

**Neue Wirkstoffkandidaten mit Histamin-H<sub>3</sub>-  
Rezeptor-Pharmakophor auf dem Gebiet  
neurodegenerativer Erkrankungen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

**Markus Martin Falkenstein**  
aus Bochum

Düsseldorf, März 2021

aus dem Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Berichtersteller:

1. Univ.-Prof. Dr. Dr. hc. Holger Stark

2. Univ.-Prof. Dr. Thomas Kurz

Tag der mündlichen Prüfung: 26.05.2021

## Danksagung

Ich bin stolz und glücklich, mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Holger Stark bedanken zu können. Ich bedanke mich für die Möglichkeit der Promotion in seinem Arbeitskreis am Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und für das äußerst interessante Thema, das ich während meiner Promotion bearbeiten konnte. Ich bedanke mich für einen regen wissenschaftlichen Austausch, fachliche Expertise, konstruktive Diskussionen und Hilfestellung. Des Weiteren bedanke ich mich für hilfreiche Gespräche auch abseits von Wissenschaft und Forschung.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Thomas Kurz, der mit als Co-Betreuer und Zweitkorrektor jederzeit für einen konstruktiven Austausch zur Verfügung stand.

Ich bedanke mich bei meinem Arbeitskreis, der mir in wechselnder Zusammensetzung sowohl fachlich als auch privat einen großen Rückhalt geboten hat. Im Besonderen bedanke ich mich bei Frau Annika Frank, Frau Kathrin Grau und Herrn David Reiner-Link für die pharmakologische Charakterisierung meiner Substanzen.

In diesem Zusammenhang danke ich auch Prof. Wieslawa Agnieszka Fogel und ihrem Arbeitskreis im Dept. of Hormone Biochemistry, Medical University of Łódź, Polen für die Bestimmung der ZNS-Gängigkeit in In-vivo-Experimenten. Ich bedanke mich bei Dr. Bassam Sadek und seinem Arbeitskreis im Department of Pharmacology & Therapeutics, College of Medicine and Health Sciences, UAE für die Testung meiner Substanzen in In-vivo-Experimenten und bei Prof. Dr. Dieter Willbold und seinem Arbeitskreis im Forschungszentrum Jülich für die Bestimmung der  $A\beta_{1-42}$ - Affinität mittels SPR-Spektroskopie.

Ich bedanke mich bei meinen Kollegen Hjördis, Mariam, Luisa, Stefanie, Jens, Kiril, Stephen, Lars Stank, Markus, Lars Seifert, Patrick und Cristian Di Biase, der ein Stück Italien ins Labor gebracht hat, für eine spannende Zeit im Arbeitskreis.

In besonderer Weise möchte ich mich bei Aleks und Mili bedanken, die mir durch den Laboralltag und „Exkursionen“ zu echten Freunden geworden sind.

Ich bedanke mich bei meiner Familie für die bedingungslose Unterstützung und den Zuspruch während meines Studiums und der gesamten Promotionszeit. Ich habe durch Euch die Freiheit gehabt, meine Ziele zu verfolgen und zu erreichen.

Mein größter Dank geht an meine Frau Laura. Ohne Dich wäre das Studium und die Promotion weder vorstellbar noch bedeutsam gewesen.



Für

Laura



# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Kurzfassung.....	1
1 Einleitung .....	3
1.1 Neurodegenerative Erkrankungen .....	3
1.1.1 Gemeinsamkeiten neurodegenerativer Erkrankungen.....	3
1.1.2 Morbus Alzheimer.....	6
1.1.3 Schizophrenie .....	16
1.2 Histamin.....	21
1.2.1 Physiologie des Histamins .....	21
1.2.2 G-Protein gekoppelte Rezeptoren .....	23
1.2.3 Histaminrezeptor-Subtypen.....	27
1.2.4 Der Histamin-H <sub>3</sub> -Rezeptor als pharmakologische Zielstruktur .....	35
1.3 Dopamin .....	38
1.3.1 Biosynthese und Metabolismus.....	38
1.3.2 Dopaminerge Leitungsbahnen im ZNS.....	39
1.3.3 Dopaminrezeptoren .....	40
1.3.4 D <sub>2</sub> R und D <sub>3</sub> R als pharmakologische Zielstrukturen.....	42
2 Zielsetzung .....	46
3 Synthese .....	50
3.1 Rationale Arzneistoffentwicklung.....	50
3.2 Synthese von Vorstufen mit H <sub>3</sub> R-Pharmakophor.....	56
3.3 Synthese von 2,5-Diketopiperazinen .....	58
3.3.1 Synthese von Aminosäurevorstufen.....	58
3.3.2 Synthese von 2,5-Diketopiperazinen.....	59
3.3.3 Stereochemische Betrachtung der 2,5-Diketopiperazinsynthese .....	62
3.4 Synthese von $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen .....	65
3.5 Synthese von 2-Ketopiperazinen .....	70

3.5.1	Synthese von ( <i>S</i> )-Hexahydropyrrolo[1,2- <i>a</i> ]pyrazinon-Derivaten.....	70
3.5.2	Synthese von Piperazin-2-on-Derivaten.....	74
3.6	Synthese von <i>C</i> -substituierten Piperazinen .....	75
3.7	Synthese von <i>N</i> -substituierten Piperazinen .....	77
3.7.1	Synthese von Piperazin <i>N</i> -Benzyl- und Benzoylderivaten .....	77
3.7.2	Synthese von <i>N</i> -L-Prolin-yl-Piperazinderivaten.....	78
3.7.3	Synthese von Zimtsäureamiden .....	80
3.7.4	Übersicht der Histamin-H <sub>3</sub> R-Liganden .....	82
3.8	Synthese von Piperazinderivaten mit Dopamin-D <sub>2</sub> R/ D <sub>3</sub> R-Pharmakophor .....	83
3.8.1	Synthese von MTDL mit D <sub>2</sub> R/ D <sub>3</sub> R-Antagonisten-Pharmakophor .....	83
3.8.2	Synthese von MTDL mit D <sub>2</sub> R/ D <sub>3</sub> R-Agonisten-Pharmakophor .....	86
3.9	Zusammenfassung Synthese.....	88
4	Pharmakologische Testung .....	90
4.1	Histamin-H <sub>3</sub> -Rezeptor .....	90
4.1.1	H <sub>3</sub> R-Affinität von 2,5-Diketopiperazinen .....	91
4.1.2	H <sub>3</sub> R-Affinität von $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen .....	92
4.1.3	H <sub>3</sub> R-Affinität von 2-Ketopiperazinen .....	93
4.1.4	H <sub>3</sub> R-Affinität von <i>C</i> -substituierten Piperazinen .....	95
4.1.5	H <sub>3</sub> R-Affinität von <i>N</i> -substituierten Piperazinen .....	96
4.1.6	H <sub>3</sub> R-Affinität von Zimtsäureamiden und Analoga .....	98
4.2	Amyloid-Beta-Interaktion .....	100
4.3	In-vivo-Testung von Verbindung 52e .....	104
4.4	Testung der IGF <sub>1</sub> -Freisetzung .....	104
4.5	Dopamin-D <sub>2</sub> / D <sub>3</sub> -Rezeptor.....	105
4.5.1	D <sub>2</sub> R- und D <sub>3</sub> R-Affinität von Methoxyphenyl-piperazinen .....	105
4.5.2	D <sub>2</sub> R- und D <sub>3</sub> R-Affinität von <i>para</i> -Alkoxy-phenoxy-ethyl-piperazinen .....	107
4.5.3	In-vivo-Testung von Verbindung 101 .....	108
5	Diskussion .....	112

