrige Phase wurde mit festem NaCl gesättigt und vielfach mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Diethyletherphasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und ebenfalls bis zur Trockene eingengt. Als Rückstand wurde das reine Produkt erhalten.

Ausbeute: 11.13 g (88 % d. Th.)

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 57-59 °C (Lit.^[171]: 50-51 °C (Ethanol))

DC: R_f = 0.35 (Et₂O)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 8.01 (d, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.54 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.41 (t, 2H, ³J=7.6 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 4.64-4.55 (m, 1H, 1-CH₂'); 4.43-4.41 (m, 1H, 1-CH₂''); 3.88-3.83 (m, 1H, 3-CH); 3.70-3.65 (m, 1H, 4-CH₂'); 3.53-3.47 (m, 1H, 4-CH₂''); 2.91 (bs, 1H, Hydroxyproton); 2.24 (bs, 1H, Hydroxy-proton); 1.91-1.81 (m, 2H, 2-CH₂).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 167.05 (s, BnC(O)OR); 133.15 (d, 4-CH, benzoyl); 129.88 (s, 1-C, benzoyl); 129.59 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.41 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 68.89 (d, 3-CH); 66.58 (t, 4-CH₂); 61.61 (t, 1-CH₂); 32.46 (t, 2-CH₂).

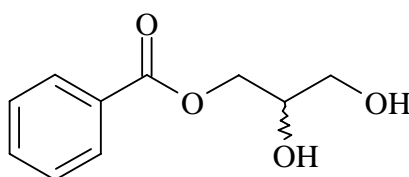
$C_{11}H_{14}O_4$ (210.23 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 62.85	H 6.71
	gef.	C 62.94	H 6.70

MS (ESI): 228 ((M+1)+H₂O), 211 (M+1), 193 ((M+1)-OH).

BRN: 4416653

CAS: 95672-78-9

(RS)-Benzoessäure-2,3-dihydroxypropylester 52**52****Durchführung:**

30 g (127 mmol) (RS)-Benzoessäure-2,2-dimethyl[1,3]dioxolan-4-ylmethylester **50** wurden in 180 ml 0.1N HCl vorgelegt und bis zur Klärung der Lösung bei 60 °C Ölbadtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde nach dem Abkühlen mit 2N NaOH neutralisiert und einmal mit 50 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels VFC (70 g Kieselgel, Laufmittel: 1. Et₂O/PE 1:1, 2. Et₂O) gereinigt. Die wässrige Phase wurde mit festem NaCl gesättigt und vielfach mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Diethyletherphasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Als Rückstand wurde das reine Produkt erhalten.

Ausbeute: 22.41 g (90 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 35-36 °C (Lit.^[152]: 35-36 °C)

DC: R_f = 0.20 (Et₂O)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 8.01 (d, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.55 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.41 (t, 2H, ³J=7.6 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 4.43-4.34 (m, 2H, 1-CH₂); 4.08-4.01 (m, 1H, 2-CH); 3.78-3.63 (m, 2H, 3-CH₂); 2.76 (bs, 2H, Hydroxyprotonen).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 166.98 (s, BnC(O)OR); 133.33 (d, 4-CH, benzoyl); 129.68 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 129.50 (s, 1-C, benzoyl); 128.43 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 70.31 (d, 2-CH); 65.66 (t, 3-CH₂); 63.39 (t, 1-CH₂).

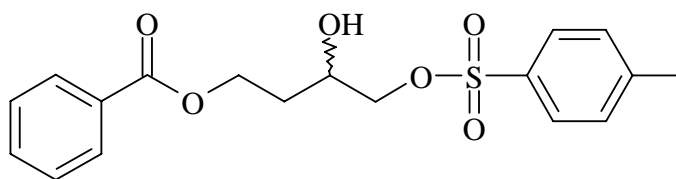
$C_{10}H_{12}O_4$ (196.20 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 61.22	H 6.16
	gef.	C 60.98	H 6.09

MS (ESI): 214 ((M+1)+H₂O), 197 (M+1), 179 ((M+1)-OH), 161 ((M+1)-2OH).

BRN: 2049387

CAS: 3376-59-8

(*RS*)-Benzoessäure-3-hydroxy-4-(toluol-4-sulfonyloxy)butylester 53**53****Durchführung:**

8 g (38.05 mmol) (*RS*)-Benzoessäure-3,4-dihydroxybutylester **51** wurden in 60 ml abs. Dichlormethan vorgelegt und auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Eine Lösung von 7.26 g (38.05 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid und 10.7 ml (133.17 mmol) Pyridin in 20 ml abs. Dichlormethan wurde langsam zutropft. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt und zweimal mit 2N HCl gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und anschließend bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (240 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/CH 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 10.23 g (74 % d. Th.)

Aussehen: farbloses Öl

DC: $R_f = 0.22$ (Et₂O/PE 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 8.01$ (d, 2H, $^3J=7.7$ Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.79 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.55 (t, 1H, $^3J=7.5$ Hz, 4-CH, benzoyl); 7.44 (t, 2H, $^3J=7.6$ Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 7.33 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.59-4.50 (m, 1H, 1-CH₂'); 4.42-4.39 (m, 1H, 1-CH₂'); 4.07-3.98 (m, 3H, 3-CH/4-CH₂); 2.61 (d, 1H, $^3J=4.1$ Hz, Hydroxyproton); 2.44 (s, 3H, CH₃); 2.05-1.80 (m, 2H, 2-CH₂).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 166.69$ (s, BnC(O)OR); 145.12 (s, 4-C, tosyl); 133.13 (d, 4-CH, benzoyl); 132.56 (s, 1-C, tosyl); 129.94 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 129.85 (s, 1-C, benzoyl); 129.57 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.41 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 127.94 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 73.49 (t, 4-CH₂); 66.49 (d, 3-CH); 60.99 (t, 1-CH₂); 32.15 (t, 2-CH₂); 21.61 (q, CH₃).

$C_{18}H_{20}O_6S$ (364.42 g/mol)

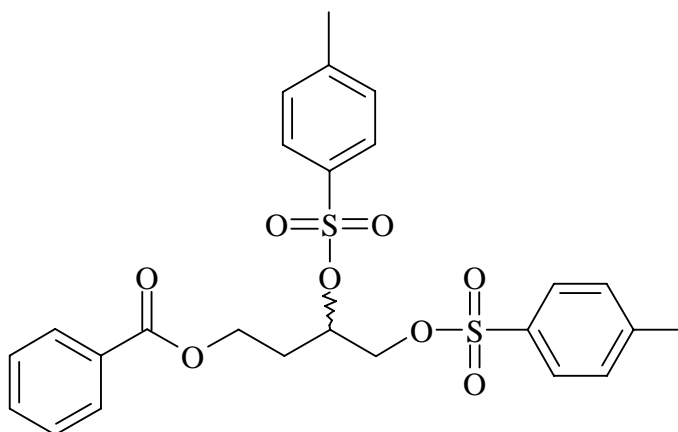
Elementaranalyse: ber. C 59.33 H 5.53
gef. C 59.54 H 5.76

MS (ESI): 365 (M+1), 346 ((M+1)-H₂O), 193 ((M+1)-Tos).

BRN: 4554697

CAS: 95598-72-4

(*RS*)-Benzoessäure-3,4-bis(toluol-4-sulfonyloxy)butylester 53a



53a

Ausbeute: 1.38 g (5 % d. Th.)

Aussehen: beiger Feststoff

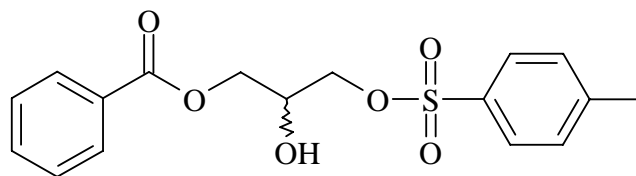
DC: $R_f = 0.44$ (Et₂O/PE 2:1)

Schmp.: 64-65 °C

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 7.97 (d, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.74 (d, 2H, ³J=8.2 Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.71 (d, 2H, ³J=8.2 Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.59 (t, 1H, ³J=7.3 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.44 (t, 2H, ³J=7.4 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 7.33 (d, 2H, ³J=8.2 Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 7.17 (d, 2H, ³J=8.2 Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.84-4.76 (m, 1H, 3-CH); 4.29-4.19 (m, 3H, 1-CH₂, 4-CH₂'); 4.05-3.97 (m, 1H, 4-CH₂''); 2.45 (s, 3H, CH₃); 2.28 (s, 3H, CH₃); 2.15-2.05 (m, 2H, 2-CH₂).

^{13}C -NMR (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 165.85$ (s, $\text{BnC}(\text{O})\text{OR}$); 145.27 (s, 2C, 4-C, tosyl); 133.15 (d, 4-CH, benzoyl); 132.69 (s, 1-C, tosyl); 132.21 (s, 1-C, tosyl); 129.91 (d, 2C, 2-CH/6-CH, tosyl); 129.63 (s, 1-C, benzoyl); 129.54 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.38 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 128.01 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 127.83 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 75.31 (d, 3-CH); 69.52 (t, 4- CH_2); 59.72 (t, 1- CH_2); 30.43 (t, 2- CH_2); 21.65 (q, 2C, CH_3).

$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{S}_2$ (518.61 g/mol)

(*RS*)-Benzoessäure-2-hydroxy-3-(toluol-4-sulfonyloxy)propylester 54**54****Durchführung:**

25 g (127.4 mmol) (*RS*)-Benzoessäure-2,3-dihydroxypropylester **52** wurden in 80 ml abs. Dichlormethan vorgelegt und auf -20 °C gekühlt. Eine Lösung von 24.3 g (127.4 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid und 22.3 ml (276.81 mmol) Pyridin in 20 ml abs. Dichlormethan wurde langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde für 12 h bei -20 °C gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt und zweimal mit 2N HCl gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und anschließend bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (300 g Kieselgel, Laufmittel: D) gereinigt.

Ausbeute: 29.01 g (65 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 48-50 °C (Lit.^[170]: 48-50 °C)

DC: R_f = 0.16 (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 7.96 (d, 2H, ³J=7.3 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.79 (d, 2H, ³J=8.3 Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.58 (t, 1H, ³J=7.6 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.43 (t, 2H, ³J=7.8 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 7.31 (d, 2H, ³J=8.3 Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.37 (d, 2H, ³J=4.8 Hz, 1-CH₂); 4.25-4.10 (m, 3H, 2-CH/3-CH₂); 2.40 (s, 3H, CH₃); 2.16 (bs, 1H, Hydroxyproton).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 166.48 (s, BnC(O)OR); 145.19 (s, 4-C, tosyl); 133.35 (d, 4-CH, benzoyl); 132.46 (s, 1-C, tosyl); 129.94 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 129.69 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 129.35 (s, 1-C, benzoyl); 128.42 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 127.97 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 70.06 (t, 3-CH₂); 68.01 (d, 2-CH); 64.86 (t, 1-CH₂); 21.57 (q, CH₃).

$C_{17}H_{18}O_6S$ (350.39 g/mol)

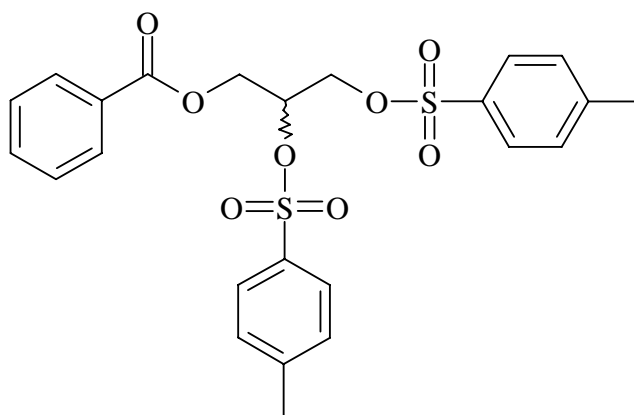
Elementaranalyse: ber. C 58.27 H 5.18
gef. C 58.41 H 5.29

MS (ESI): 368 ((M+1)+H₂O), 351 (M+1), 333 ((M+1)-H₂O), 179 ((M+1)-Tos).

BRN: 5300523

CAS: 74628-78-7

(RS)-Benzoessäure-2,3-bis(toluol-4-sulfonyloxy)propylester 54a



54a

Ausbeute: 4.5 g (7 % d. Th.)

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 105-106 °C (Lit.^[172]: 107-108 °C)

DC: $R_f = 0.38$ (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 7.85 (d, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.72 (d, 4H, ³J=8.1 Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.59 (t, 1H, ³J=7.5 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.41 (t, 2H, ³J=7.7 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 7.25 (d, 4H, ³J=8.1 Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 5.29 (quin, 1H, ³J=4.7 Hz, 2-CH); 4.26 (d, 4H, ³J=4.7 Hz, 1-CH₂/3-CH₂); 2.38 (s, 6H, CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 165.56 (s, BnC(O)OR); 145.40 (s, 2C, 4-C, tosyl); 133.39 (d, 4-CH, benzoyl); 131.99 (s, 2C, 1-C, tosyl); 130.00 (d, 4C, 2-CH/6-CH, tosyl); 129.73 (d, 2-CH/ 6-CH, benzoyl); 128.98 (s, 1-C, benzoyl); 128.36 (d, 3-CH/5-CH,

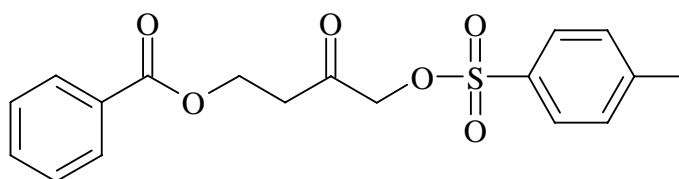
benzoyl); 127.91 (d, 4C, 3-CH/5-CH, tosyl); 75.33 (d, 2-CH); 66.89 (t, 3-CH₂); 62.15 (t, 1-CH₂); 21.64 (q, 2C, CH₃).

C₂₄H₂₄O₈S₂ (504.58 g/mol)

MS (ESI): 522 ((M+1)+H₂O), 333 ((M+1)-OTs).