5.1	MTDL für die Therapie von Morbus Alzheimer.....	112
5.2	MTDL für die Therapie der Schizophrenie .....	120
6	Zusammenfassung.....	124
7	Material und Methoden .....	128
7.1	Chemikalien und Geräte .....	128
7.2	Allgemeine Synthesevorschriften.....	131
7.2.1	Amidierung -Acylierung von Aminen mit aktivierten Carbonsäuren.....	131
7.2.2	Alkylierung.....	132
7.2.3	Aktivierung von Alkoholen und Carbonsäuren .....	134
7.2.4	Schutzgruppenchemie .....	135
7.2.5	Reduktion .....	136
7.2.6	Weitere Reaktionen .....	137
7.3	Vorschriften und Analytik .....	138
7.3.1	Vorstufensynthesen .....	138
7.3.2	Zielverbindungen/ pharmakologische Testsubstanzen.....	170
7.4	Pharmakologische Testung.....	213
7.4.1	Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Histamin-H <sub>3</sub> -Rezeptoren.....	213
7.4.2	Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Histamin-H <sub>1</sub> -Rezeptoren.....	213
7.4.3	Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Dopamin-D <sub>2</sub> - und D <sub>3</sub> -Rezeptoren .....	214
7.4.4	Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Dopamin-D <sub>1</sub> -Rezeptoren .....	214
7.4.5	Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Dopamin-D <sub>5</sub> -Rezeptoren .....	214
7.4.6	Bestimmung der Cholin-Esterase-Inhibition.....	214
7.4.7	A $\beta$ <sub>1-42</sub> Affinitäts-Messung mit SPR Analyse .....	215
7.4.8	In-vivo-Testsysteme von Verbindung 101 .....	218
7.4.9	In-vivo-Testsysteme von Verbindung 52e .....	221
7.4.10	In-silico-Bestimmung der Drug-Likeness .....	222
	Literaturverzeichnis.....	224

Abkürzungsverzeichnis .....	246
Abbildungsverzeichnis .....	250
Verzeichnis über die Reaktionsschemata .....	252
Tabellenverzeichnis.....	253
Eidesstattliche Erklärung.....	254
Lebenslauf .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
Publikationsliste .....	255

## Kurzfassung

Neurodegenerative Erkrankungen und ihre Therapie zählen weltweit zu den wachsenden Aufgaben der Forschung<sup>2</sup>. Die Pathogenese und Pathophysiologie der Erkrankungen sind nicht vollständig erforscht. Pharmakologische Interventionen erfolgen zurzeit nur symptomatisch und der Bedarf an neuen Wirkstoffen und Therapieansätzen ist groß<sup>3</sup>.

Das Ziel dieser Arbeit war die Synthese neuer Multi-Target-Directed-Ligands (MTDL), die neurodegenerative Erkrankungen durch eine gezielte Mehrfachwirkung umfassender ansprechen können<sup>4,5</sup>.

Mit Bezug auf Morbus Alzheimer (AD) wurden hierfür Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonisten mit peptidomimetischen Strukturbausteinen kombiniert, die als Inhibitoren von Protein-Protein-Interaktionen (PPI) die Aggregation von  $\beta$ -Amyloid-Fragmenten (A $\beta$ ) verhindern sollen<sup>6</sup>. A $\beta$ -Oligomere gelten als toxische Schlüsselstruktur in der Pathogenese von AD und eine verminderte Bildung dieser als zentrales Prinzip einer krankheitsverändernden Therapie<sup>7,8</sup>. Durch die Antagonisierung des H<sub>3</sub>R wird das Level an Neurotransmittern reguliert, was zu einer verbesserten spezifischen Neurotransmission und zu einer Verbesserung von Kognition und Lernen führt<sup>9</sup>.

Die Kombination eines H<sub>3</sub>R-Antagonisten mit Dopamin-D<sub>2</sub>- und D<sub>3</sub>-Rezeptor (D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R)-Antagonisten führt zu MTDL für die Therapie der Schizophrenie, die ein verbessertes Ansprechen auf die negative und kognitive Symptomatik der Erkrankung liefern, wobei die Positivsymptome gleichbleibend gut therapiert werden<sup>10</sup>.

Es wurden fünf verschiedene Verbindungsklassen mit (Di-)Ketopiperazin und Piperazinmotiven über klassische organische Synthesen wie Williamson-Ethersynthesen und Aldol-Kondensationen, sowie stereoselektive Kondensationen, Reduktionen und Peptidkopplungen dargestellt. Insgesamt wurden 60 neue Verbindungen synthetisiert, wovon 13 eine hohe ( $10 \leq K_i \leq 100$  nM) und 38 eine sehr hohe Affinität ( $K_i < 10$  nM) zum hH<sub>3</sub>R zeigen. Viele dieser Verbindungen zeigen ein großes Arzneistoffpotential als H<sub>3</sub>R-Antagonisten, wobei eine Verbindung mit einer subnanomolaren H<sub>3</sub>R-Affinität diesbezüglich besonders interessant erscheint. Aufgrund der hohen Affinität zu A $\beta$ -Monomeren konnten vier Substanzen als MTDL für die Therapie von AD identifiziert werden. Zwei MDTL mit sehr hoher hH<sub>3</sub>R-, D<sub>2</sub>R-, D<sub>3</sub>R-Affinität und vorteilhafter D<sub>3</sub>R-Präferenz konnten für die Indikation Schizophrenie in In-vivo-Untersuchungen vielversprechende Ergebnisse liefern. Neben drei Struktur-Wirkungsbeziehungen wurde ein sehr robustes H<sub>3</sub>R-Pharmakophor zur Synthese neuer MDTL aus den Daten abgeleitet.



# 1 Einleitung

Neurodegenerative Erkrankungen und ihre Therapie zählen weltweit zu den wachsenden Aufgaben der Pharmazie und Medizin. Die Pathogenese und Pathophysiologie der Erkrankungen sind nicht vollständig erforscht und eine pharmakologische Intervention erfolgt zurzeit nur symptomatisch. Arzneistoffe stoßen an ihre Grenzen wenn es um eine erfolgreiche, krankheitsverbessernde oder kausale Therapie geht. Der Bedarf an neuen Wirkstoffen und Therapieansätzen ist groß und die Erforschung potenzieller Wirkstoffe ein wichtiger Bestandteil für die Entwicklung von verbesserten pharmakologischen Therapieoptionen.

## 1.1 Neurodegenerative Erkrankungen

### 1.1.1 Gemeinsamkeiten neurodegenerativer Erkrankungen

*Neurodegenerative Erkrankung* ist ein Sammelbegriff für Krankheiten, die durch den Verlust von Nervenzellen im zentralen Nervensystem (ZNS) gekennzeichnet sind. Der Untergang der Nervenzellen ist dabei meist progressiv und führt über die Dauer der Krankheit zu sich fortlaufend verschlechternden Krankheitsbildern. Weltweit sind Millionen Patienten von neurodegenerativen Krankheiten betroffen. Zu den bekanntesten Beispielen zählen Morbus Alzheimer (engl.: Alzheimer's disease; AD), Morbus Parkinson (Parkinson's disease; PD) und amyotrophe Lateralsklerose (ALS)<sup>11</sup>. Auch in der Pathophysiologie der Schizophrenie lassen sich Ansätze für eine Neurodegeneration erkennen<sup>12</sup>.

Anders als die grobe Einteilung und die verschiedenen Symptomatiken vermuten lassen, haben diese Erkrankungen viele grundlegende Gemeinsamkeiten. Oxidativer Stress, mitochondriale Dysfunktion, Ansammlung von fehlgefalteten Proteinen, sowie Apoptose, Entzündungsprozesse und fehlende Wachstumsfaktoren lassen sich im ZNS der Betroffenen feststellen<sup>3</sup>. Die verschiedenen Symptomatiken ergeben sich aus den ZNS-Arealen, die von dem Verlust an Neuronen betroffen sind. Bei der amyotrophen Lateralsklerose lässt sich ein Verlust von Motoneuronen im Motor Cortex, Hirnstamm und Rückenmark erkennen<sup>13</sup>. Morbus Parkinson ist vor allem durch den Untergang dopaminerger Neuronen in der Substantia nigra charakterisiert<sup>14</sup>. Morbus Alzheimer zeigt initial eine Atrophie von Neuronen im medialen Teil des Temporallappens<sup>15</sup>. Die Pathophysiologien und molekularen Ursachen der Erkrankungen sind zurzeit nur unzureichend verstanden. Die gemeinsamen pathophysiologischen Zustände lassen dabei eine (zumindest in Teilen) übereinstimmende Pathogenese vermuten.