BRN: 4607861

CAS: 80106-06-5

Benzoessäure-3-oxo-4-(toluol-4-sulfonyloxy)butylester 55**55****Durchführung:**

Zu einer Lösung von 10 g (27.44 mmol) (*RS*)-Benzoessäure-3-hydroxy-4-(toluol-4-sulfonyloxy)butylester **53** in 100 ml Diethylether wurde langsam Chromschwefelsäure (10.8 g (36.24 mmol) $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 8 ml konz. H_2SO_4 , 54.4 ml dest. H_2O) getropft. Die Zugabe erfolgte in vier Portionen in einem Abstand von 6 h. Die Reaktionsmischung wurde insgesamt 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt und anschließend die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Diethyletherphasen wurden mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (200 g Kieselgel, Laufmittel: D/PE 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 8.35 g (84 % d. Th.)**Aussehen:** farbloser Feststoff**Schmp.:** 65-66 °C**DC:** $R_f = 0.35$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 2:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.98$ (d, 2H, $^3J=7.2$ Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.80 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.54 (t, 1H, $^3J=7.6$ Hz, 4-CH, benzoyl); 7.42 (t, 2H, $^3J=7.8$ Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 7.36 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.57 (t, 2H, $^3J=6.4$ Hz, 1- CH_2); 4.55 (s, 1H, 4- CH_2); 3.00 (t, 2H, $^3J=6.4$ Hz, 2- CH_2); 2.44 (s, 3H, CH_3).

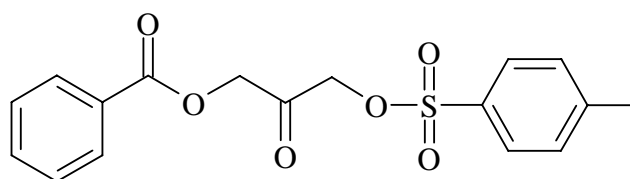
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 200.69$ (s, 3-C); 166.27 (s, $\text{Bn}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{OR}$); 145.64 (s, 4-C, tosyl); 133.14 (d, 4-CH, benzoyl); 132.16 (s, 1-C, tosyl); 130.08 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 129.72 (s, 1-C, benzoyl); 129.61 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.31 (d, 3-CH/5-CH,

benzoyl); 128.08 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 71.85 (t, 4-CH₂); 58.89 (t, 1-CH₂); 38.29 (t, 2-CH₂); 21.68 (q, CH₃).

C₁₈H₁₈O₆ S (362.40 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 59.66	H 5.01
	gef.	C 59.86	H 5.12

MS (ESI): 380 ((M+1)+H₂O), 363 (M+1), 241 ((M+1)-Bz).

Benzoessäure-2-oxo-3-(toluol-4-sulfonyloxy)propylester 56**56****Durchführung:**

Zu einer Lösung von 10 g (28.54 mmol) (*RS*)-Benzoessäure-2-hydroxy-3-(toluol-4-sulfonyloxy)propylester **54** in 100 ml Diethylether wurde langsam Chromschwefelsäure (11.2 g (37.68 mmol) $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 8.28 ml konz. H_2SO_4 , 56.5 ml dest. H_2O) getropft. Die Zugabe erfolgte in vier Portionen in einem Abstand von 6 h. Die Reaktionsmischung wurde insgesamt 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt und anschließend die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Diethyletherphasen wurden mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (140 g Kieselgel, Laufmittel: D/PE 50:1) gereinigt.

Ausbeute: 5.00 g (50 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 83-85 °C

DC: $R_f = 0.25$ (D)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 8.05$ (d, 2H, $^3J=7.2$ Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.83 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.60 (t, 1H, $^3J=7.4$ Hz, 4-CH, benzoyl); 7.46 (t, 2H, $^3J=7.6$ Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 7.38 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 5.08 (s, 2H, 1- CH_2); 4.69 (s, 2H, 3- CH_2); 2.46 (s, 3H; CH_3).

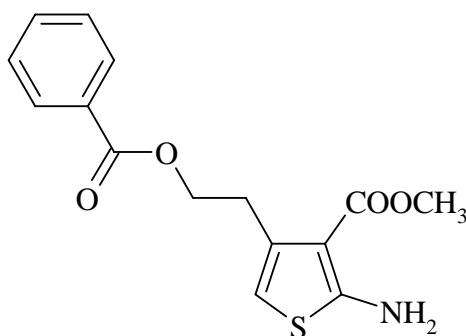
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 196.74$ (s, 2-C); 165.65 (s, $\text{Bn}\underline{\text{C}}(\text{O})\text{OR}$); 145.83 (s, 4-C, tosyl); 133.63 (d, 4-CH, benzoyl); 131.85 (s, 1-C, tosyl); 130.17 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 129.93 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.77 (s, 1-C, benzoyl); 128.53 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 128.14 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 70.69 (t, 3- CH_2); 66.76 (t, 1- CH_2); 21.71 (q, CH_3).

$C_{17}H_{16}O_6S$ (348.38 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 58.61	H 4.63
	gef.	C 58.84	H 4.78

MS (ESI): 366 ((M+1)+H₂O), 349 (M+1).

BRN: 8850881

2-Amino-4-(2-benzoyloxyethyl)thiophen-3-carbonsäuremethylester 47**47****Durchführung:****Variante A:**

Zur einer Lösung von 1.1 g (3.03 mmol) Benzoesäure-3-oxo-4-(toluol-4-sulfonyloxy)butylester **55** und 300 mg (3.03 mmol) Methylcyanacetat in 30 ml abs. Methanol wurden 0.42 ml (3.03 mmol) Triethylamin gegeben und die Reaktionsmischung auf -10 °C gekühlt. 728 mg (3.03 mmol) Na₂S•9H₂O wurden portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei -10 °C und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in dest. H₂O aufgenommen und die wässrige Phase fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels VFC (2 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/CH 1:6).

Ausbeute: 19 mg (2 % d. Th.)

Variante B:

Zu einer Lösung von 100 mg (0.27 mmol) Benzoesäure-3-oxo-4-(toluol-4-sulfonyloxy)butylester **55** und 27 mg (0.27 mmol) Methylcyanacetat in 5 ml abs. Methanol wurden 27 µl (0.27 mmol) Triethylamin gegeben und die Reaktionsmischung auf -10 °C gekühlt. 21 mg (0.27 mmol) Na₂S wurden portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei -10 °C und weitere 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in dest. H₂O aufgenommen und die wässrige Phase fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über

Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Die Reinigung erfolgte mittels VFC (10 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/CH 1:6).

Ausbeute: 2 mg (2 % d. Th.)

Variante C:

Eine Lösung von 27 mg (0.27 mmol) Methylcyanacetat und 65 mg (0.27 mmol) Na₂S•9H₂O in 5 ml abs. Methanol wurde auf 0 °C gekühlt und langsam mit 100 mg (0.27 mmol) Benzoessäure-3-oxo-4-(toluol-4-sulfonyloxy)butylester **55** in 5 ml abs. Methanol gelöst, versetzt. Die Lösung wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in dest. H₂O aufgenommen und die wässrige Phase fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Die Rückstand wurde mittels VFC (10 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/CH 1:6) gereinigt.

Ausbeute: 6 mg (7 % d. Th.)

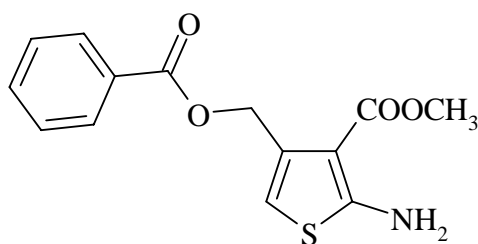
Aussehen: gelbes Öl

DC: R_f = 0.43 (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 8.01 (d, 2H, ³J=7.3 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.55 (t, 1H, ³J=7.6 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.42 (t, 2H, ³J=7.7 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 6.08 (bs, 2H, NH₂); 6.00 (s, 1H, 5-CH); 4.51 (t, 2H, ³J=6.6 Hz, 2-CH₂); 3.83 (s, 3H, OCH₃); 3.17 (t, 2H, ³J=6.6 Hz, 1-CH₂).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 166.52 (s, 2-C₁); 165.99 (s, PhC(O)OR); 164.53 (s, C(O)OCH₃); 136.37 (s, 4-C); 132.79 (d, 4-CH, benzoyl); 130.50 (s, 1-C, benzoyl); 129.55 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.30 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 105.74 (s, 3-C); 104.57 (d, 5-CH); 64.50 (t, 2-CH₂); 50.87 (q, OCH₃); 31.20 (t, 1-CH₂).

C₁₅H₁₅NO₄S (305.36 g/mol)

2-Amino-4-benzoyloxymethylthiophen-3-carbonsäuremethylester 48**48****Durchführung:****Variante A:**

569 mg (5.74 mmol) Methylcyanacetat und 1.40 g (5.74 mmol) $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ wurden in 20 ml abs. Methanol vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. 2 g (5.74 mmol) Benzoessäure-2-oxo-3-(toluol-4-sulfonyloxy)propylester **56** wurde in 20 ml abs. Methanol gelöst und zu der Lösung gegeben. Anschließend wurden 0.76 ml (5.74 mmol) Triethylamin zugetropft und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in dest. H_2O aufgenommen und die wässrige Phase fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (10 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:2) gereinigt.

Ausbeute: **48:** 237 mg (14 % d. Th.)

48a: 63 mg (6 % d. Th.)

Variante B:

569 mg (5.74 mmol) Methylcyanacetat und 1.4 g (5.74 mmol) $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ wurden in 20 ml abs. Methanol vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. 2 g (5.74 mmol) Benzoessäure-2-oxo-3-(toluol-4-sulfonyloxy)propylester **56** wurden in 20 ml abs. Methanol gelöst und langsam zu der Lösung getropft, anschließend wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in dest. H_2O aufgenommen und die wässrige Phase fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (15 g Kieselgel, Laufmittel: EtOAc/CH 1:6) gereinigt.

Ausbeute: **48:** 440 mg (26 % d. Th.)

48a: 73 mg (7 % d. Th.)

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 130-132 °C

DC: $R_f = 0.53$ (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 8.05 (d, 2H, ³J=7.3 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.54 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.42 (t, 2H, ³J=7.6 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 6.24 (s, 1H, 5-CH); 6.11 (bs, 2H, NH₂); 5.39 (s, 2H, CH₂); 3.77 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 166.24 (s, 2-C₁); 165.82 (s, Bn-C(O)OR); 164.68 (s, C(O)OCH₃); 134.69 (s, 4-C); 132.97 (d, 4-CH, benzoyl); 130.21 (s, 1-C, benzoyl); 129.60 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.38 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 105.24 (d, 5-CH); 104.56 (s, 3-C); 63.40 (t, CH₂); 51.05 (q, OCH₃).

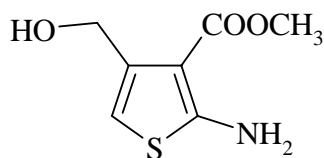
C₁₄H₁₃NO₄S (291.33 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 57.72	H 4.50	N 4.81
	gef.	C 57.65	H 4.66	N 4.65

MS (ESI): 292 (M+1), 188 ((M+1)-Bz), 170 ((M+1)-OBz).

BRN: 8844767

2-Amino-4-hydroxymethylthiophen-3-carbonsäuremethylester 48a



48a

Aussehen: gelbe Kristalle

Schmp.: 117-119 °C

DC: $R_f = 0.15$ (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 6.24 (s, 1H, 5-CH); 6.11 (bs, 2H, NH₂); 4.52 (d, 2H, ³J=5.5 Hz, CH₂); 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.33 (t, 1H, ³J=5.5 Hz, Hydroxyproton).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 165.67 (s, 2-C₁); 164.72 (s, C(O)OCH₃); 140.52 (s, 4-C); 105.68 (d, 5-CH); 104.82 (s, 3-C); 61.47 (t, CH₂); 51.38 (q, OCH₃).

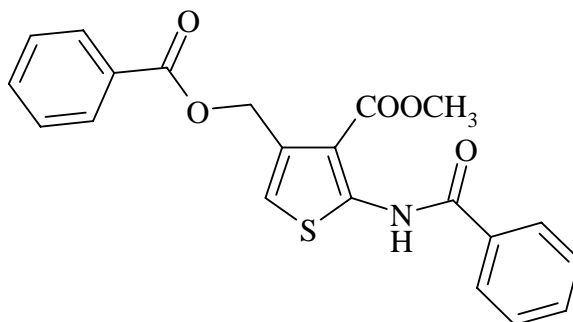
C₇H₉NO₃S (187.22 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 44.91	H 4.85	N 7.48
	gef.	C 45.16	H 4.86	N 7.21

MS (ESI): 188 (M+1), 170 ((M+1)-OH).

BRN: 8833325

2-Benzoylamino-4-benzoyloxymethylthiophen-3-carbonsäuremethylester 57



57

Durchführung:

Zu einer Lösung von 100 mg (0.53 mmol) 2-Amino-4-hydroxymethylthiophen-3-carbonsäuremethylester **48a** und 0.06 ml (0.7 mmol) Pyridin in 5 ml abs. Dichlormethan wurden 0.07 ml (0.64 mmol) frisch destilliertes Benzoylchlorid getropft. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 15 g Eiswasser gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingedunstet. Der Rückstand wurde mittels VFC (5 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 80 mg (38 % d. Th.)

Aussehen: farblose Nadeln

Schmp.: 165-166 °C

DC: R_f = 0.55 (Et₂O/PE 2:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 12.32 (bs, 1H, NH); 8.11 (d, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 8.04 (d, 2H, ³J=6.9 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.64-7.44 (m, 6H, 4-CH/3-CH/5-CH, benzoyl); 6.88 (s, 1H, 5-CH); 5.54 (s, 2H, CH₂); 3.93 (s, 3H, OCH₃).