Durch eine Dysbalance von oxidativen und antioxidativen Substanzen wird ein Zustand erzeugt, der als oxidativer Stress bezeichnet wird (Abbildung 1). Dabei ist das Auftreten oxidativer Spezies ein physiologischer Prozess. Durch Elektronen-Übertragungsprozesse, die ständig und ubiquitär im Körper ablaufen, können reaktive Sauerstoff-, Stickstoff-, oder Schwefel-Spezies (engl.: reactive oxygen/ nitrogen/ sulphur species; ROS, RNS, RSS) sowie freie Radikale gebildet werden<sup>16</sup>. Beispiele für diese Vorgänge sind die Bildung von Adenosintriphosphat (ATP) in der Atmungskette der Mitochondrien, die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO), die Bildung von Prostaglandinen durch die Cyclooxygenase sowie Vorgänge in denen NAD(P)H als Coenzym zum Einsatz kommt. Der Großteil an oxidativen Produkten kann als ROS bzw.  $O_2^-$  identifiziert werden<sup>17,18</sup>. Um diese entstehenden oxidativen Substanzen neutralisieren zu können, bildet der Körper antioxidative Spezies. Dabei handelt es sich um exogene Substanzen wie die Vitamine C, K und E, endogene Faktoren wie Ubiquinol, Glutathion (GSH), spezielle Lipide und Enzyme wie die Superoxiddismutase (SOD)<sup>19,20</sup>. Bei einem erhöhten Auftreten von oxidativen Produkten wird der Nukleare Respiratorische Faktor NRF2 freigesetzt. Dieser bindet anschließend im Zellkern an das Antioxidans Responsive Element (ARE), einer Promotorregion, die zu einer vermehrten Bildung von pro-antioxidativen Enzymen wie der Quinonoxidreduktase (NQO1), der Glutathionperoxidase (GPx) und der Glutathion-S-Transferase (GST) führt<sup>16,21</sup>.

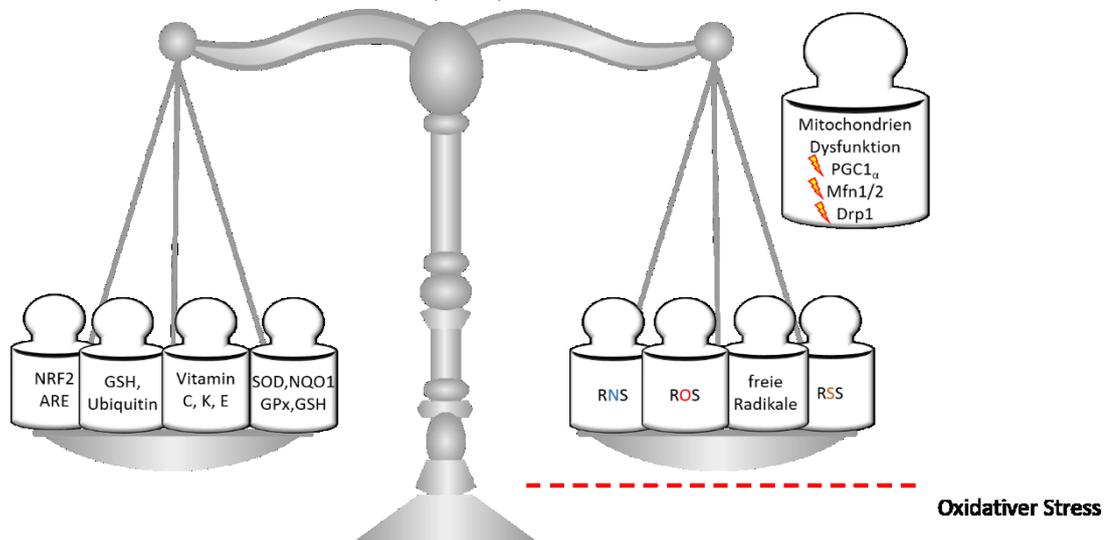


Abbildung 1: Waage für oxidativen Stress; NRF2: Nuklearer Respiratorischer Faktor, ARE: Antioxidans Responsiv Element, GSH: Glutathion, SOD: Superoxid Dismutase, NQO1: Quinonoxidreduktase, GPx: Glutathionperoxidase, GST: Glutathion-S-Transferase, RNS: Reaktive X Spezies, PGC1 $\alpha$ : Peroxisom-Proliferator-aktivierender-Rezeptor- $\gamma$ -Coactivator 1; Mfn1/2: Mitofusin 1 bzw. 2; Drp1: Dynamine related protein 1

Kommt es zu einem Ungleichgewicht zwischen oxidativen und antioxidativen Spezies entsteht oxidativer Stress. Gründe hierfür liegen u.a. in Fehlfunktionen der beteiligten Prozesse. Oxidativer Stress resultiert in der Schädigung von Proteinen, Lipiden, DNA und Zellmembranen<sup>22</sup>.

Folgen davon sind Entzündungsprozesse, Verlust von Membranpotentialen, Zerstörung von Zellkompartimenten und Apoptose<sup>18,20,22,23</sup>. Durch diese Vorgänge kommt es, wie in einem Teufelskreislauf, zur verstärkten Bildung von ROS. Im Besonderen ist hierbei der Blick auf die Schädigung von Mitochondrien interessant.

Mitochondrien sind die zentrale Einheit der Energiegewinnung von humanen Zellen. Hier findet die Gewinnung der Reduktionsäquivalente  $\text{NADH}+\text{H}^+$  und  $\text{FADH}_2$  durch die oxidative Decarboxylierung von Pyruvat, die  $\beta$ -Oxidation und den Citratzyklus statt. Auch die Atmungskette als ATP-generierender Prozess ist innerhalb der Mitochondrien lokalisiert. Diese Prozesse sind durch Elektronenübertragungsprozesse unweigerlich mit der Generation von ROS verbunden. Innerhalb der Mitochondrien stehen daher Superoxid-Dismutasen zur schnellen Neutralisierung zur Verfügung<sup>20,24</sup>. Eine Fehlfunktion der Mitochondrien kann leicht zu einem Übermaß an ROS und oxidativem Stress führen, was, wie beschrieben, zur Apoptose und weiterer Mitochondriendysfunktion führt<sup>16</sup>. Neben Schädigungen durch ROS kommt es bei neurodegenerativen Erkrankungen wie AD, PD und ALS zu weiteren mitochondrialen Dysfunktionen. Mitochondrien sind durch ein Netzwerk von ständigem Auf- und Abbau charakterisiert. Die Fusion (engl.: fusion) und Teilung (engl.: fission) von Mitochondrien wird durch bestimmte Proteine wie Mitofusin (Mfn1/2) und Dynamin related protein 1 (Drp1) begleitet (Abbildung 1). Mutationen und Fehlfunktionen in diesen Proteinen führen zum Ungleichgewicht dieser Prozesse; die Folge sind mitochondriale Fehlfunktionen und Neurodegeneration<sup>22</sup>. Die in neurodegenerativen Erkrankungen festgestellte verminderte Aktivität von  $\text{PGC1}\alpha$  (Peroxisom-Proliferator-aktivierter-Rezeptor- $\gamma$ -Coactivator 1) führt zu einer verminderten Biogenese der Mitochondrien. Eine verminderte Anzahl an Mitochondrien kann in der Folge eine Überlastung und Beschädigung der vorhandenen Mitochondrien und oxidativen Stress auslösen<sup>24,25</sup>.

Ein weiteres gemeinsames Charakteristikum von neurodegenerativen Erkrankungen ist die Ansammlung von (fehlerhaften) Proteinen und Proteinfragmenten<sup>26</sup>. Es steht in der Diskussion, ob neurodegenerative Erkrankungen dem Charakter einer Prionenkrankheit entsprechen. Prionen sind als Proteine mit alternativer Konformation definiert, die sich zusammenlagern und eigenständig weiterverbreiten<sup>27,28</sup>. Bei vielen neurodegenerativen Krankheiten lassen sich Ansammlungen von Proteinen in Oligo- oder Polymeren feststellen, die teilweise kristalline Strukturen ausbilden. Dabei handelt es sich um physiologische Proteine, die sich fehlgefaltet haben oder Abbauprodukte, die miteinander interagieren<sup>27,29</sup>.