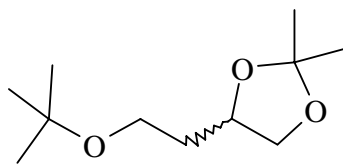
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 166.62 (s, C(O)OCH₃); 165.63 (s, BnC(O)OR); 163.88 (s, BnC(O)OR); 151.80 (s, 2-C); 133.24 (s, 4-C); 133.13 (d, 4-CH, benzoyl); 132.80 (d, 4-CH, benzoyl); 132.00 (s, 1-C, benzoyl); 130.05 (s, 1-C, benzoyl); 129.63 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 129.03 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.46 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl);

127.48 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 114.83 (d, 5-CH); 110.58 (s, 3-C); 62.97 (t, CH₂); 52.07 (q, OCH₃).

C₂₁H₁₇NO₅S (395.44 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 63.79	H 4.33	N 3.54
	gef.	C 63.67	H 4.17	N 3.50

MS (ESI): 413 ((M+1)+NH₃), 396 (M+1).

(RS)-4-(2-[*tert*-Butoxy]ethyl)-2,2-dimethyl[1,3]dioxolan 58**58****Durchführung:**

Zu einer Lösung von 10 g (68.41 mmol) (*RS*)-2-(2,2-Dimethyl[1,3]dioxolan-4-yl)ethanol **34** und 16.44 g (75.25 mmol) 2,2,2-Trichloracetimid säure-*tert*-butylester in abs. Cyclohexan wurden schnell 1.5 ml (20 μ l/mmol Ester) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ gegeben und die Reaktionsmischung für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde festes NaHCO_3 zugegeben und weitere 10 min gerührt. Trichloracetamid und NaHCO_3 wurden abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (200 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:15) gereinigt.

Ausbeute: 8.87 g (64 % d. Th.)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

DC: $R_f = 0.69$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:1)

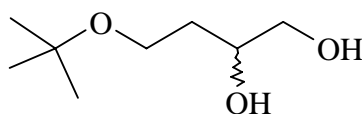
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 4.16$ (quin, 1H, $^3J=6.4$ Hz, 4-CH); 4.05 (dd, 1H, $^3J=5.9$ Hz, 5- CH_2'); 3.55 (dd, 1H, $^3J=7.8$ Hz, 5- CH_2''); 3.48-3.39 (m, 2H, 2- CH_2); 1.90-1.72 (m, 2H, 1- CH_2); 1.39 (s, 3H, CH_3); 1.35 (s, 3H, CH_3); 1.17 (s, 9H, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 108.29$ (s, 2-C); 74.25 (d, 4-CH); 72.71 (s, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$); 69.80 (t, 5- CH_2); 58.28 (t, 2- CH_2); 34.61 (t, 1- CH_2); 27.48 (q, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$); 26.94 (q, CH_3); 25.81 (q, CH_3).

$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$ (211.30 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 62.53	H 10.97
	gef.	C 62.38	H 10.57

MS (ESI): 202 (M+1).

(*RS*)-4-*tert*-Butoxybutan-1,2-diol 59**59****Durchführung:**

9.23 g (45.62 mmol) (*RS*)-4-(2-[*tert*-Butoxy]ethyl)-2,2-dimethyl[1,3]dioxolan **58** wurden in 32 ml 0.1N HCl vorgelegt und bis zur Klärung der Lösung bei Raumtemperatur heftig gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 2N NaOH neutralisiert und einmal mit 30 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels VFC (40 g Kieselgel, Laufmittel: 1. Et₂O/PE 1:1, 2. Et₂O) gereinigt. Die wässrige Phase wurde mit festem NaCl gesättigt und vielfach mit Diethylether extrahiert. Die Diethyletherphasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und ebenfalls bis zur Trockene eingengt. Als Rückstand wurde das reine Produkt erhalten.

Ausbeute: 6.35 g (86 % d. Th.)

Aussehen: farblose Flüssigkeit

DC: R_f = 0.24 (Et₂O)

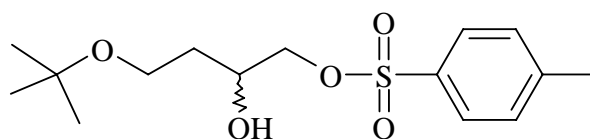
¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 3.88-3.87 (m, 1H, 4-CH); 3.67 (d, 1H, ³J=2.8 Hz, Hydroxyproton (2-CH)); 3.63-3.51 (m, 4H, 1-CH₂/4-CH₂); 2.54 (t, 1H, ³J=5.9 Hz, Hydroxyproton (1-CH₂)); 1.79-1.68 (m, 2H, 3-CH₂); 1.20 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 73.64 (s, C(CH₃)₃); 72.16 (d, 4-CH); 66.58 (t, 1-CH₂); 60.03 (t, 4-CH₂); 33.12 (t, 3-CH₂); 27.36 (q, C(CH₃)₃).

C₈H₁₈O₃•0.3 H₂O (167.64 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 57.32	H 11.18
	gef.	C 57.43	H 11.20

MS (ESI): 180 ((M+1)+H₂O), 163 (M+1); 107 ((M+1)-*tert*-butyl).

(*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-4-*tert*-butoxy-2-hydroxybutylester 60**60****Durchführung:**

6.33 g (39 mmol) (*RS*)-4-*tert*-Butoxybutan-1,2-diol **59** wurden in 35 ml abs. Dichlormethan vorgelegt und auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Eine Lösung von 7.44 g (39 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid und 11 ml (136.5 mmol) Pyridin in 10 ml abs. Dichlormethan wurde langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt und zweimal mit 2N HCl gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und anschließend bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (140 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}$ 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 5.48 g (44 % d. Th.)

Aussehen: gelblicher Feststoff

Schmp.: 30-31 $^{\circ}\text{C}$

DC: $R_f = 0.19$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 2:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.79$ (d, 2H, $^3J=8.0$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.34 (d, 2H, $^3J=8.0$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.02-3.94 (m, 3H, 2-CH/1-CH₂); 3.61-3.47 (m, 2H, 4-CH₂); 3.18 (bs, 1H, Hydroxyproton); 2.44 (s, 3H, CH₃); 1.75-1.67 (m, 2H, 3-CH₂); 1.16 (s, 9H, C(CH₃)₃).

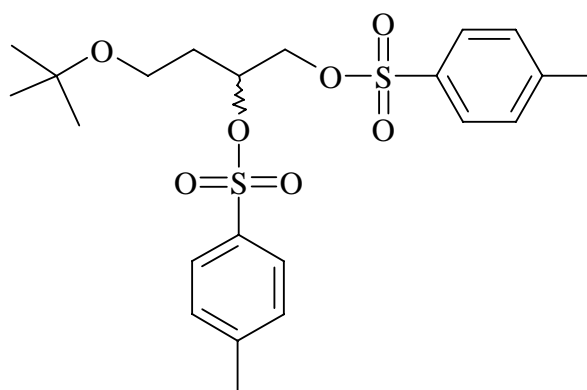
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 144.87$ (s, 4-C, tosyl); 132.76 (s, 1-C, tosyl); 129.85 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 127.98 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 73.74 (s, C(CH₃)₃); 72.81 (t, 1-CH₂); 69.46 (d, 2-CH); 59.74 (t, 4-CH₂); 32.47 (t, 3-CH₂); 27.30 (q, C(CH₃)₃); 21.61 (q, CH₃).

C₁₅H₂₄O₅S (316.42 g/mol)

Elementaranalyse: ber. C 56.94 H 7.65
gef. C 56.67 H 7.47

MS (ESI): 317 (M+1), 261 ((M+1)-*tert*-butyl).

(*RS*)-1,2-Bistosyl-4-*tert*-butoxybutan 60a



60a

Ausbeute: 878 mg (5 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

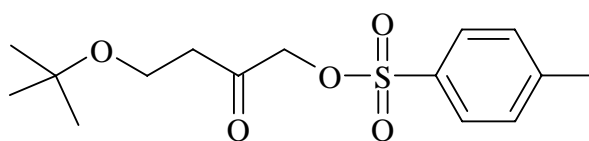
Schmp.: 74-75 °C

DC: R_f = 0.31 (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 7.74 (d, 2H, ³J=8.2 Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.67 (d, 2H, ³J=8.2 Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.31 (d, 4H, ³J=8.2 Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.80-4.77 (m, 1H, 2-CH); 4.17-4.01 (m, 2H, 1-CH₂); 3.32-3.24 (m, 2H, 4-CH₂); 2.44 (s, 6H, CH₃); 1.89-1.83 (m, 2H, 3-CH₂); 1.06 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 144.86 (s, 2C, 4-C, tosyl); 133.59 (s, 1-C, tosyl); 132.48 (s, 1-C, tosyl); 129.76 (d, 4C, 2-CH/6-CH, tosyl); 127.96 (d, 4C, 3-CH/5-CH, tosyl); 77.19 (d, 2-CH); 72.94 (s, C(CH₃)₃); 70.06 (t, 1-CH₂); 56.39 (t, 4-CH₂); 32.26 (t, 3-CH₂); 27.29 (q, C(CH₃)₃); 21.62 (q, CH₃).

C₂₂H₃₀O₇S₂ (470.61 g/mol)

Toluol-4-sulfonsäure-4-*tert*-butoxy-2-oxobutylester 61**61****Durchführung:**

Zu einer Lösung von 7.66 g (24.22 mmol) (*RS*)-Toluol-4-sulfonsäure-4-*tert*-butoxy-2-hydroxybutylester **60** in 100 ml Diethylether wurde langsam Chromschwefelsäure (9.52 g (31.96 mmol) $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 7 ml konz. H_2SO_4 , 48 ml dest. H_2O) getropft. Die Zugabe erfolgte in vier Portionen in einem Abstand von 6 h. Die Reaktionsmischung wurde insgesamt 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Diethyletherphasen wurden mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (80 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}$ 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 4.82 g (63 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 35-36 °C

DC: $R_f = 0.31$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:1)

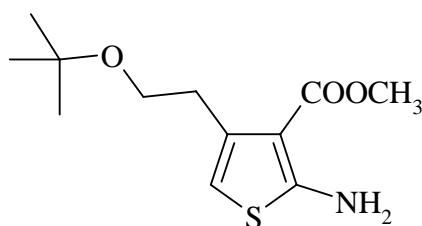
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 7.81$ (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.35 (d, 2H, $^3J=8.2$ Hz, 2-CH/6-CH, tosyl); 4.60 (s, 2H, 1- CH_2); 3.58 (t, 2H, $^3J=6.1$ Hz, 4- CH_2); 2.62 (t, 2H, $^3J=6.1$ Hz, 3- CH_2); 2.44 (s, 3H, CH_3); 1.12 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 201.62$ (s, 2-C); 145.24 (s, 4-C, tosyl); 132.60 (s, 1-C, tosyl); 129.90 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 128.08 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 73.23 (s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 72.38 (t, 1- CH_2); 56.64 (t, 4- CH_2); 40.22 (t, 3- CH_2); 27.26 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 21.62 (q, CH_3).

$C_{15}H_{22}O_5S$ (314.40 g/mol)

Elementaranalyse: ber. C 57.30 H 7.05
gef. C 57.27 H 6.99

MS (ESI): 332 ((M+1)+H₂O), 315 (M+1), 258 ((M+1)-*tert*-butyl), 241 ((M+1)-O-*tert*-butyl), 173 ((M+1)-Ts), 155 ((M+1)-O-*tert*-butyl/-Ts).

2-Amino-4-[2-(*tert*-butoxy)ethyl]thiophen-3-carbonsäuremethylester 62**62****Durchführung:**

Eine Lösung von 1.37 g (13.90 mmol) Methylcyanacetat und 3.34 g (13.90 mmol) $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ in 130 ml abs. Methanol wurde auf 0 °C gekühlt und langsam mit 4.37 g (13.90 mmol) Toluol-4-sulfonsäure-4-*tert*-butoxy-2-oxobutylester **61** in 100 ml abs. Methanol gelöst, versetzt. Die Lösung wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in dest. H_2O aufgenommen und die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (70 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}$ 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 1.30 g (36 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 90-91 °C

DC: $R_f = 0.46$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 6.06$ (bs, 2H, NH_2); 5.95 (s, 1H, 5-CH); 3.82 (s, 3H, OCH_3); 3.51 (t, 2H, $^3J=7.3$ Hz, 2- CH_2); 2.92 (t, 2H, $^3J=7.3$ Hz, 1- CH_2); 1.18 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

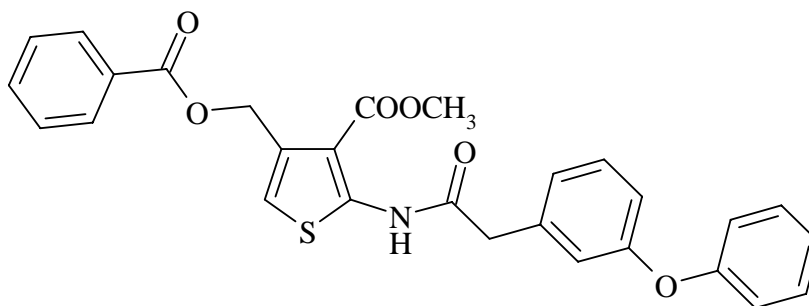
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 166.30$ (s, 2-C,); 164.35 (s, $\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$); 137.61 (s, 4-C); 105.97 (s, 3-C); 103.82 (d, 5-CH); 72.76 (s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 61.82 (t, 2- CH_2); 50.77 (q, OCH_3); 33.13 (t, 1- CH_2); 27.55 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

$C_{12}H_{19}NO_3S$ (257.35 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 56.01	H 7.44	N 5.44
	gef.	C 56.13	H 7.44	N 5.56

MS (MALDI): 257 (M).

4-Benzoyloxymethyl-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 63



63

Durchführung:

1.54 g (5.29 mmol) 2-Amino-4-benzoyloxymethylthiophen-3-carbonsäuremethylester **48** wurden mit 1.21 g (5.29 mmol) 3-Phenoxyphenylessigsäure und 1.62 g (6.35 mmol) 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid in 40 ml abs. Dichlormethan vorgelegt und 1.75 ml (12.7 mmol) Triethylamin unter Rühren langsam zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde unter Stickstoffatmosphäre für 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt, zweimal mit 2N HCl und einmal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (80 g Kieselgel, Laufmittel: D/PE 10:1) gereinigt.

Ausbeute: 3.04 g (78 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 157-159 °C

DC: R_f = 0.30 (D)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.14 (bs, 1H, NH); 8.05 (d, 2H, ³J=7.1 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.55 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.43 (t, 2H, ³J=7.7 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 7.40-7.28 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.08-6.98 (m, 6H, phenoxyphenyl); 6.79 (s, 1H, 5-CH); 5.45 (s, 2H, CH₂); 3.79 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.77 (s, 3H, OCH₃).

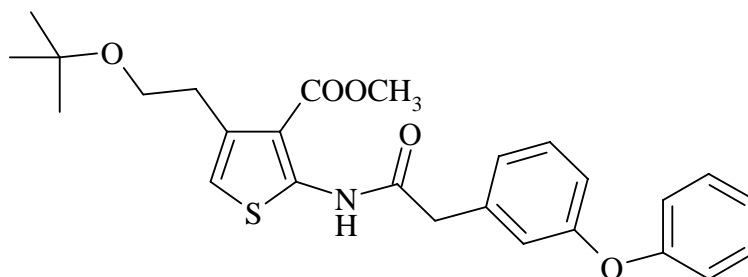
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 168.19$ (s, NH-C(O)); 166.14 (s, C(O)OCH_3); 165.63 (s, BnC(O)OR); 157.99 (s, 3-C, phenyl); 156.89 (s, C-OPhR , phenoxy); 150.65 (s, 2-C); 134.96 (s, 1-C, phenyl); 133.16 (d, 4-CH, benzoyl); 133.11 (s, 4-C); 130.49 (d, 5-CH, phenyl); 130.03 (s, 1-C, benzoyl); 129.75 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 129.61 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.45 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 124.31 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.49 (d, 6-CH, phenyl); 119.96 (d, 4-CH, phenyl); 119.12 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.07 (d, 2-CH, phenyl); 114.77 (d, 5-CH); 110.58 (s, 3-C); 62.90 (t, CH_2); 51.81 (q, OCH_3); 43.64 (t, NH-C(O)CH_2).

$\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{NO}_6\text{S}$ (501.56 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 67.05	H 4.62	N 2.79
	gef.	C 66.81	H 4.62	N 2.87

MS (ESI): 519 ((M+1)+NH₃), 502 (M+1), 380 ((M+1)-OBz).

4-[2-(*tert*-Butoxy)ethyl]-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 64



64

Durchführung:

1.85 g (7.19 mmol) 2-Amino-4-[2-(*tert*-butoxy)ethyl]thiophen-3-carbonsäuremethylester **62** wurden mit 164 g (7.19 mmol) 3-Phenoxyphenylessigsäure und 2.2 g (8.63 mmol) 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid in 40 ml abs. Dichlormethan vorgelegt und 2.4 ml (17.26 mmol) Triethylamin unter Rühren langsam zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde unter Stickstoffatmosphäre für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt, zweimal mit 2N HCl und einmal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (100 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/CH 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 3.13 g (93 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 95-97 °C

DC: R_f = 0.14 (D)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.19 (bs, 1H, NH); 7.38-7.30 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.13-6.95 (m, 6H, phenoxyphenyl); 6.49 (s, 1H, 5-CH); 3.81 (s, 3H, OCH₃); 3.78 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.50 (t, 2H, ³J=7.2 Hz, 2-CH₂); 2.98 (t, 2H, ³J=7.2 Hz, 1-CH₂); 1.17 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 167.92 (s, NH-C(O)); 166.26 (s, C(O)OCH₃); 157.93 (s, 3-C, phenyl); 156.93 (s, C-OPhR, phenoxy); 149.94 (s, 2-C); 135.98 (s, 1-C,

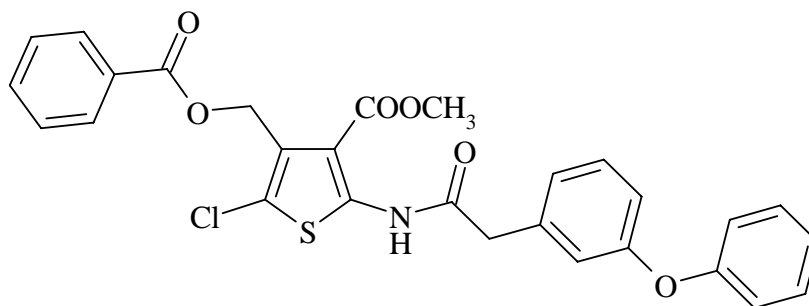
phenyl); 135.21 (s, 4-C); 130.39 (d, 5-CH, phenyl); 129.73 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.31 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.44 (d, 6-CH, phenyl); 119.97 (d, 4-CH, phenyl); 119.09 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 117.97 (d, 2-CH, phenyl); 113.68 (d, 5-CH); 111.90 (s, 3-C); 72.81 (s, C(CH₃)₃); 61.68 (t, 2-CH₂); 51.48 (q, OCH₃); 43.64 (t, NH-C(O)CH₂); 32.40 (t, 1-CH₂); 27.52 (q, C(CH₃)₃).

C₂₆H₂₉NO₅S (467.59 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 66.79	H 6.25	N 3.00
	gef.	C 66.77	H 6.28	N 3.25

MS (ESI): 485 ((M+1)+NH₃), 468 (M+1), 412 ((M+1)-*tert*-butyl).

4-Benzoyloxymethyl-5-chlor-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 65



65

Durchführung:

1.9 g (3.8 mmol) 4-Benzoyloxymethyl-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **63** und 507 mg (3.8 mmol) NCS wurden in abs. Chloroform gelöst und unter Argonatmosphäre bei 50 °C Ölbadtemperatur für 45 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Dichlormethan verdünnt und dreimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (45 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/PE 1:5) gereinigt.

Ausbeute: 2.00 g (98 % d. Th.)

Aussehen: farblose Nadeln

Schmp.: 73-75 °C

DC: R_f = 0.38 (D)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.23 (bs, 1H, NH); 7.98 (d, 2H, ³J=7.0 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.54 (t, 1H, ³J=7.4 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.43-7.29 (m, 5H, 3-CH/5-CH, benzoyl, phenoxyphenyl); 7.10-6.98 (m, 6H, phenoxyphenyl); 5.46 (s, 2H, CH₂); 3.81 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.70 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 168.49 (s, NH-C(O)); 166.25 (s, C(O)OCH₃); 165.02 (s, Bn-C(O)OR); 158.09 (s, 3-C, phenyl); 156.83 (s, C-OPhR, phenoxy); 147.05 (s, 2-C); 134.60 (s, 1-C, phenyl); 132.96 (d, 4-CH, benzoyl); 130.58 (d, 5-CH, phenyl); 130.00 (s, 1-C, benzoyl); 129.75 (d, 2C, m-C, phenoxy); 129.57 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl);

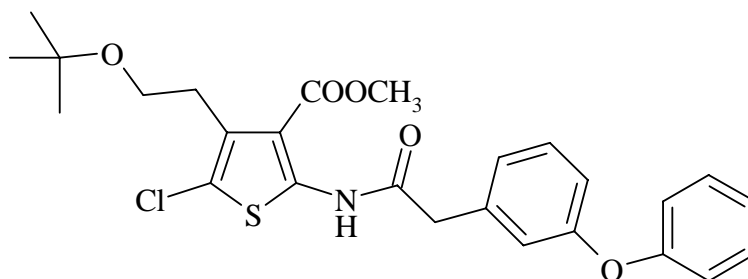
128.35 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 127.94 (s, 4-C); 124.24 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.78 (s, 5-C); 123.54 (d, 6-CH, phenyl); 119.89 (d, 4-CH, phenyl); 119.12 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.19 (d, 2-CH, phenyl); 110.45 (s, 3-C); 58.55 (t, CH₂); 51.94 (q, OCH₃); 43.35 (t, NH-C(O)CH₂).

C₂₈H₂₂ClNO₆S (536.01 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 62.74	H 4.14	N 2.61
	gef.	C 62.61	H 4.27	N 2.78

MS (ESI): 537 (M+1(³⁷Cl)), 535 (M+1(³⁵Cl)).

4-[2-(*tert*-Butoxy)ethyl]-5-chlor-2-[(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 66



66

Durchführung:

2.04 g (4.36 mmol) **64** und 528 mg (4.36 mmol) NCS wurden in 50 ml abs. Chloroform gelöst und unter Argonatmosphäre bei 50 °C Ölbadtemperatur für 96 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Dichlormethan verdünnt und dreimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (70 g Kieselgel, Laufmittel: D/PE 1:5) gereinigt.

Ausbeute: 2.01 g (92 % d. Th.)

Aussehen: gelbes Öl

DC: R_f = 0.26 (D)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.21 (bs, 1H, NH); 7.39-7.30 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.13-6.97 (m, 6H, phenoxyphenyl); 3.81 (s, 3H, OCH₃); 3.78 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.37 (s, 2H, ³J=7.7 Hz, 2-CH₂); 3.03 (t, 2H, ³J=7.7 Hz, 1-CH₂); 1.15 (s, 9H, C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 168.17 (s, NH-C(O)); 165.54 (s, C(O)OCH₃); 158.05 (s, 3-C, phenyl); 156.87 (s, C-OPhR, phenoxy); 146.55 (s, 2-C); 134.85 (s, 1-C, phenyl); 131.32 (s, 4-C); 130.51 (d, 5-CH, phenyl); 129.77 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.26 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.53 (d, 6-CH, phenyl); 119.90 (d, 4-CH, phenyl); 119.33 (s, 5-C); 119.14 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.09 (d, 2-CH, phenyl); 110.93 (s, 3-C); 72.94 (s,

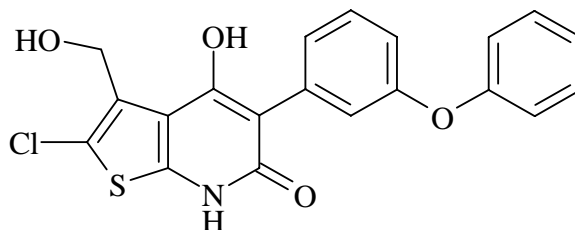
$\underline{C}(\text{CH}_3)_3$; 60.78 (t, 2- CH_2); 51.72 (q, OCH_3); 43.43 (t, $\text{NH-C(O)}\underline{\text{CH}_2}$); 29.54 (t, 1- CH_2); 27.48 (q, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$).

$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{ClNO}_5\text{S}$ (502.03 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 62.20	H 5.62	N 2.79
	gef.	C 62.30	H 5.83	N 2.83

MS (ESI): 504 ($\text{M}+1(^{37}\text{Cl})$), 502 ($\text{M}+1(^{35}\text{Cl})$), 448 ($(\text{M}+1(^{37}\text{Cl}))\text{-tert-butyl}$), $(\text{M}+1(^{35}\text{Cl}))\text{-tert-butyl}$).

**2-Chlor-4-hydroxy -3-hydroxymethyl -5-(3-phenoxyphenyl)-7H-thieno-
[2,3-*b*]pyridin-6-on 46**



46

Durchführung:

Eine Lösung von 3.11 g (5.8 mmol) 4-Benzoyloxymethyl-5-chlor-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **65** in 60 ml abs. THF wurde unter Stickstoffatmosphäre auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und 9.57 ml (19.14 mmol) LDA (2M in THF) zugetropft. Die Lösung wurde 72 h unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft, der Rückstand wurde in dest. H_2O aufgenommen und zweimal mit Diethylether extrahiert. Anschließend wurde die wässrige Phase mit 2N HCl angesäuert und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten Ethylacetatphasen wurden zweimal mit gesättigter Na_2CO_3 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (20 g Kieselgel, Laufmittel: MeOH/D 1:30) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend in Diethylether digeriert.

Ausbeute: 20 mg (1 % d. Th.)

Aussehen: beiger Feststoff

Schmp.: $>230\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Zersetzung)

DC: $R_f = 0.33$ (MeOH/D 1:9)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 11.63$ (bs, 1H, NH); 7.39-7.32 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.03-6.89 (m, 6H, phenoxyphenyl); 4.74 (s, 2H, CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 161.48$ (s, 6-C); 157.65 (s, 4-C); 156.77 (s, 3-C, phenyl); 155.71 (s, $\underline{\text{C}}$ -OPhR, phenoxy); 135.15 (s, 1-C, phenyl); 130.67 (s, 3-C); 129.89 (d, 5-CH, phenyl); 128.82 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 126.22 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.13 (d,

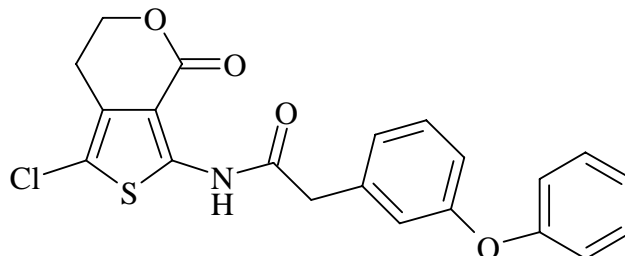
6-CH, phenyl); 121.23 (d, 4-CH, phenyl); 118.34 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 116.81 (d, 2-CH, phenyl); 116.08 (s, 5-C); 114.73 (s, 2-C); 107.62 (s, 3a-C); 56.41 (t, CH₂).

C₂₀H₁₄ClNO₄S (399.86 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 60.08	H 3.53	N 3.50
	gef.	C 59.96	H 3.77	N 3.49

MS (ESI): 400 (M-1(³⁷Cl)), 398 (M-1(³⁵Cl)).

N*-(1-Chlor-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,4-*c*]pyranyl)-3-(3-phenoxyphenyl)acetamid **67*



67

Durchführung:

Zu einer auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Lösung von 1.12 g (2.23 mmol) 4-[2-(*tert*-Butoxy)ethyl]-5-chlor-2-[(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **66** in 20 ml abs. THF wurden 2.45 ml (4.91 mmol) LDA (2M in THF) getropft. Die Reaktionsmischung wurde für 18 h unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft, der Rückstand wurde in dest. H_2O aufgenommen, mit 2N HCl angesäuert und zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (20 g Kieselgel, Laufmittel: $\text{Et}_2\text{O}/\text{Hex}$ 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 34 mg (4 % d. Th.)