Die Ausbreitung dieser Strukturen folgt dabei betroffenen Nervenzell-Netzwerken. Ein plötzliches Neuauftreten in unabhängigen, isolierten Bereichen des ZNS wird selten beobachtet<sup>30</sup>. Die Agglomerate wirken dabei wie Kristallisationskeime bzw. Katalysatoren. Bei Injektion in unbetroffene Gebiete lässt sich nach einiger Zeit eine weitere Ausbildung beobachten<sup>31</sup>. Durch die physiologische Reproduktion der Proteine, entstehen im Verlauf immer größere Ansammlungen. Die Agglomerationskeime scheinen dabei, ähnlich einer Prionentransmission, über die Nervenzellen weitergegeben zu werden. Diese Vorgänge sind sowohl bei Morbus Alzheimer durch die Proteine Tau und A $\beta$ , bei Parkinson durch  $\alpha$ -Synuclein als auch bei ALS durch die Proteine SOD1 und TDP-43 beobachtet worden<sup>3,32,26</sup>. Die Agglomerate führen zu Entzündungsreaktionen, Schädigung der Mitochondrien und weiter zu oxidativem Stress<sup>27</sup>. Diese Faktoren befördern wiederum die Ausbildung der fehlerhaften Proteine<sup>31</sup>. Die grundlegenden Gemeinsamkeiten der neurodegenerativen Erkrankungen bedingen sich demnach gegenseitig. Die Auslöser und die betroffenen Strukturen sind jedoch bei allen Krankheiten unterschiedlich, sodass ein genereller Therapieansatz äußerst komplex wäre. Zurzeit steht für keine der Erkrankungen eine den Krankheitsverlauf verändernde Therapie zur Verfügung<sup>3</sup>. Für die Entwicklung einer solchen Therapie, müssen die Krankheiten zunächst separat betrachtet werden, um eventuelle gemeinsame Therapieprinzipien zu finden.

### **1.1.2 Morbus Alzheimer**

1906 beschrieb der Mediziner Alois Alzheimer die Krankheit zum ersten Mal, nachdem er strukturelle Veränderungen im Gehirn von verstorbenen Personen erkannte. Heute ist Morbus Alzheimer die häufigste neurodegenerative Erkrankung weltweit. Mehr als 40 Millionen Patienten leiden unter AD, Schätzungen gehen davon aus, dass bis zum Jahre 2030 mehr als 75 Millionen Menschen betroffen sein werden<sup>33</sup>. In mehr als 90% der Fälle tritt die Krankheit nach dem 65. Lebensjahr auf. Diese Variante wird als sporadisches bzw. late onset (später Beginn) AD bezeichnet. Unter familiärem bzw. early onset (früher Beginn) AD wird die Krankheit bezeichnet, wenn der Ausbruch der Krankheit in früheren Lebensjahren beginnt. Von dieser Art der Erkrankung sind jedoch nur 5% der Patienten betroffen. Stärker als beim sporadischen AD wird hier ein genetisch bedingter Ausbruch diskutiert<sup>34</sup>. Symptomatisch ist die Krankheit durch stetig voranschreitende Einschränkungen der Lern- und Gedächtnisleistung gekennzeichnet. Diese Einschränkungen sind auf den Verlust an Neuronen im Hippocampus der Amygdala und weiten Teilen von Temporal- und Frontallappen zurückzuführen<sup>30,35</sup>. Da der Verlauf fortschreitend ist, können verschiedene Krankheitsstadien unterschieden werden.

Zu Beginn der Erkrankung kommt es zu sporadischem Gedächtnisverlust, wobei keine größeren Einschränkungen im alltäglichen Leben auftreten. In einer mittleren Krankheitsphase, die den längsten Zeitabschnitt betrifft, kommt es zu starken Gedächtnislücken, Sprachstörungen, stark schwankende Gemütszustände und auffälliges Verhalten kommen hinzu. In der finalen Phase der Erkrankung ist ein der Umwelt angepasstes Verhalten und eine Verständigung mit Mitmenschen nicht mehr möglich. Das Bewegungsvermögen nimmt ab und eine Rund-um-die-Uhr-Betreuung ist erforderlich. Nach dem Ausbruch der Erkrankung hat die Krankheit nach durchschnittlich fünf bis zehn Jahren einen letalen Ausgang<sup>33</sup>.

Neurophysiologisch ist AD durch einen Mangel an acetylcholinerg Neurotransmission charakterisiert. Eine verminderte Anzahl an nikotinergen und muskarinergen Acetylcholinrezeptoren (AChR), ein Verlust an acetylcholinergen Neuronen und eine verminderte Konzentration von Acetylcholin (ACh) können beobachtet werden. Daneben kommt es zu einer Überaktivierung von NMDA-(N-Methyl-D-Aspartat)-Rezeptoren des glutamergen Neurotransmittersystems<sup>5,35</sup>. Die zurzeit vorhandenen symptomatischen Therapieoptionen stützen sich auf diese pathophysiologischen Veränderungen.

### **1.1.2.1 Pathogenese von Morbus Alzheimer**

In den letzten Jahrzehnten wurde ein großer Forschungsaufwand betrieben, um die Pathophysiologie und die Pathogenese der Krankheit besser verstehen zu können; ein vollständiges Verständnis konnte dabei jedoch bisher nicht erzeugt werden. Schon seit der ersten Beschreibung wurden im Gehirn von Patienten Proteinablagerungen erkannt. Diese Ablagerungen konnten extrazellulär als  $\beta$ -Amyloid Plaques und intrazellulär als Fibrillen von hyperphosphoryliertem Tau-Protein beschrieben werden. Neben den Proteinablagerungen werden vor allem oxidativer Stress, mitochondriale Dysfunktion und der Einfluss von Metallionen in der Pathogenese diskutiert<sup>8,36</sup>.

#### *Oxidativer Stress, mitochondriale Dysfunktion und Metallionen*

Der Einfluss von oxidativem Stress und mitochondrialer Dysfunktion auf die Ausbildung neurodegenerativer Erkrankungen ist bereits im Vorhinein angesprochen worden (vergl. 1.1.1 Gemeinsamkeiten neurodegenerativer Erkrankungen). Letztendlich kommt es aufgrund von oxidativem Stress zur Zerstörung von Proteinen, Zellmembranen und Zellkompartimenten, wodurch die Zelle zerstört wird oder durch Apoptose untergeht. Durch mitochondriale Dysfunktion kann oxidativer Stress mit seinen genannten Auswirkungen entstehen. Darüber hinaus sind die Mitochondrien an der  $\text{Ca}^{2+}$ -Homöostase der Zellen beteiligt.

Ein Zusammenbruch dieser Homöostase führt über apoptotische Signalkaskaden zur Neurodegeneration<sup>37</sup>. Oxidativer Stress wird durch die Ansammlung von Metallionen begünstigt und gefördert; einen zusätzlichen bzw. eigenen malignen Effekt konnte diversen Metallionen jedoch nicht nachgewiesen werden<sup>38</sup>.

### *Tau-Protein*

Das Tau-Protein gehört zu einer Proteinfamilie, die Mikrotubuli assoziierte Proteine (MAP) genannt wird. Tau ist das Hauptmitglied dieser Familie und beteiligt am Auf- und Abbau der Mikrotubulifilamente. Mikrotubuli stellen einen wichtigen Bestandteil des Zytoskeletts der Zellen dar. Neben stabilisierenden Aufgaben sind sie essenziell für den Transport innerhalb der Zelle. Insgesamt sind sechs Isoformen des Tau-Proteins bekannt, die durch alternatives Spleißen gebildet werden. Die Funktion von Tau ist durch Phosphorylierungsprozesse gesteuert. Nichtphosphoryliertes Tau hat eine höhere Affinität zu den Mikrotubuli, sodass Assoziation und Dissoziation mit dem Phosphorylierungsgrad korrelieren<sup>39,40</sup>. Die Phosphorylierungsvorgänge werden physiologisch durch viele verschiedene Kinasen übernommen. Hauptsächlich sind hier Prolin-directed-Protein-Kinasen (PDPK) wie Glykogen Synthase-Kinase 3 (GSK3), Cyclin-Dependent-Protein-Kinase-5 (CDK5) und C-Jun-amino-terminal-kinase (JNK) zu nennen. Die Vielzahl an Kinasen aus der Familie der PDPK erklärt sich durch sehr prolinreiche Phosphorylierungspositionen<sup>41</sup>. Als natives Protein ist Tau sehr flexibel und weist eine unorganisierte Struktur auf<sup>42</sup>. Bei pathophysiologischen Zuständen kommt es zu einer Hyperphosphorylierung und Bildung von pTau. Die modifizierten Strukturen aggregieren nun sehr leicht und bilden Filamente aus gepaarten Helices (engl.: paired helical filaments; PHF). Die PHF verzweigen sich untereinander weiter zu Neurofibrillen (engl.: neurofibrillary tangles; NFT)<sup>42,43</sup>. Durch die verminderte Affinität der pTau-Strukturen zu den Mikrotubuli und die verstärkte Selbstaggregation werden die Mikrotubuli nicht mehr ausreichend stabilisiert. Infolgedessen kommt es zu einem Zusammenbruch des Zytoskeletts, neuronaler Transportprozesse und damit zum Absterben von Neuronen.