Aussehen: farbloses Öl

DC: $R_f = 0.45$ (MeOH/D 1:9)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 11.44$ (bs, 1H, NH); 7.37-7.31 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.15-6.94 (m, 6H, phenoxyphenyl); 3.84 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.67 (t, 3H, 6-CH₂); 3.38 (t, 7-CH₂).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 165.56$ (s, NH-C(O)); 165.42 (s, 4-C); 157.98 (s, 3-C, phenyl); 156.79 (s, C-OPhR, phenoxy); 146.00 (s, 3-C); 137.63 (s, 1-C, phenyl); 131.43 (s, 7a-C); 130.64 (d, 5-CH, phenyl); 129.76 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 123.55 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.15 (d, 6-CH, phenyl); 119.10 (d, 4-CH, phenyl); 118.16 (d, 2C, *o*-C,

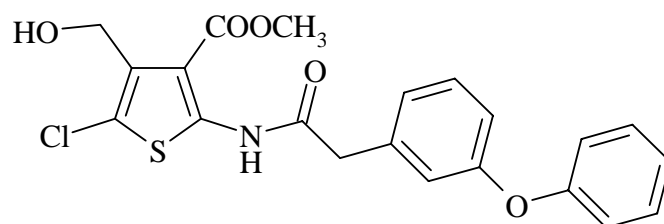
phenoxy); 118.33 (d, 2-CH, phenyl); 111.29 (s, 1-C); 110.53 (s, 3a-C); 51.78 (t, NH-C(O)CH₂); 31.37 (t, 6-CH₂); 29.54 (t, 7-CH₂).

C₂₁H₁₆ClNO₄S (413.87 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 60.94	H 3.90	N 3.38
	gef.	C 60.71	H 4.16	N 3.28

MS (ESI): 415 (M+1(³⁷Cl)), 413 (M+1(³⁵Cl)).

5-Chlor-4-hydroxymethyl-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 68



68

Durchführung:

1.72 g (3.2 mmol) 4-Benzoyloxymethyl-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **65** wurde mit 442 mg (3.2 mmol) K_2CO_3 in einer Mischung aus 60 ml Methanol und 7 ml dest. H_2O für 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf 150 ml dest. H_2O gegossen und dreimal mit ausreichend Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (40 g Kieselgel, Laufmittel: D) gereinigt.

Ausbeute: 91 mg (7 % d. Th.)

Aussehen: gelber Feststoff

Schmp.: 96-97°C

DC: $R_f = 0.43$ (Et_2O/D 1:9)

1H -NMR ($CDCl_3$) (300 MHz): δ (ppm) = 10.64 (bs, 1H, NH); 7.41-7.34 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.15-7.00 (m, 6H, phenoxyphenyl); 4.69 (d, 2H, $^3J=6.9$ Hz, CH_2); 3.83 (s, 2H, $NH-C(O)CH_2$); 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.00 (t, 1H, $^3J=6.9$ Hz, Hydroxyproton).

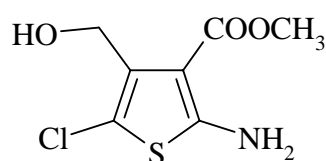
^{13}C -NMR ($CDCl_3$) (50 MHz): δ (ppm) = 168.21 (s, $NH-C(O)$); 164.37 (s, $C(O)OCH_3$); 158.31 (s, 3-C, phenyl); 156.57 (s, $C-OPhR$, phenoxy); 146.76 (s, 2-C); 134.63 (s, 1-C, phenyl); 133.43 (s, 4-C); 130.67 (d, 5-CH, phenyl); 129.85 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.26 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.78 (d, 6-CH, phenyl); 120.96 (s, 5-C); 119.80 (d, 4-CH, phenyl); 119.22 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.08 (d, 2-CH, phenyl); 110.14 (s, 3-C); 56.81 (t, CH_2); 52.14 (q, OCH_3); 43.37 (t, $NH-C(O)CH_2$).

$C_{21}H_{18}ClNO_5S \cdot 0.37 C_6H_{12}$ (436.04 g/mol)

Elementaranalyse: ber. C 60.23 H 4.88 N 3.20
gef. C 59.93 H 5.13 N 3.43

MS (ESI): 432 (M-1(^{37}Cl)), 430 (M-1(^{35}Cl)).

2-Amino-5-chlor-4-hydroxymethylthiophen-3-carbonsäuremethylester 68a



68a

Ausbeute: 137 mg (19 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: > 88 °C (Zersetzung)

DC: $R_f = 0.21$ (Et₂O/D 1:9)

1H -NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 5.94 (bs, 2H, NH₂); 4.59 (d, 2H, $^3J=7.3$ Hz, CH₂); 3.90 (s, 3H, OCH₃); 3.53 (t, 1H, $^3J=7.3$ Hz, Hydroxyproton).

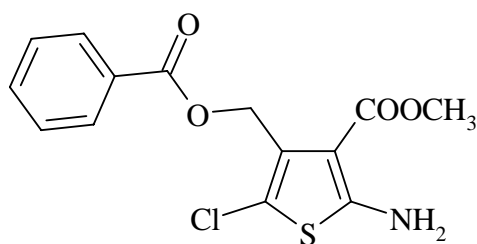
^{13}C -NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 165.03 (s, C(O)OCH₃); 135.05 (s, 2-C); 129.88 (s, 4-C); 110.40 (s, 3-C); 104.29 (s, 5-C); 57.23 (t, CH₂); 51.62 (q, OCH₃).

$C_7H_8ClNO_3S \cdot 0.17 C_6H_{12}$ (236.39 g/mol)

Elementaranalyse: ber. C 40.90 H 4.31 N 5.93
gef. C 40.67 H 4.22 N 5.87

MS (ESI): 224 (M+1(^{37}Cl)), 222 (M+1(^{35}Cl)), 206, 204 (M+1)-H₂O).

2-Amino-4-benzoyloxymethyl-5-chlorthiophen-3-carbonsäuremethylester 68b



68b

Ausbeute: 83 mg (8 % d. Th.)

Aussehen: hellgelber Feststoff

Schmp.: 124-125 °C

DC: $R_f = 0.69$ (Et₂O/D 1:9)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 8.03 (d, 2H, ³J=7.1 Hz, 2-CH/6-CH, benzoyl); 7.55 (t, 1H, ³J=7.3 Hz, 4-CH, benzoyl); 7.43 (t, 2H, ³J=7.6 Hz, 3-CH/5-CH, benzoyl); 6.21 (bs, 2H, NH₂); 5.40 (s, 2H, CH₂); 3.71 (s, 3H, OCH₃).

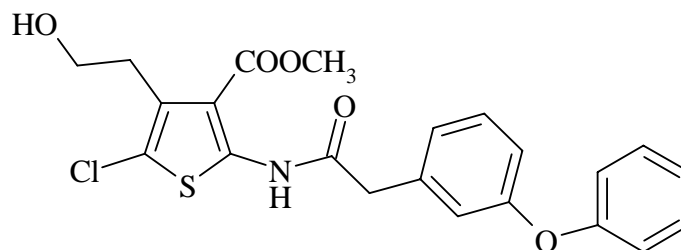
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 166.41 (s, C(O)OCH₃); 165.19 (s, PhC(O)OR); 161.09 (s, 2-C); 132.84 (d, 4-CH, benzoyl); 130.22 (s, 1-C, benzoyl); 129.76 (s, 4-C); 129.59 (d, 2-CH/6-CH, benzoyl); 128.30 (d, 3-CH/5-CH, benzoyl); 113.45 (s, 3-C); 104.35 (s, 5-C); 59.07 (t, CH₂); 51.12 (q, OCH₃).

C₁₄H₁₂ClNO₄S•0.2 C₆H₁₂ (342.60 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 53.29	H 4.24	N 4.09
	gef.	C 53.31	H 4.23	N 4.38

MS (ESI): 326 (M-1(³⁷Cl)), 324 (M-1(³⁵Cl)).

5-Chlor-4-(2-hydroxyethyl)-2-[(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 69



69

Durchführung:

1.64 g (3.27 mmol) 4-[2-(*tert*-Butoxy)ethyl]-5-chlor-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]-thiophen-3-carbonsäuremethylester **66** wurde in 50 ml abs. Toluol vorgelegt, mit 1.8 ml (12.43 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ versetzt und für 1.5 h unter Luftausschluss bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit Diethylether verdünnt und zweimal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und bis zur Kristallisation eingengt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mehrfach mit einer Mischung von $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 1:10 gewaschen.

Ausbeute: 1.15 g (79 % d. Th.)

Aussehen: farblose Kristalle

Schmp.: 138-139 °C

DC: $R_f = 0.17$ ($\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$ 4:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (300 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 11.02$ (bs, 1H, NH); 7.36-7.31 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.12-6.98 (m, 6H, phenoxyphenyl); 3.79 (s, 2H, NH-C(O)CH_2); 3.77 (s, 3H, OCH_3); 3.74 (t, 2H, $^3J=6.7$ Hz, 2- CH_2); 3.10 (t, 2H, $^3J=6.7$ Hz, 1- CH_2).

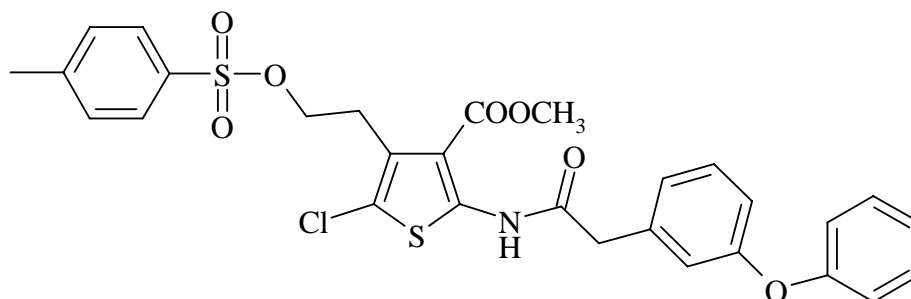
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) (50 MHz): $\delta(\text{ppm}) = 168.18$ (s, NH-C(O)); 165.11 (s, C(O)OCH_3); 158.15 (s, 3-C, phenyl); 156.77 (s, C-OPhR , phenoxy); 146.72 (s, 2-C); 134.79 (s, 1-C, phenyl); 131.07 (s, 4-C); 130.57 (d, 5-CH, phenyl); 129.80 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.25 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.63 (d, 6-CH, phenyl); 119.87 (d, 4-CH, phenyl); 119.57 (s, 5-C); 119.17 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.08 (d, 2-CH, phenyl); 110.72 (s, 3-C); 62.20 (t, 2- CH_2); 51.75 (q, OCH_3); 43.61 (t, NH-C(O)CH_2); 31.16 (t, 1- CH_2).

$C_{22}H_{20}ClNO_5S$ (445.93 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 59.26	H 4.52	N 3.14
	gef.	C 59.46	H 4.58	N 3.19

MS (MALDI): 469 (M+Na).

**5-Chlor-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]-4-[2-(toluol-4-sulfonyloxy)ethyl]-
thiophen-3-carbonsäuremethylester 71**



71

Durchführung:

Zu einer Lösung von 1.09 g (2.44 mmol) 5-Chlor-4-(2-hydroxyethyl)-2-[(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **69**, 6 mg (48 μ mol) DMAP und 1.01 ml (7.32 mmol) Triethylamin in 60 ml abs. Dichlormethan wurden 698 mg (3.66 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in 40 ml abs. Dichlormethan getropft. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h unter Feuchtigkeitsausschluss bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit Dichlormethan verdünnt, einmal mit 2N HCl, einmal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und einmal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (35 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/CH 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 1.26 g (86 % d. Th.)

Aussehen: hochviskoses farbloses Öl

DC: R_f = 0.31 (Et₂O/PE 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ (ppm) = 11.12 (bs, 1H, NH); 7.67 (d, 2H, ³J=8.3 Hz, 3-CH/5-CH, tosyl); 7.36-7.23 (m, 5H, 2-CH/6-CH, tosyl, phenoxyphenyl); 7.07-6.98 (m, 6H, phenoxyphenyl); 4.10 (t, 2H, ³J=7.1 Hz, 2-CH₂); 3.78 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.76 (s, 3H, OCH₃); 3.16 (t, 2H, ³J=7.1 Hz, 1-CH₂), 2.39 (s, 3H, CH₃).

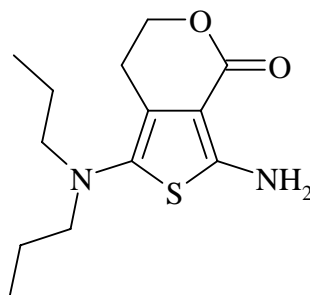
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ (ppm) = 168.26 (s, NH-C(O)); 164.89 (s, C(O)OCH₃); 158.14 (s, 3-C, phenyl); 156.79 (s, C-OPhR, phenoxy); 146.99 (s, 2-C); 144.60 (s, 4-C, tosyl); 134.66 (s, 1-C, phenyl); 133.13 (s, 1-C, tosyl); 130.59 (d, 5-CH, phenyl); 129.80 (d,

2C, *m*-C, phenoxy); 129.64 (d, 2-CH/6-CH, tosyl); 128.35 (s, 4-C); 127.72 (d, 3-CH/5-CH, tosyl); 124.26 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.62 (d, 6-CH, phenyl); 120.58 (s, 5-C); 119.83 (d, 4-CH, phenyl); 119.17 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.14 (d, 2-CH, phenyl); 110.34 (s, 3-C); 68.50 (t, 2-CH₂); 51.86 (q, OCH₃); 43.40 (t, NH-C(O)CH₂); 27.68 (t, 1-CH₂), 21.57 (q, CH₃).

C₂₉H₂₆ClNO₇S₂•0.6 C₆H₁₂ (650.61 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 60.18	H 5.14	N 2.15
	gef.	C 60.34	H 5.14	N 2.21

MS (MALDI): 623 (M+Na), 600 (M).

3-Amino-1-dipropylamino-6,7-dihydrothieno[3,4-c]pyran-4-on 74**74****Durchführung:**

Eine Suspension von 1.28 g (2.13 mmol) 5-Chlor-2-[2-(3-phenoxyphenyl)acetylamino]-4-[2-(toluol-4-sulfonyloxy)ethyl]thiophen-3-carbonsäuremethylester **71** und 1.3 ml (9.38 mmol) Di-*n*-propylamin in 50 ml Methanol wurde für 18 h zum Sieden erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mit 2N HCl extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit 2N NaOH alkalisiert und mehrfach mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels VFC (1 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/CH 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 40 mg (7 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

DC: R_f = 0.21 (D)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 6.08 (bs, 2H, NH₂); 4.32 (t, 2H, ³J=5.9 Hz, 6-CH₂); 2.76 (t, 2H, ³J=5.9 Hz, 7-CH₂); 2.68 (t, 4H, ³J=7.3 Hz, 1-CH₂, propyl); 1.48-1.33 (m, 4H, 2-CH₂, propyl); 0.89 (t, 6H, ³J=7.4 Hz, 3-CH₃, propyl).

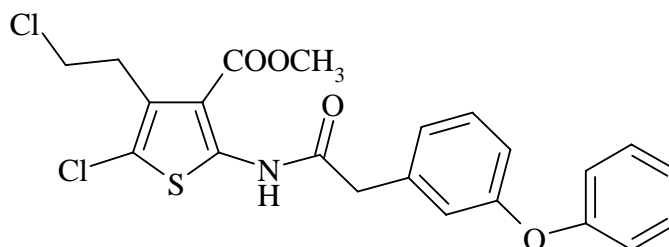
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 165.59 (s, 4-C); 161.49 (s, 3-C); 133.34 (s, 7a-C); 127.26 (s, 3a-C); 99.01 (s, 1-C); 68.14 (t, 6-CH₂); 60.07 (t, 1-CH₂, propyl); 24.58 (t, 7-CH₂); 21.21 (t, 2-CH₂, propyl); 11.55 (q, 3-CH₃, propyl).

$C_{13}H_{20}N_2O_2S \cdot 0.3 C_6H_{12}$ (293.63 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 60.54	H 8.10	N 9.54
	gef.	C 60.42	H 8.08	N 9.40

MS (ESI): 269 (M+1).

5-Chlor-4-(2-chlorethyl)-2-[(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester 75



75

Durchführung:

318 mg (0.71 mmol) 5-Chlor-4-(2-hydroxyethyl)-2-[(3-phenoxyphenyl)acetylamino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **69** wurden mit 0.09 ml (0.85 mmol) Tetrachlorkohlenstoff in 10 ml Dichlormethan vorgelegt. Eine Lösung von 224 mg (0.85 mmol) Triphenylphosphin in 5 ml Dichlormethan wurde bei 0 °C langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde für 36 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung bis zur Trockene eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels VFC (6 g Kieselgel, Laufmittel: Et₂O/CH 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 165 mg (51 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

DC: R_f = 0.40 (Et₂O/PE 1:2)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.14 (bs, 1H, NH); 7.38-7.32 (m, 3H, phenoxyphenyl); 7.13-6.99 (m, 6H, phenoxyphenyl); 3.83 (s, 3H, OCH₃); 3.81 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.58 (t, 2H, ³J=7.7 Hz, 2-CH₂); 3.28 (t, 2H, ³J=7.7 Hz, 1-CH₂).

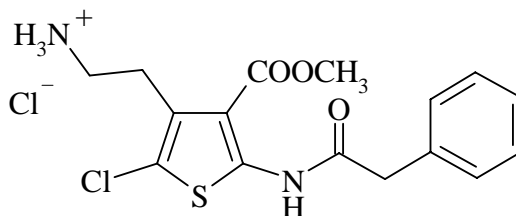
¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 168.26 (s, NH-C(O)); 164.92 (s, C(O)OCH₃); 158.12 (s, 3-C, phenyl); 156.79 (s, C-OPhR, phenoxy); 146.97 (s, 2-C); 134.70 (s, 1-C, phenyl); 130.55 (s, 4-C); 130.34 (d, 5-CH, phenyl); 129.77 (d, 2C, *m*-C, phenoxy); 124.23 (d, 1C, *p*-C, phenoxy); 123.59 (d, 6-CH, phenyl); 120.34 (s, 5-C); 119.85 (d, 4-CH, phenyl); 119.15 (d, 2C, *o*-C, phenoxy); 118.10 (d, 2-CH, phenyl); 110.29 (s, 3-C); 51.83 (q, OCH₃); 43.39 (t, NH-C(O)CH₂); 42.68 (t, 2-CH₂); 31.10 (t, 1-CH₂).

$C_{22}H_{19}Cl_2NO_4S$ (464.37 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 56.90	H 4.12	N 3.02
	gef.	C 57.11	H 4.35	N 3.11

MS (ESI): 466 (M-1(^{37}Cl)), 464 (M-1($^{35/37}Cl$)), 462 (M-1(^{35}Cl)).

4-[(2-Amino)ethyl]-5-chlor-2-[(phenylacetyl)amino]thiophen-3-carbonsäuremethylesterhydrochlorid 76



76

Durchführung:

Eine Lösung von 280 mg (0.62 mmol) 4-[[2-(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]ethyl]-5-chlor-2-[(phenylacetyl)amino]thiophen-3-carbonsäuremethylester **12b** und 1.65 ml (4.96 mmol) 3N HCl in 2 ml Ethylacetat wurde für 36 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde bis zur Trockene eingengt. Der entstandene Feststoff wurde mehrfach in Methanol aufgenommen und noch vorhandene Essigsäure koevaporiert. Anschließend wurde das Produkt in einer Isopropanol/Diethylether-Mischung 2:1 für 2 h ausgerührt, filtriert und getrocknet.

Ausbeute: 216 mg (89 % d. Th.)

Aussehen: grünlicher Feststoff

Schmp.: > 190 °C (Zersetzung)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆) (300 MHz): δ(ppm) = 11.03 (bs, 1H, NH); 8.14 (bs, 3H, NH₃⁺); 7.39-7.27 (m, 5H, phenyl); 4.03 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.79 (s, 3H, OCH₃); 3.08-3.03 (m, 2H, 2-CH₂), 2.84-2.80 (m, 2H, 1-CH₂).

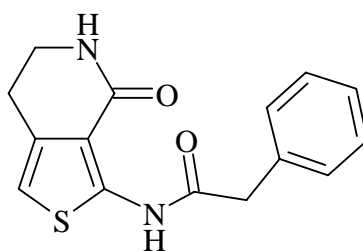
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆) (50 MHz): δ(ppm) = 169.28 (s, NH-C(O)); 163.68 (s, C(O)OCH₃); 146.68 (s, 2-C); 134.02 (s, 1-C, phenyl); 130.08 (s, 4-C); 129.05 (d, 3-CH/5-CH, phenyl); 128.76 (d, 2-CH/6-CH, phenyl); 127.28 (d, 4-CH, phenyl); 118.23 (s, 5-C); 110.70 (s, 3-C); 52.21 (q, OCH₃); 42.04 (t, NH-C(O)CH₂); 38.08 (t, 2-CH₂); 25.59 (t, 1-CH₂).

$C_{16}H_{18}Cl_2N_2O_5S \cdot 0.5 H_3CCOOH$ (419.33 g/mol)

Elementaranalyse:

ber.	C	48.69	H	4.81	N	6.68
gef.	C	48.64	H	4.73	N	6.66

MS (ESI): 354 ((M+1(^{37}Cl))-HCl), 353 ((M+1(^{35}Cl))-HCl).

N-(4-Oxo-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,4-c]pyridinyl)-3-phenylacetamid 78**78****Durchführung:**

Eine Suspension von 2.39 g (6.14 mmol) 4-[(2-Amino)ethyl]-5-chlor-2-[(phenylacetyl)-amino]thiophen-3-carbonsäuremethylesterhydrochlorid **76**, 1.4 ml (19.03 mmol) Propionaldehyd und 745 mg 10% Pd/C-Katalysator in 60 ml abs. Methanol wurde unter Rühren bei Raumtemperatur und einem Druck von 3 bar für 24 h im Autoklaven hydriert. Anschließend wurde der Katalysator über Hyflo abfiltriert, gründlich mit abs. Methanol gewaschen und die Lösung bis zur Trockene eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde in dest. H₂O aufgenommen, mit gesättigter Na₂CO₃-Lösung alkalisiert und dann mehrmals mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit dest. H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde mittels VFC (150 g Kieselgel, Laufmittel: MeOH/D 1:40) gereinigt. Das erhaltene Produkt wurde zur vollständigen Reinigung nochmals in Diethylether digeriert.

Ausbeute: 1.50 g (85 % d. Th.)

Aussehen: farbloser Feststoff

Schmp.: 169-170 °C

DC: R_f = 0.43 (MeOH/D 1:9)

¹H-NMR (CDCl₃) (300 MHz): δ(ppm) = 11.12 (bs, 1H, NH); 7.45-7.32 (m, 5H, phenyl); 6.42 (s, 1H, 1-CH); 5.69 (bs, 1H, NH); 3.83 (s, 2H, NH-C(O)CH₂); 3.51-3.43 (m, 2H, 6-CH₂), 2.87-2.83 (m, 2H, 7-CH₂).

¹³C-NMR (CDCl₃) (50 MHz): δ(ppm) = 168.26 (s, NH-C(O)); 166.33 (s, 4-C); 146.68 (s, 3-C); 133.47 (s, 7a-C); 133.02 (s, 1-C, phenyl); 129.56 (d, 3-CH/5-CH, phenyl); 129.07 (d,

2-CH/6-CH, phenyl); 127.65 (d, 4-CH, phenyl); 112.20 (s, 3a-C); 109.71 (d, 1-CH); 43.64 (t, NH-C(O)CH₂); 41.41 (t, 6-CH₂); 24.99 (t, 7-CH₂).

C₁₅H₁₄N₂O₂S (286.36 g/mol)

Elementaranalyse:	ber.	C 62.92	H 4.93	N 9.78
	gef.	C 62.74	H 5.03	N 9.72

MS (ESI): 287 (M+1).

Anhang

13 Abkürzungsverzeichnis

abs.	absolut
AC	Adenylatcyclase
ACh	Acetylcholin
ADHD	Attention-Deficit Hyperactivity Disorder
AMPA	2-Amino-3-(3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-yl)propionat
AS	Aminosäure(n)
ATP	Adenosintriphosphat
B	Bindungsstelle
B _M	maximale Anzahl der Bindungsstellen
B _S	spezifische Bindung
B _U	unspezifische Bindung
ber.	berechnet
BF ₃ •Et ₂ O	Bortrifluoridethyletherat
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BL	Ligand-Bindungsstellen-Komplex
BL ₀	gebundener Radioligand in Abwesenheit eines Inhibitors
BOC	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
(BOC) ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
BRN	Beilstein Registry Number
bs	breites Singulett
Bz	Benzoyl
BzCl	Benzoylchlorid
C	Chloroform
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CAS	Chemical Abstracts Service Registry Number
CDCl ₃	deutertes Chloroform
CH	Cyclohexan
Ci	Curie
COMT	Catechol- <i>O</i> -methyltransferase
cpm	<i>counts per minute</i> , Zählungen pro Minute

d	Tage/Dublett
dd	Dublett von Dublett
D	Dichlormethan
DA	Dopamin
DAT	Dopamin-Transporter
DC	Dünnschichtchromatographie
dest.	destilliert
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO-d ₆	deutertes Dimethylsulfoxid
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
dpm	<i>decays per Minute</i> , Zerfälle pro Minute
d. Th.	der Theorie
EMA	European Medicines Agency
ENK	Enkephaline
EPS	Extrapyramidale Störungen
ER	endoplasmatisches Retikulum
ESI	Elektrosprayionisation
Et ₃ N	Triethylamin
Et ₂ NH	Diethylamin
Et ₂ O	Diethylether
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramm, Erdbeschleunigung
G-Protein	guanylnukleotid-bindendes Protein
G _I	inhibierendes G-Protein
G _S	stimulierendes G-Protein
GABA	γ-Aminobuttersäure
gef.	Gefunden
Glu	L-Glutamat
Glu-B	Glutamat-Bindungsstelle
Gly _A -B	Strychnin-sensitive Glycin-Bindungsstelle
Gly _B -B	Strychnin-insensitive Glycin-Bindungsstelle

GDP	Guanosindiphosphat
GP _{lat}	Globus pallidus lateralis
GP _{med}	Globus pallidus medialis
GTP	Guanosintriphosphat
h	Stunde(n)
³ H	Tritium
Hex	<i>n</i> -Hexan
5-HT	5-Hydroxytryptamin
Hz	Hertz
I	Inhibitor
IC ₅₀	Inhibitorkonzentration, die zur halbmaximalen Hemmung der Ligandenbindung führt
iGluR	ionotrope Glutamat-Rezeptoren
IP ₃	Inositoltriphosphat
K _D	Dissoziations-Gleichgewichtskonstante
K _i	Inhibitionskonstante
K _S	Dissoziations-Gleichgewichtskonstante der spezifischen Bindung
K _U	Dissoziations-Gleichgewichtskonstante der unspezifischen Bindung
konz.	konzentriert
L	Ligand
LAOBP	bakterielles periplasmatisches Protein
lbWD	ligand-basierendes Wirkstoff-Design
LDA	Lithiumdiisopropylamid
L-DOPA	Levodopa
LTP	Long Term Potention
M	molar
MALDI	MALDI-TOF: Matrix-assistent-laser-desorption-ionisations-flight-of-time-Massenspektroskopie
MAO	Monaminoxidase
mbar	Millibar
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
mGluR	metabotrope Glutamat-Rezeptoren