Vorgänge, die zu einer Hyperphosphorylierung führen, sind zurzeit nicht vollständig verstanden. Es konnte aber gezeigt werden, dass A $\beta$ -Fragmente zu einer Überaktivität der Kinasen führen. A $\beta$  zeigt sich damit als Schlüsselstruktur in der Pathogenese von AD<sup>44-46</sup>.

### *Beta Amyloid Plaques*

Bereits bei der ersten Beschreibung der Krankheit wurden extrazelluläre Proteinansammlungen im Gehirn der Erkrankten beschrieben. Erst in den 1980er Jahren wurden diese als  $\beta$ -Amyloid-Polymere beschrieben und sind seither intensiv erforscht worden<sup>46</sup>. Der Name dieser leitet sich von ihrem Aufbau als „Stärke ähnliche“ Filamente in  $\beta$ -Faltblatt-Konformationen ab.



Die intensive Forschung hat im Laufe der letzten Dekaden immer neue Theorien hervorgebracht, wie die Bildung der A $\beta$ -Plaques mit der Pathogenese von AD erklärt werden kann. Dabei wurden zunächst die Plaques als toxische Spezies beschrieben. Nachdem Plaques auch im Gehirn gesunder Menschen gefunden wurden und Therapieansätze scheiterten, die nur die Auflösung der Plaques adressierten, konnten die Oligomere als die toxischen Fragmente identifiziert werden<sup>30,46,47</sup>. Wie genau die Oligomere zur Entwicklung von AD beitragen, ist weiterhin Thema intensiver Forschung. Die Bildung der Oligomere und deren Einfluss auf nachlaufende Prozesse scheinen der übergeordnete Auslöser für die Erkrankung zu sein. Im (nachgeschalteten) Verlauf entsteht oxidativer Stress, es folgen eine mitochondriale Dysfunktion und vermehrte Bildung von pTau. Diese Prozesse führen im Weiteren zum Untergang von Neuronen und zur ZNS-Atrophie. Eine erhöhte Menge an Oligomeren führt zur Bildung von ihnen übergeordneten Plaquestrukturen, deren Auftreten dadurch mit der Krankheit korreliert. Eine pharmakologische Entfernung der Plaques führt aber nicht zu einer Beeinflussung der Krankheit, da diese nur das Endprodukt der toxischen Oligomere darstellen<sup>8,16,22,44</sup>. Neben dem Auslösen von pathogenen Prozessen, wie mitochondrialer Dysfunktion, oxidativem Stress und pTau-Bildung, haben A $\beta$ -Oligomere selbst eine toxische Wirkung. In ihrer Eigenschaft,  $\beta$ -Faltblattstrukturen auszubilden, lagern sich die Filamente zu fassartigen Formationen zusammen. Diese „Fässer“ werden in den Zellmembranen gebildet und dienen hier als Ca<sup>2+</sup>-Kanäle. Der damit induzierte unkontrollierte Ca<sup>2+</sup>-Einstrom führt zum Zusammenbruch der Calciumhomöostase und zur Apoptose<sup>48,49</sup>. Die Pathogenese von AD durch A $\beta$ <sub>1-40/42</sub>-Fragmente und ihrer Kaskade zur Neurodegeneration sind in Abbildung 3 veranschaulicht.

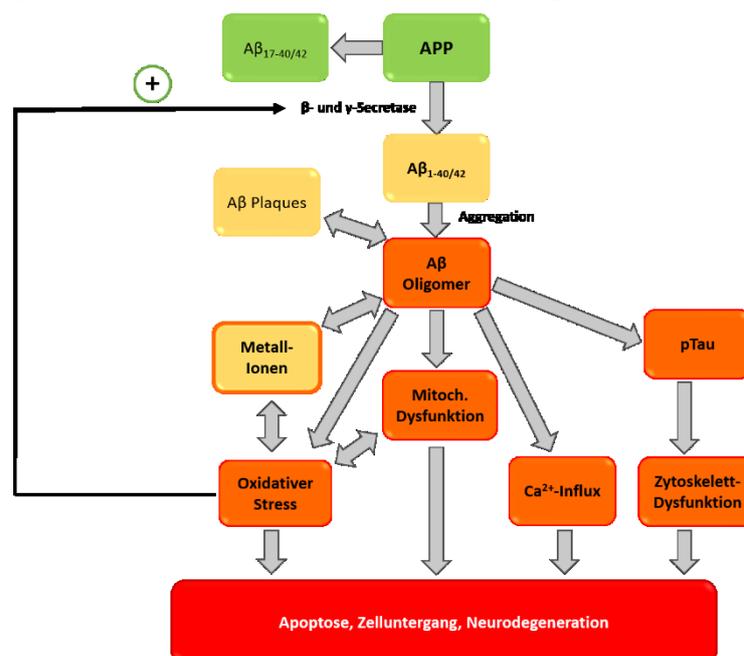


Abbildung 3: Kaskade der Alzheimerpathogenese; grün: harmlose Zustände, beige: nicht toxische Spezies, orange: toxische Vorstufen/ Zustände, rot: Manifestierung toxischer Zustände

### 1.1.2.2 Therapie von Morbus Alzheimer

#### Zugelassene Arzneistoffe

Wie beschrieben (1.1.2) stützt sich die zurzeit zugelassene pharmakologische Therapie von AD auf den Mangel an ACh und die Antagonisierung von NMDA-Rezeptoren. Um die Konzentration an ACh zu erhöhen und damit die ACh-Neurotransmission verbessern zu können, werden Acetylcholinesterase-Inhibitoren (AChE-Inh.) eingesetzt. Die Acetylcholinesterase (AChE) ist maßgeblich für den Abbau von freigesetztem ACh verantwortlich. Durch eine Blockade des Enzyms wird damit der Abbau von ACh verlangsamt und sowohl die Konzentration erhöht als auch die Wirkdauer im synaptischen Spalt verlängert. Acetylcholin wird dabei in seine inaktiven Bestandteile Cholin und Essigsäure gespalten (Abbildung 4)<sup>50</sup>. Zugelassen zur Behandlung von milden bis mittelstarken Formen des Morbus Alzheimer sind Donepezil, Rivastigmin und Galantamin<sup>5,51</sup>. Die Inhibitoren haben dabei unterschiedliche Inhibitionsmechanismen; so sind Donepezil und Galantamin reversible Inhibitoren und Rivastigmin ein pseudo-irreversibler Inhibitor. Galantamin weist daneben noch eine modulatorische Eigenschaft an nikotinergen AChR auf<sup>52</sup>.

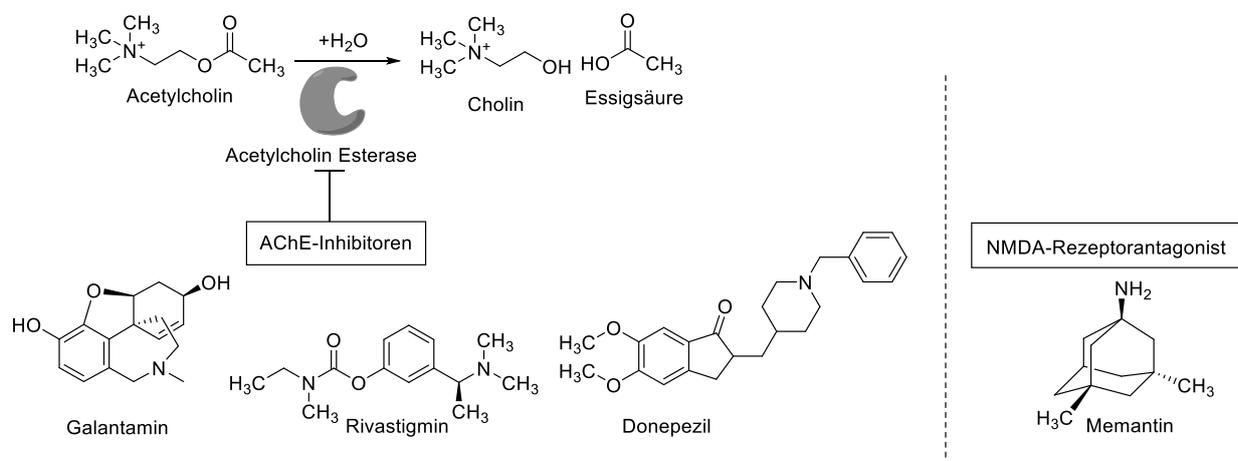


Abbildung 4: AD Therapieansätze: Acetylcholinesterase-Reaktion und -Inhibitoren & NMDA Antagonist Memantin

Alle drei Substanzen konnten in Studien eine moderate Verbesserung in Kognition und Lern- bzw. Gedächtnisleistungen zeigen<sup>52,53</sup>. Dabei werden neben der eigentlichen Wirkung über die Erhöhung an ACh zusätzliche Effekte diskutiert, deren Evidenz jedoch noch unklar ist<sup>53</sup>. Nebenwirkungen, wie z.B. Miosis oder Bradykinie, sind durch die erhöhte ACh-Konzentration im Körper zu erklären und sind daher cholinergischer Natur.