MHz	Megahertz
min	Minuten
ml	Milliliter
μl	Mikroliter
μM	mikromolar
mMol	millimolar
mmol	Millimol
MS	Massenspektroskopie
N	Normal
N	Anzahl der Verdrängungsexperimente
n_H	Hill-Koeffizient
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
NK-1	Neuropeptidrezeptor
nM	nanomolar
NMDA	<i>N</i> -Methyl-D-Aspartat
NMDAR	NMDA-Rezeptor
NMR	Kernresonanzspektroskopie
NT	Neurotransmitter
OBz	Benzoat
<i>p</i>	<i>para</i>
P_2 - <i>t</i> -Bu	1- <i>tert</i> -Butyl-2,2,4,4,4,-pentakis(dimethylamino)-2λ ⁵ ,4λ ⁵ - catenadi(phosphazen)
PD	Morbus Parkinson
PE	Petrolether (40/60)
PET	positron emission tomography
PG	Schutzgruppe
Ph ₃ P	Triphenylphosphan
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
ppm	parts per million
Pr ₂ NH	Di- <i>n</i> -propylamin
<i>p</i> -TsCl	<i>para</i> -Toluolsulfonsäurechlorid

<i>p</i> -TsOH•H ₂ O	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure Monohydrat
q	Quartett
R _f	Retentionsfaktor (ratio of fronts)
RRA	Radiorezeptorassay
s	Singulett
Sa	Standardabweichung
SAR	Struktur-Aktivitäts-Beziehungen
sbWD	struktur-basierendes Wirkstoff-Design
Schmp.	Schmelzpunkt
SN _C	Substantia nigra pars compacta
SN _R	Substantia nigra pars reticularis
SP	Substanz P
SPECT	single photon emission computed tomography
STN	Nucleus subthalamicus
t	Triplett
<i>tert</i>	tertiär
TM	transmembranäre Domäne
Tos	Tosyl
VFC	Vakuumflashchromatographie
VTA	Area tegmentalis ventralis
WD	Wirkstoff-Design
ZNS	zentrales Nervensystem

14 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturen früher NMDA-Rezeptor-Antagonisten an der Glycin _B - Bindungsstelle	4
Abbildung 2: Dopamin und ADTN.....	5
Abbildung 3: YM158, dualer Leukotrien-D ₄ -Rezeptor- und Thromboxan-A ₂ -Rezeptor- Antagonist ^[30]	7
Abbildung 4: Hybrid-Molekül Typen	8
Abbildung 5: Gastrin-Rezeptor- und H ₂ -Rezeptor-Antagonisten	8
Abbildung 6: Neurotransmitter	10
Abbildung 7: Klassifizierung der Glutamat-Rezeptoren.....	11
Abbildung 8: Topologie des NMDA-Rezeptors, modifiziert nach Nakanishi et al. ^[49]	13
Abbildung 9: Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors, modifiziert nach Leeson et al. ^[57]	15
Abbildung 10: Kompetitive Liganden der Glutamat-Bindungsstelle	16
Abbildung 11: Kompetitive Agonisten der Glycin-Bindungsstelle	16
Abbildung 12: Kynurensäure	17
Abbildung 13: Kompetitive Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle	17
Abbildung 14: Pharmakophormodell von L-689,560, modifiziert nach Leeson et al. ^[57]	19
Abbildung 15: Liganden der allosterischen Bindungsstellen.....	20
Abbildung 16: Exzitotoxizität, modifiziert nach Lynch et al. ^[40]	22
Abbildung 17: Klassifizierung der Dopamin-Rezeptoren.....	25
Abbildung 18: Dopamin-Rezeptor-Struktur, modifiziert nach Missale et al. ^[84]	26
Abbildung 19: Dopaminerge Projektionsbahnen, modifiziert nach W. E. Müller ^[94]	28
Abbildung 20: Signaltransduktion D ₁ -ähnlicher und D ₂ -ähnlicher Rezeptoren	30
Abbildung 21: D ₁ -ähnlich-selektive Dopamin-Rezeptor-Liganden.....	31
Abbildung 22: D ₂ -ähnlich-selektive Dopamin-Rezeptor-Liganden.....	31
Abbildung 23: Dopamin-Rezeptor-Agonisten	32
Abbildung 24: Neuroleptika.....	33
Abbildung 25: Extrapiramidal-motorische Basalganglienschleife	36
Abbildung 26: Antiparkinsonmittel	39
Abbildung 27: Hybrid-Moleküle.....	41
Abbildung 28: Nummerierung der Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinone	43
Abbildung 29: Überlagerung von Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinon III und Dopamin II	44

Abbildung 30: Überlagerung von Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinon V und Ropinirol IV.....	45
Abbildung 31: Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinon mit <i>N,N</i> -Dialkylaminomethyl-Kette.....	47
Abbildung 32: Piribedil.....	47
Abbildung 33: 2-Aminothiophene.....	48
Abbildung 34: Gewalt-Reaktion, Methode (1) und (2).....	49
Abbildung 35: Mechanismus der Gewalt-Reaktion.....	49
Abbildung 36: Gewalt-Reaktion, Methode (3).....	50
Abbildung 37: Thiolierungsstellen.....	50
Abbildung 38: Regioisomere XII und XIII.....	51
Abbildung 39: Gewalt-Reaktion, Methode (4).....	51
Abbildung 40: Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinone 1 und 2 , 2-Aminothiophen 3	53
Abbildung 41: Synthese von 2-Amino-4-[[2-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino]ethyl]thiophen- 3-carbonsäuremethylester 6 ^[131]	54
Abbildung 42: Synthese von Verbindung 1 und 2	57
Abbildung 43: Cyclisierung.....	59
Abbildung 44: Verbindung 15 und 16	60
Abbildung 45: Verbindung 17 und 18	60
Abbildung 46: Thiophen mit Carboxamidomethyl-Substituent in der 4-Position.....	61
Abbildung 47: Synthese des Amid-Thiophens.....	61
Abbildung 48: Phosphazen-Base P ₂ - <i>t</i> -Bu.....	62
Abbildung 49: Verbindung 7 und 22	63
Abbildung 50: Thieno[2,3- <i>b</i>]pyridinone V und VI, 2-Aminothiophene 25 und 26	65
Abbildung 51: Syntheseweg zum Acrylnitril 28	66
Abbildung 52: Ausgangsverbindung für Gewalt-Reaktion nach Methode (4).....	67
Abbildung 53: Bromierung von Verbindung 27	67
Abbildung 54: Gewalt-Vorstufen 32 , 33	68
Abbildung 55: Syntheseweg zu den Gewalt-Vorstufen 32 , 33	69
Abbildung 56: Tosylierung von Verbindung 40a und 41b	71
Abbildung 57: Verbindungen 45 und 46	73
Abbildung 58: 2-Aminothiophene mit Sauerstoff-Funktionalitäten in 4-Position.....	73
Abbildung 59: Syntheseweg der Verbindungen 47 und 48	74
Abbildung 60: Synthese des 2-Aminothiophens 62	80
Abbildung 61: Einführung der <i>N,N</i> -Dialkyl-Funktion vor der Cyclisierung.....	85
Abbildung 62: <i>N,N</i> -Dialkylamin-Tausch.....	88

Abbildung 63: Mechanismus der Redoxkondensation nach Mukaiyama.....	90
Abbildung 64: Reduktive Aminierung.....	91
Abbildung 65: Testsubstanzen	92
Abbildung 66: Graphische Darstellung der spezifischen und unspezifischen Bindung	97
Abbildung 67: Verdrängungskurven.....	101
Abbildung 68: Referenzsubstanzen XVI und XVII	108

15 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Lokalisation und Funktion von Dopamin-Rezeptor-Subtypen ^[84]	29
Tabelle 2: Bindungsdaten an der Glycin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors	109
Tabelle 3: Bindungsdaten an den Bindungsstellen der D ₂ -ähnlichen Rezeptoren	111

16 Literaturverzeichnis

- [1] Mattson, M. P., *Trends Neurosci.* **1999**, 22 (8), 371-372.
- [2] Palmer, G. C., *Curr. Drug Targets* **2001**, 2, 241-271.
- [3] Lynch, D. R., Guttman, R. P., *Curr. Drug Targets* **2001**, 2, 215-231.
- [4] Hoozemans, J. J. M. et al., *Drugs of today* **2002**, 38 (6), 429-443.
- [5] Stark, H. et al., *Pharm. Unserer Zeit* **2000**, 29 (4), 228-236.
- [6] Bräuner-Osborne, H., et al., *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (14), 2609-2645.
- [7] Stone, T. W., *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, 21, 149-154.
- [8] Gualtieri, F., in '*Trends in drug research II*', ed. H. van der Goot, Elsevier Science, **1998**, 15.
- [9] Allain, H., Schück, S., in '*Drug Benefits and Risks: International Textbook of Clinical Pharmacology*', ed. C. J. van Boxtel et al., John Wiley & Sons, Ltd., **2001**, 595-619.
- [10] Goodnow, R. A., *J. Cell. Biochem.* **2001** (Suppl. 37), 13-21.
- [11] Koshland, D. E., *Angew. Chem.* **1994**, 106, 2468-2472.
- [12] Velazquez-Campoy, A., Freire, E., *J. Cell. Biochem.* **2001** (Suppl. 37), 82-88.
- [13] Grootenhuis, P. D. J. et al., in '*Trends in drug research II*', ed. H. van der Goot, Elsevier Science, **1998**, 7-14.
- [14] Fernandes, P. B., *J. Cell. Biochem.* **2001** (Suppl. 37), 1-6.
- [15] Palczewski, K. et al., *Science* **2000**, 289, 739-745.
- [16] Klabunde, T., Hessler, G., *ChemBioChem* **2002**, 3, 928-944.
- [17] Dahl, S. G., Sylte, I., *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2005**, 96 (3), 151-155.
- [18] Wermuth, C. G. et al., *Ann. Rep. Med. Chem.* **1998**, 33, 385-395.
- [19] Leeson, P. D. et al., *J. Med. Chem.* **1991**, 34 (4), 1243-1252.
- [20] Leeson, P. D. et al., *J. Med. Chem.* **1992**, 35 (11), 1954-1968.
- [21] Laube, B. et al., *Neuron* **1997**, 18, 493-503.
- [22] Armstrong, N., Gouaux, E., *Neuron* **2000**, 28, 165-181.
- [23] Furukawa, H., Gouaux, E., *EMBO J.* **2003**, 22 (12), 2873-2885.
- [24] Tikhonova, I. G. et al., *J. Med. Chem.* **2002**, 45 (18), 3836-3843.
- [25] Seiler, M. P. et al., in '*Perspectives in medicinal chemistry*', ed. B. Testa, VCH, Weinheim, **1993**, 221-237.

- [26] Claudi, F., et al., *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (4), 599-608.
- [27] Casagrande, C., Bertolini, G., in 'Perspectives in receptor research', ed. D. Giardina et al., Elsevier Science, **1996**, 67-84.
- [28] Kudlacz, E. et al., *Int. Arch. Allergy Immunol.* **1998**, 115, 169-178.
- [29] van Niel, M. B. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 3243-3248.
- [30] Arakida, Y. et al., *Eur. J. Pharmacol.* **1998**, 362, 229-233.
- [31] Arakida, Y. et al., *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, 403, 169-179.
- [32] Hirokawa, Y. et al., *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, 50 (7), 941-959.
- [33] Kawanishi, Y. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6 (13), 1421-1426.
- [34] Kawanishi, Y. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5 (7), 1425-1431.
- [35] Snyder, S. H., Ferris, C. D., *Am. J. Psychiatry* **2000**, 157 (11), 1738-1751.
- [36] Baranano, D. E. et al., *Trends Neurosci.* **2001**, 24 (2), 99-106.
- [37] Stark, H. et al., *Pharm. Unserer Zeit* **2000**, 29 (3), 159-166.
- [38] Köles, L. et al., *Neurochem. Res.* **2001**, 26 (8/9), 925-932.
- [39] Lummis, S. C. et al., *Neuropharmacology* **2002**, 42 (4), 437-443.
- [40] Lynch, D. R., Guttmann, R. P., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, 300 (3), 717-723.
- [41] Sobolevskii, A. I., Khodorov, B. I., *Neurosci. Behav. Physiol.* **2002**, 32 (2), 157-171.
- [42] Haradahira, T., et al., *Chem. Phar. Bull.* **2001**, 49 (2), 147-150.
- [43] Fray, M. J., et al., *J. Med. Chem.* **2001**, 44 (12), 1951-1962.
- [44] Skerry, T. M., Genever, P. G., *Trends Pharmacol. Sci.* **2001**, 22 (4), 174-181.
- [45] Cavalleiro, E. A., Olney, J. W., *Proc. Natl. Am. Soc.* **2001**, 98 (11), 5947-5948.
- [46] Rzeski, W. et al., *Proc. Natl. Am. Soc.* **2001**, 98 (11), 6372-6377.
- [47] Matsuda, K. et al., *Brain Res. Mol. Brain Res.* **2002**, 100 (1-2), 43-52.
- [48] Williams, K., *Curr. Drug Targets* **2001**, 2 (3), 285-298.
- [49] Nakanishi, S., et al., *Brain Res. Rev.* **1998**, 26, 230-235.
- [50] Danysz, W., Parsons, C. G., *Pharmacol. Rev.* **1998**, 50 (4), 597-664.
- [51] Yaka, R. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, 99 (8), 5712-5715.
- [52] Magazanik, L. G. et al., *Neurosci. Behav. Physiol.* **2002**, 32 (2), 173-182.
- [53] Dingledine, R. et al., *Pharmacol. Rev.* **1999**, 51 (1), 7-61.
- [54] Stephenson, F. A., *Curr. Drug Targets* **2001**, 2, 233-239.
- [55] Tsai, S. J. et al., *J. Neural. Transm.* **2002**, 109 (4), 483-488.