Neben den AChE-Inh. wird der glutamaterge NMDA-Rezeptorantagonist Memantin in der Therapie von AD verwendet. Hier konnte ebenfalls eine Verbesserung von Lernvermögen und Kognition gezeigt werden.

NMDA-Rezeptoren sind Rezeptoren des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat. Postsynaptische ionotrope Glutamat-Rezeptoren, wie  $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazolpropionsäure-(AMPA)-Rezeptoren und NMDA-Rezeptoren, vermitteln die exzitatorischen Effekte über einen unselektiven Kationeneinstrom und einer daraus resultierenden Depolarisation der Nervenzelle<sup>54</sup>. Im inaktivem Zustand wird die Kanalpore des NMDA-Rezeptors durch Magnesiumionen blockiert. Für eine Öffnung ist daher eine vorherige Depolarisation der Nervenzelle nötig, die häufig über eine AMPA-Rezeptor-Aktivierung erfolgt<sup>55</sup>. NMDA-Rezeptoren weisen eine hohe Leitfähigkeit für  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen auf. Bei einer Überstimulation kommt es zu einem starken  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom, der den Zusammenbruch der  $\text{Ca}^{2+}$ -Homöostase zur Folge hat und die Zelle zur Apoptose zwingt<sup>54,56</sup>. Die Nervenzellschädigung, die durch eine unkontrollierte NMDA-Rezeptoraktivierung ausgelöst wird, wird als Exzitotoxizität bezeichnet<sup>33</sup>. A $\beta$ -vermittelt kann es zu einer verminderten Glutamat-Wiederaufnahme in die Nervenzellen kommen. Eine erhöhte Verweildauer im synaptischem Spalt und damit eine erhöhte Rezeptorstimulation sind die Folge. Auf diese Weise kann A $\beta$  zu exzitotoxischen Zuständen beitragen<sup>57</sup>.

Als NMDA-Rezeptor-Antagonist verhindert Memantin die Aktivierung des Rezeptors und eine Überstimulation durch Glutamat. Wie AChE-Inh kann Memantin allerdings nur bei milden Formen von AD eine symptomatische Verbesserung erzielen. Arzneistoffe, die einen kurativen oder zumindest einen krankheitsverlangsamenden Effekt haben, sind zum jetzigen Stand nicht zugelassen.

### *Arzneistoffe in der klinischen Testung*

Neben der Erforschung der Pathogenese und der Pathophysiologie wurde ein großer Aufwand zur Entwicklung neuer Arzneistoffe betrieben. Das Hauptziel dieser Entwicklung war und ist eine Therapieoption zu finden, die den Verlauf der Krankheit beeinflussen kann. Diese krankheitsbeeinflussenden Arzneistoffe bzw. Therapien (eng.: disease modifying drugs [DMD] bzw. disease modifying therapies [DMT]) verlangsamen, stoppen oder heilen die Krankheit. Im Gegensatz dazu sind symptomatische Therapien zu betrachten: der Verlauf der Krankheit wird hierbei nicht beeinflusst, aber die aktuellen Auswirkungen abgemildert<sup>3</sup>. Analog zu den pathophysiologischen Entdeckungen wurden Arzneistoffe entwickelt, die diesen Zustand adressieren.

Tabelle 1 fasst eine Auswahl an Arzneistoffkandidaten, ihre pathophysiologischen Ziele sowie deren Bewertung hinsichtlich der aktuellen Studienlage zusammen. Die Substanzen stellen eine Auswahl an vielversprechenden Wirkstoffkandidaten dar, die aufgrund von Literaturmeinungen getroffen wurde.

Tabelle 1: Übersicht über Arzneistoffkandidaten in der klinischen Testung für AD

Zielstruktur/ Substanzklasse	Substanzname	Klinische Testphase	Bewertung
β-Secretase- Inhibitor	Verubecestat	III	Fehlende Effizienz <sup>58</sup>
	Azeliragon	III	Fehlende Effizienz <sup>58</sup>
γ-Secretase- Inhibitor	Semagacestat	III	Fehlende Effizienz <sup>58</sup> Toxische Effekte <sup>59</sup>
Aβ-Antikörper	Aducanumab	III	Fehlende Effizienz <sup>60</sup>
	Gantenerumab	III	Fehlende Effizienz <sup>61</sup>
	Solanezumab	III	Fehlende Effizienz <sup>62</sup>
	Bapineuzumab	III	Fehlende Effizienz <sup>60</sup>
Aβ-Vakzin	AN1792	II	Abbruch: Meningoenzephalitis <sup>60</sup>
Tau-Antikörper	verschiedene	0-III	Bewertungen ausstehend <sup>63</sup>
Tau-Vakzin	AADvac-1	II	Bewertung ausstehend <sup>64</sup>
Tau-Aggregations- Inhibitoren	TRx0237	III	Uneindeutige Aussagen <sup>64</sup>
H <sub>3</sub> R-Antagonist	ABT-288	II	Fehlende Effizienz <sup>65</sup>
	GSK-239512	II	Fehlende Effizienz <sup>65</sup>
5-HT <sub>6</sub> R- Antagonist	Idalopiridin	III	Fehlende Effizienz <sup>66</sup>
RAGE- Inhibitor	Azeliragon	III	Fehlende Effizienz <sup>67</sup>
IGF <sub>1</sub> - Homöostase	NNZ-2591	I	Bewertung ausstehend <sup>68</sup>

*Aβ: Beta-Amyloid Fragmente, H<sub>3</sub>R: Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor, 5-HT<sub>6</sub>R: Serotonin-Rezeptor-Subtyp 6, RAGE: Receptor of Advanced Glycation Endproducts, IGF1: Insulin like Growth Factor 1*

Tabelle 1 zeigt, dass eine Vielzahl verschiedener Ansatzpunkte für eine DMT getestet wurde. Obwohl dies nur eine Auswahl an Therapieoptionen darstellt, konnte keine einen positiven Effekt auf die Erkrankung zeigen. Kein Kandidat in Phase III der klinischen Studien war in der Lage, einen signifikanten Unterschied zur Vergleichstherapie zu erbringen.

Ein Scheitern in Phase III lässt annehmen, dass die Ansatzpunkte nicht grundsätzlich falsch sein können, da vorherige Studien erfolgreich verliefen. Besonders im Hinblick auf die Adressierung der toxischen  $\beta$ -Amyloid Strukturen zeigt Aducanumab ( $A\beta$ -Antikörper), dass durch die Verminderung an  $A\beta$ -Spezies positive Effekte erzielt werden können. Die Phase III Studien „ENGAGE“ und „EMERGE“ wurden zwar zunächst als „fehlgeschlagen“ bewertet, im Nachhinein konnten aber signifikante Verbesserungen in Subpopulationen erkannt werden. Eine Zulassung wurde bei der FDA (Food and Drug Administration, Arzneimittelzulassungsbehörde der USA) beantragt<sup>69,70</sup>. Nach Meinung der Entwickler wäre eine längere und höher dosierte Therapie notwendig gewesen<sup>70</sup>. Die  $\beta$ -Amyloid-Strukturen bleiben damit weiterhin einer der vielversprechendsten Ansätze und Schlüsselstrukturen der Erkrankung.

Die Substanz NNZ-2591 stellt hinsichtlich ihrer Therapieidee als IGF<sub>1</sub>-Homöostasemediator (Wachstumsfaktor Insulin Like Growth Faktor 1, IGF<sub>1</sub>) einen neuen Ansatzpunkt dar. Anders als bei den vorher genannten Substanzen adressiert NNZ-2591 nicht eine pathophysiologische Struktur und versucht damit die Progression der Krankheit zu stoppen; vielmehr soll IGF<sub>1</sub> als stimulierender Wachstumsfaktor vermehrt freigesetzt werden, um dem Verlust an Neuronen entgegenzuwirken. NNZ-2591 verdrängt IGF<sub>1</sub> aus seinem Bindungsprotein (IGF<sub>1</sub>BP<sub>3</sub>) und erhöht damit die Konzentration an IGF<sub>1</sub>. Eine übermäßige Freisetzung von IGF<sub>1</sub> wird verhindert, da IGF<sub>1</sub> in höheren Konzentrationen NNZ-2591 aus dem Bindungsprotein verdrängen kann.

NNZ-2591 ist eine Weiterentwicklung der Arzneistoffkandidaten Glypromate<sup>®</sup> (GPE Tripeptide, siehe Abbildung 5) und Trofinitid<sup>®</sup>, die klinische Studien der Phase II und III durchliefen. Das Tripeptid Glycin-Prolin-Asparaginsäure (GPE) und Trofinitid<sup>®</sup> sind Prodrugs, die zu cyclischem Glycin-Prolin (cGP) kondensieren. cGP ist das enzymatischen Abbauprodukt von IFG<sub>1</sub> welches physiologisch IGF<sub>1</sub>, aus dem IGF<sub>1</sub>BP<sub>3</sub> verdrängt und damit die freie IGF<sub>1</sub>-Konzentration reguliert<sup>71-73</sup>.

Abbildung 5 zeigt die Strukturen der Arzneistoffkandidaten und stellt die IGF<sub>1</sub>-Homöostase schematisch dar.

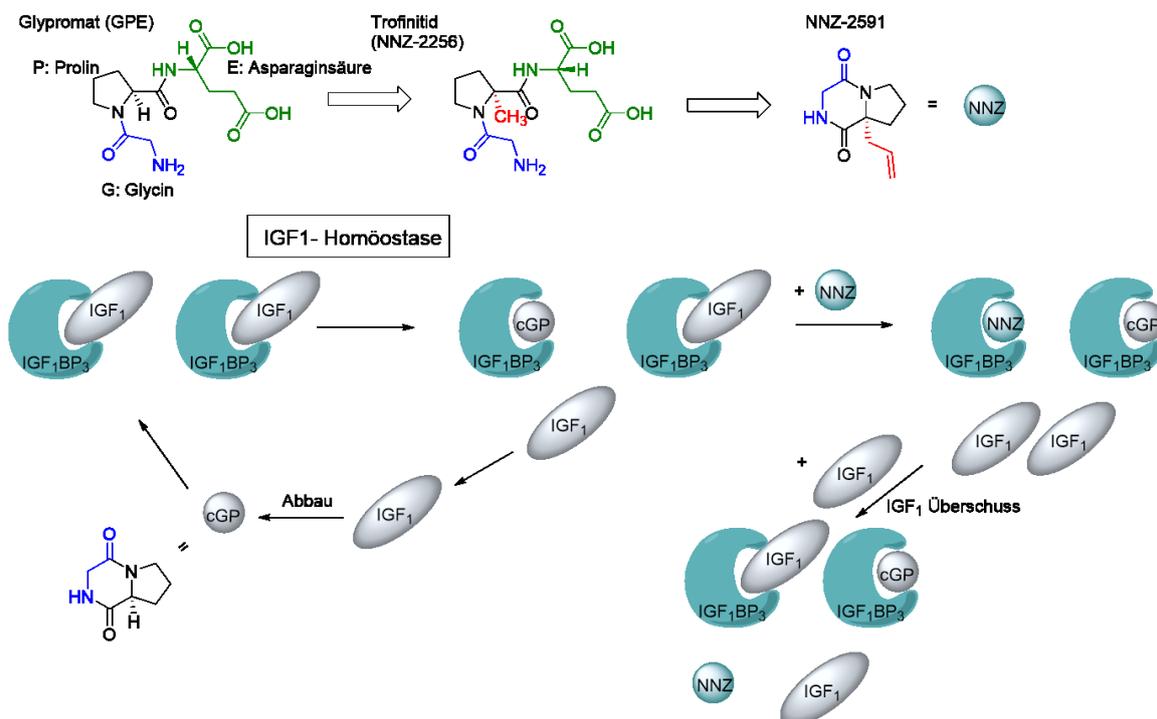


Abbildung 5: IGF<sub>1</sub> Homöostase und Intervention mit NNZ-2591; IGF<sub>1</sub>: Insuline like growth factor, IGFBP: IGF<sub>1</sub> Binding Protein, cGP: cyclisches Glycin Prolin

Durch die erhöhte Menge an Wachstumsfaktor kann der Verlust an Neuronen ausgeglichen werden. Es bedarf weiterer klinischer Daten, wie sich der weiter fortschreitende Verlauf der Krankheit und der neogenetische Effekt ausgleichen können. Darüber hinaus kann eine Kombination mit Substanzen, die die Pathogenese unterbrechen, zu synergistischen Effekten führen.

Die Auswertung der Arzneistoffkandidaten zeigt auch, dass eine „eine Krankheit, eine Zielstruktur“-Therapie nicht erfolgreich ist. Eine Kombination von Prinzipien und Ansatzpunkten als mögliche pharmakologische Intervention sollte daher Ziel der weiteren Forschung sein. Das Design von Arzneistoffen, die dabei mehrere Therapieprinzipien in einem kombinieren, wird als Multitarget-Substanz (engl: Multi Target Directed Ligand; MTDL) bezeichnet. Solche MTDL zeigen in präklinischen Studien vielversprechende Ergebnisse<sup>5,74,75</sup>. Die polyvalente Beeinflussung von Zielstrukturen macht die Erforschung von MTDL auch in weiteren neurodegenerativen und neurologischen Erkrankungen interessant. In der pharmakologischen Therapie der Schizophrenie wurden, ausgehend von reinen Dopamin-Rezeptor-Antagonisten, Arzneistoffe entwickelt, die an mehreren Rezeptoren angreifen und so zu besseren Therapieerfolgen führen.

### 1.1.3 Schizophrenie

Die Schizophrenie zählt zu den Krankheiten, die durch eine neuronale Fehlentwicklung in früher Kindheit entstehen. Diese ist Ursache von genetischen Prädispositionen und Umwelteinflüssen<sup>76</sup>. Erste Symptome der Erkrankung zeigen sich jedoch erst nach der Pubertät<sup>77</sup>. Eine frühe pharmakologische Therapie kann den Verlauf der Krankheit positiv beeinflussen und ein besseres Ansprechen auf die Therapie, bis hin zur Remission erzielen. Dies gilt als Indiz dafür, dass die neuronalen Fehlentwicklungen auch nach Einsetzen der Symptome weiter voranschreiten<sup>78</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass Schizophreniepatienten ein fortschreitend vermindertes Volumen an weißer und grauer zerebraler Substanz aufweisen. Der Verlust beginnt im Frontallappen und weitet sich in späteren Krankheitsphasen über weitere ZNS-Bereiche aus<sup>12</sup>. Durch Behandlung mit Dopamin-D<sub>2</sub>R-Antagonisten konnte eine kompensatorische Volumenzunahme festgestellt werden<sup>79</sup>. Der fortlaufende Verlust an Nervenzellen charakterisiert Schizophrenie daher als eine neurodegenerative Erkrankung.

Dopamin übt seine Wirkung im ZNS über fünf Dopamin-Rezeptor-Subtypen aus. Diese werden als D<sub>1-5</sub>R bezeichnet und im Kapitel 1.3.3 weitergehend behandelt. Zum Verständnis der Schizophrenie und der pharmakologischen Therapie sind zunächst zwei Gruppen von Dopaminrezeptoren zu unterscheiden. Dopamin-D<sub>1</sub>- und -D<sub>5</sub>Rezeptoren sind aktivierende Rezeptoren, die als D<sub>1</sub>-Klasse bezeichnet werden. Dopamin-D<sub>2</sub>-, -D<sub>3</sub>- und -D<sub>4</sub>-Rezeptoren zeigen inhibitorische Effekte und werden als D<sub>2</sub>-Klassen zusammengefasst<sup>80</sup>.