- [56] Bence, A. K., et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 2621-2623.
- [57] Leeson, P. D., Iversen, L. L., *J. Med. Chem.* **1994**, 37 (24), 4053-4067.
- [58] Cull-Candy, S. et al., *Curr Opin Neurobiol* **2001**, 11 (3), 327-335.
- [59] Katayama, S. et al., *J. Org. Chem.* **2001**, 66 (10), 3474-3483.
- [60] Balsamini, C., *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 808-820.
- [61] Buchstaller, H.-P., *Dissertation (Universität Wien)*, **1996**.
- [62] Siebert, C. D., *Dissertation (Universität Frankfurt)*, **1998**.
- [63] Kock, M., *Dissertation (Universität Frankfurt)*, **2001**.
- [64] Duran, A., *Dissertation (Universität Frankfurt)*, **2002**.
- [65] Boireau, A., et al., *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, 401, 131-135.
- [66] Kemp, J. A., Leeson, P. D., *Trends Pharmacol. Sci.* **1993**, 14, 20-25.
- [67] Kazuta, Y. et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10 (6), 1777-1791.
- [68] Berger, M. L. et al., *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 3-14.
- [69] Lipton, S. A., *Methods in molecular biology/NMDA-receptor protocols* **1999**, 128, 121-130.
- [70] Pinard, E., et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 2173-2176.
- [71] Gagliardi, R. J., *Arq. Neuro-Psiquiatr.* **2000**, 52 (2B), 583-588.
- [72] Ikegaya, Y., et al., *J. Cell. Sci.* **2001**, 114 (22), 4083-4093.
- [73] Sasaki, S., et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11 (4), 519-521.
- [74] Müller, C. E., *Drugs Fut.* **2000**, 25 (10), 1043-1052.
- [75] Lipton, S. A., *J. Alzheimers Dis.* **2004**, 6 (6 suppl.), S61-S74.
- [76] Zhuo, M., *Drug Discov. today* **2002**, 7 (4), 259-267.
- [77] Chizh, B. A. et al., *Trends Pharmacol. Sci.* **2001**, 22 (12), 636-642.
- [78] Chazot, P. L., *Curr. Med. Chem.* **2004**, 11 (3), 389-396.
- [79] Parsons, C. G., *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, 429, 71-78.
- [80] Parsons, C. G. et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, 283 (3), 1264-1275.
- [81] Marino, M. J., Conn, P. J., *Curr. Drug Targ.: CNS & Neurological disorders* **2002**, 1 (1), 1-16.
- [82] Goff, D. C., Coyle, J. T., *Am. J. Psychiatry* **2001**, 158 (9), 1367-1377.
- [83] Vallone, D. et al., *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2000**, 24 (1), 125-132.
- [84] Missale, C., et al., *Physiol. Rev.* **1998**, 78 (1), 189-225.
- [85] Jaber, M. et al., *Neuropharmacology* **1996**, 35 (11), 1503-1519.

- [86] Hackling, A. E., Stark, H., *ChemBioChem* **2002**, 3, 946-961.
- [87] Joyce, J. N., Millan, M. J., *DDT* **2005**, 10 (13), 917-925.
- [88] Spano, P. F. et al., *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* **1978**, 198, 155-165.
- [89] Kebabian, J. W., Calne, D. B., *Nature* **1979**, 277, 93-96.
- [90] Mills, A., *Trends Pharmacol. Sci.* **1992**, 13, 399-400.
- [91] Shi, L. et al., *Biochemistry* **2001**, 40 (41), 12339-12348.
- [92] Kalani, M. Y. S. et al., *PNAS* **2004**, 101 (11), 3815-3820.
- [93] Jones, H. M., Pilowsky, L. S., *Br. J. Psych.* **2002**, 181, 271-275.
- [94] Müller, W. E., *Pharm. unserer Zeit* **2002**, 6, 537-544.
- [95] Cordeaux, Y., et al., *J. Biol. Chem.* **2001**, 276 (31), 28667-28675.
- [96] Kebabian, J. W. et al., *Drug Discovery Today* **1997**, 2 (8), 333-340.
- [97] Hrib, N. J., *Drugs Fut.* **2000**, 25 (6), 587-611.
- [98] Haadsma-Svensson, S. R., et al., *J. Med. Chem.* **2001**, 44 (26), 4716-4732.
- [99] Nestler, E. J. et al., in 'Molecular Neuropharmacology: A Foundation for clinical neuroscience', ed. J. Flotin et al., USA, McGraw-Hill Companies, **2001**, 167-190.
- [100] Lang, A. E., Lees, A., *Mov. Dis.* **2002**, 17 (S4), S1-S166.
- [101] Bozzi, Y. et al., *J. Neurosci.* **2000**, 20 (22), 8643-8649.
- [102] Ferger, B. et al., *Med. Mo. Pharm.* **1997**, 20 (11), 300-310.
- [103] Einsiedel, J. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11 (18), 2533-2536.
- [104] Levy, F., Swanson, J. M., *Aust. N. Z. J. Psychiatry* **2001**, 35 (4), 504-511.
- [105] Huang, Y., et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9 (12), 3113-3122.
- [106] Hodgetts, K. J., et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9 (12), 3207-3213.
- [107] Ravina, E., et al., *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (24), 4678-4693.
- [108] Mewshaw, R. E., et al., *J. Med. Chem.* **1997**, 40 (26), 4235-4256.
- [109] Mewshaw, R. E., et al., *J. Med. Chem.* **1999**, 42 (11), 2007-2020.
- [110] Shastry, B. S., *Drugs of today* **2002**, 38 (6), 445-451.
- [111] Vila, M. et al., *Trends Neurosci.* **2001**, 24 (11), S49-S55.
- [112] Riederer, P. et al., *J. Neurol.* **2000**, 247 (Suppl 4), IV/8-IV/11.
- [113] Waldmeier, P. C. et al., *Arch. Pharmacol.* **2000**, 362 (6), 526-537.
- [114] Frackiewicz, E. J. et al., *Ann. Pharmacother.* **2002**, 36, 225-230.
- [115] Korczyn, A. D., Nussbaum, M., *Drugs* **2002**, 62 (5), 775-786.
- [116] Lange, K. W. et al., *Neurosci. Biobehav. Rev.* **1997**, 21 (4), 393-400.

- [117] Johnston, T. H., Brotchie, J. M., *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2004**, 5 (7), 720-726.
- [118] Vasiliadis, H.-M. et al., *Eur. J. Pharmacol.* **1999**, 386 (2-3), 155-163.
- [119] Burger, A., *Prog. Drug. Res.* **1991**, 37, 287-371.
- [120] Siebert, C. D., *Chem. unserer Zeit* **2004**, 38 (5), 320-324.
- [121] McGaughey, G. B., Mewshaw, R. E., *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 2453-2456.
- [122] Buchstaller, H.-P. et al., *J. Med. Chem.* **2005**, coming soon.
- [123] Cagnotto, A. et al., *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, 313, 63-67.
- [124] Sabnis, R. W. et al., *J. Heterocyclic Chem.* **1999**, 36, 333-345.
- [125] Peet, N. P. et al., *J. Heterocyclic Chem.* **1986**, 23, 129-133.
- [126] Gewald, K., *Chem. Ber.* **1965**, 98, 3571-3575.
- [127] Gewald, K. et al., *Chem. Ber.* **1966**, 99, 94-101.
- [128] Asinger, F., Thiel, M., *Angew. Chem.* **1958**, 70 (22/23), 667-683.
- [129] Noe, C. R. et al., *Pharmazie* **1996**, 51 (11), 833-836.
- [130] Greene, T. W., in 'Protective groups in organic synthesis', J. Wiley & Sons, **1981**
- [131] Buchstaller, H.-P. et al., *Monatsh. Chem.* **2001**, 132, 279-293.
- [132] Ewing, W. R. et al., *Tetrahedron* **1986**, 42 (9), 2421-2428.
- [133] Becker, H. G. O. et al., in 'Organikum', ed. J. A. Barth, Deutscher Verlag der Wissenschaften, **1993**, 476-480.
- [134] Mukaiyama, T., *Angew. Chem.* **1979**, 91, 798-812.
- [135] Stahl, G. L. et al., *J. Org. Chem.* **1978**, 43 (11), 2285-2286.
- [136] Mukaiyama, T. et al., *Chem. Lett.* **1975**, 1163-1166.
- [137] March, J., in 'Advanced organic chemistry: reactions, mechanisms, and structure', John Wiley & Sons, **1992**, 694-297.
- [138] Frank, I., *Diplomarbeit (Universität Frankfurt)*, **1998**.
- [139] Grehn, L., Ragnarsson, U., *Angew. Chem.* **1985**, 97 (6), 519-520.
- [140] Schwesinger, R. et al., *Angew. Chem.* **1993**, 105 (9), 1420-1422.
- [141] Kraus, G. A. et al., *Org. Lett.* **2000**, 2 (16), 2409-2410.
- [142] Solladie-Cavallo, A., Roche, D., *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2690-2694.
- [143] Spaeth, E. C. et al., *J. Org. Chem.* **1946**, 11, 399-403.
- [144] Rand, L. et al., *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 3505-3507.
- [145] Lehnert, W., *Tetrahedron* **1973**, 29 (635-638).

- [146] Levene, P. A., *Org. Synth.* **1943**, 2, 88.
- [147] Küchler, B. et al., *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 545-552.
- [148] Hayashi, H. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95 (26), 8749-8757.
- [149] Schmidt, M. et al., *Chem. Ber.* **1980**, 113, 1691-1707.
- [150] Ogawa, K. et al., *Synthesis* **1987**, 3, 281-284.
- [151] Chow, Y. L., Richard, H., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1982**, 1405-1418.
- [152] Piantadosi, C. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 6613-6617.
- [153] Reddy, S. M. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108 (10), 2691-2699.
- [154] Beyerman, H. C., Heiszwolf, G. L., *J. Chem. Soc.* **1963**, 755.
- [155] Armstrong, A. et al., *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29 (20), 2483-2486.
- [156] Mashimo, K., Sato, Y., *Tetrahedron* **1970**, 26, 803-812.
- [157] Tsuzuki, K. et al., *Tetrahedron Lett.* **1978**, 11, 989-992.
- [158] Sasaki, S. et al., *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, 46 (1), 154-158.
- [159] Baumgarth, M., Irmscher, K., *Tetrahedron* **1975**, 31, 3109-3118.
- [160] Brückner, R., in 'Reaktionsmechanismen', ed. K. Triltsch, Spektrum Akademischer Verlag, **1996**, 71-75.
- [161] Varney, M. D. et al., *J. Med. Chem.* **1997**, 40 (16), 2502-2524.
- [162] DeMarinis, R. M. et al., *J. Med. Chem.* **1986**, 29 (6), 939-947.
- [163] Stoll, L., Müller, W. E., *Pharm. Ztg. Wiss.* **1991**, 2 (4), 53-66.
- [164] Berger, M., *Analyse von Neurotransmitter-Rezeptoren mittels Radioliganden*, **2000**.
- [165] Scatchard, G., *Ann. New York Acad. Sci.* **1949**, 51, 660-672.
- [166] Hofstee, B. H. J., *Science* **1952**, 116 (329-331).
- [167] Cheng, Y.-C., Prusoff, W. H., *Biochem. Pharmacol.* **1973**, 22, 3099-3108.
- [168] Koenig, J. A., in 'Methods in Molecular Biology', ed. M. Keen, Humana Press Inc., **1995**, 89-92.
- [169] Bradshaw, J. S. et al., *J. Org. Chem.* **1990**, 55 (10), 3129-3137.
- [170] Aragozzini, F. et al., *Synthesis* **1989**, 3, 225-227.
- [171] Paterson, I. et al., *Tetrahedron* **1995**, 51 (34), 9413-9436.
- [172] Amma, J. P., Stille, J. K., *J. Org. Chem.* **1982**, 47 (3), 468-473.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Ina Frank

Geburtsdatum: 07.03.1972

Geburtsort: Münster/Westf.

Schulbildung:

1978 – 1980 Freiligrath-Grundschule in Frankfurt

1980 – 1982 Heinrich-Seliger-Grundschule in Frankfurt

1982 – 1991 Wöhler-Gymnasium in Frankfurt

Juni 1991 Abitur

Hochschulstudium:

Okt. 1991 – Sept. 1998 Studium der Chemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Dez. 1994 Diplom-Chemiker-Vorprüfung

Jan. 1998 – Sept. 1998 Diplomchemiker-Hauptprüfung sowie Diplomarbeit am Institut für Pharmazeutische Chemie unter der Anleitung von Prof. Dr. Noe

Okt. 1998 – Dez. 2002 Promotion am Institut für Pharmazeutische Chemie

Berufstätigkeit:

Dez. 1998 – Dez. 2002 Wissenschaftliche Angestellte am Institut für pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main (Betreuung des Praktikums „Pharmazeutische Chemie I“)

Mai 2003 – Okt. 2003 Fachreferent Regulatory Affairs bei curasan AG

Nov. 2003 – Sept. 2005 Regulatory Affairs Manager bei DeltaSelect GmbH

ab Okt. 2005 Junior Manager Regulatory Affairs bei STADA R&D GmbH

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof. Dr. H. Bock, Prof. Dr. B. Brutschy, Prof. Dr. F. J. Comes, Prof. Dr. J. W. Engels, Prof. Dr. E. Egert, Prof. Dr. M. Göbel, Prof. Dr. C. Griesinger, Prof. Dr. K. Hensen, Prof. Dr. B. O. Kohlbesen, Prof. Dr. G. Kohlmaier, Prof. Dr. G. Lambrecht, Prof. Dr. W. Martiensen, Prof. Dr. J. Mulzer, Prof. Dr. E. Mutschler, Prof. Dr. C. R. Noe, Prof. Dr. G. Quinkert, Prof. Dr. E.-A. Reinsch, Prof. Dr. R. Schlögl, Prof. Dr. F. Schüth, Prof. Dr. W. Sterzel, Prof. Dr. M. Trömel

Veröffentlichungen im Zusammenhang mit dieser Arbeit:

- 1) H. P. Buchstaller, C. D. Siebert, R. H. Lyssy, I. Frank, A. Duran, R. Gottschlich, C. R. Noe: „**Synthesis of Novel 2-Aminothiophene-3-carboxylates by Variations of the Gewald-Reaction**“; *Monatshefte für Chemie* (Monatsh. Chem)., **2001**, 132, 279-293
- 2) H. P. Buchstaller, C. D. Siebert, R. Steinmetz, I. Frank, M. L. Berger, R. Gottschlich, J. Leibrock, D. Steinhilber, C. R. Noe: „**Synthesis of thieno[2,3-*b*]pyridinones acting as cytoprotectants and as inhibitors of [³H]glycine binding to the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor**“; *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 864-871