#### 1.1.3.1 Pathophysiologie der Schizophrenie

##### *Die Dopaminhypothese*

Neurophysiologisch lässt sich eine Dysregulation der dopaminergen Neurotransmission erkennen<sup>81</sup>. Seit der Entdeckung dieser Umstände, wird die „Dopaminhypothese“ in der Pathogenese der Schizophrenie diskutiert. Im mesolimbischen System eines Erkrankten lässt sich eine Dopaminüberaktivität feststellen (Abbildung 6). Im mesokortikalen Schaltkreis kann dagegen eine verminderte dopaminerge Transmission gemessen werden. Die unterschiedlichen Fehlregulationen resultieren in zwei Gruppen von Symptomen: Positivsymptome wie Halluzination, Wahnvorstellungen, Denkstörungen und Ich-Störungen (z.B. „Stimmen hören“) sind der mesolimbischen Überaktivität zuzuschreiben; Negativsymptome, wie soziale Distanzierung, Lustlosigkeit, Sprachverarmung und Willenlosigkeit sind auf eine verminderte mesokortikale Dopaminregulation zurückzuführen<sup>82</sup>. Die Positivsymptome werden auch als akute Phase und die Negativsymptome als eine Art intermediäre Phase beschrieben<sup>83</sup>.

Der Widerspruch von dopaminergem Über- und gleichzeitiger Unterfunktion kommt durch eine exzessive striatale Transmission zustande, die im Cortex zu einer herunterregulierten Aktivität führt. Der Einfluss dopaminergem Überfunktion konnte durch den Einsatz von Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten bestätigt werden, da diese die positive Symptomatik verbessern konnten. Auch der dopaminerge Effekt von Amphetamin, der zur Auslösung von Psychosen führt, stützt die Hypothese<sup>84</sup>. Negativsymptomatika können dagegen nicht vollständig durch die „Dopaminhypothese“ erklärt werden<sup>85</sup>.

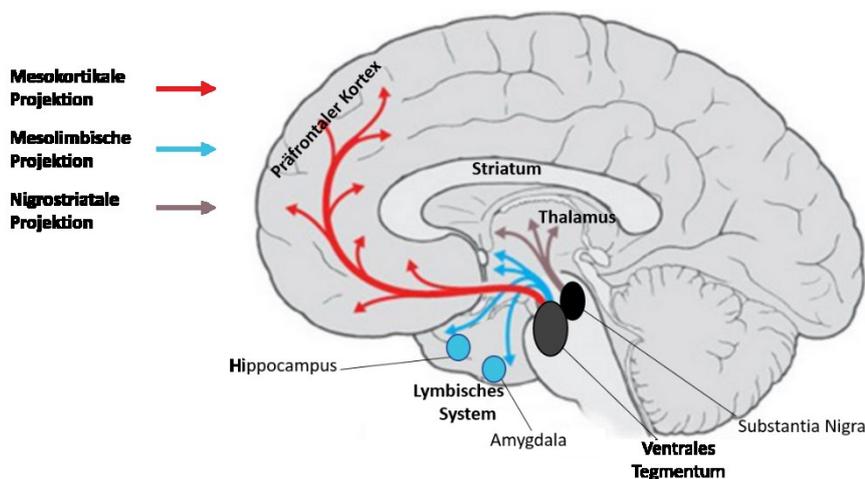


Abbildung 6: Dopaminerge Verschaltung in der Schizophrenie modifiziert nach Hahn<sup>88</sup>

Neben den positiven und den negativen Symptomen sind in der letzten Zeit besonders kognitive Symptome in den Fokus der Forschung gerückt. Auch diese lassen sich mit der Dopaminhypothese nicht mehr vollständig erklären, sodass weitergehende Hypothesen formuliert wurden<sup>86,87</sup>. Der Einfluss von Dopamin auf die Pathogenese wird dabei keinesfalls infrage gestellt, vielmehr wird die Hypothese erweitert, um alle Symptomatika erklären zu können.

### Die Glutamathypothese

Zu den kognitiven Symptomen werden Einschränkungen der Aufmerksamkeit, dem Wahrnehmungsvermögen, der Gedächtnisleistung und dem Lernvermögen gezählt<sup>89</sup>. Verminderte dopaminerge Konnektivität zwischen präfrontalem Kortex und dem Hippocampus, sowie der Amygdala sind Ursache dieser Symptomatik (Abbildung 6)<sup>81</sup>. Exzitotoxizität von Glutamat (vergl. 1.1.2.2) sowie oxidativer Stress führen zum Zelltod in diesen Gebieten und gelten als verantwortlich für die Verminderung der Signalleitungskapazität<sup>90</sup>. Die erhöhte Konzentration von Glutamat im präfrontalen Kortex ist eine Folge von fehlerhaften Verschaltungen. Die Ausschüttung von Glutamat aus kortikalen Pyramidenzellen wird durch Interneurone reguliert. Interneurone projizieren mit dem inhibitorischen Neurotransmitter  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) auf die Pyramidenzellen und

vermindern so die Glutamatausschüttung. Die Interneurone selbst werden von weiteren glutamatergen und dopaminergen Neuronen reguliert<sup>86,91</sup>. Durch NMDA-Antagonisten kann eine verminderte Interneuroneninhibition ausgelöst werden, was wiederum Symptomatiken der Schizophrenie auslöst<sup>92</sup>. Die erhöhte Glutamatkonzentration führt im präfrontalen Kortex zu einer Überstimulation von glutamatergen AMPA-Rezeptoren<sup>92</sup>. Neben einer reduzierten Informationsverarbeitung kann es zur toxischen Überstimulation kommen, welche aus neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer bekannt ist („Exzitotoxizität“, vergl. 1.1.2.2)<sup>85,93</sup>. Apoptose und Zelluntergang führen zu dem, für neurodegenerative Erkrankungen typischen, progressiven Verlauf und erklären die sich verschlechternde Symptomatik und das verminderte Ansprechen auf die medikamentöse Therapie<sup>79</sup>.

Die Interneurone können als Verbindungsglied zwischen der Glutamat- und der Dopaminhypothese angesehen werden. Eine erhöhte Dopaminkonzentration im mesolimbischen System führt zur Ausbildung von Positivsymptomen; desweiteren führt diese über dopaminerge Rezeptoren des Subtyps D<sub>3</sub> an den Interneuronen zu einer verminderten GABA-Ausschüttung. Die Folge ist eine erhöhte toxische Glutamatfreisetzung im Cortex und der Verlust von mesokortikalen Verschaltungen, welche Ursache für die negative und kognitive Symptomatik sind<sup>91,92,94</sup>.

### *Oxidativer Stress*

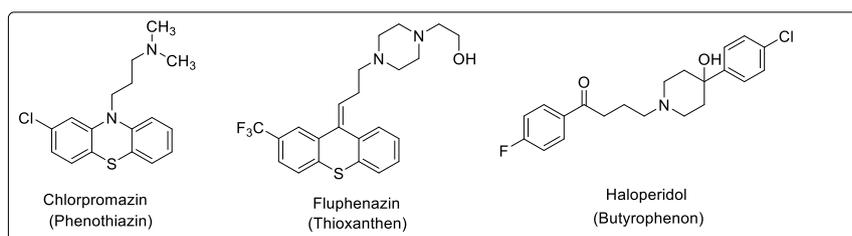
Eine weitere Begründung der verminderten Verschaltungen im präfrontalen Kortex ist das Auftreten von oxidativem Stress. Im ZNS von Schizophreniepatienten konnten neben einem erhöhten Level an oxidativen Spezies eine verminderte Menge an antioxidativen Faktoren, wie SOD, GPx und Katalase (CAT) gemessen werden<sup>16,90,95</sup>. Die Hypothesen lassen sich so um einen weiteren Faktor erweitern. Neben exzitotoxischem Glutamat führt auch oxidativer Stress zu einem Fortschreiten der Erkrankung.

### **1.1.3.2 Pharmakologische Therapie der Schizophrenie**

Mit dem ersten Arzneistoff zur Behandlung der Schizophrenie kam 1950 Chlorpromazin, ein Phenothiazin-Derivat, auf den Markt. Bis 1970 folgten weitere Arzneistoffe wie Promazin (Phenothiazin-Derivat), Fluphenazin (Thioxanthen-Derivat) und Haloperidol (Butyrophenon-Derivat) (Abbildung 7). Die Substanzen repräsentieren D<sub>2</sub>R-Antagonisten und üben ihren antipsychotischen Effekt über die postsynaptische D<sub>2</sub>R-Blockade aus<sup>96</sup>. Die Positivsymptome können durch diese Gruppe gut behandelt werden. Als gemeinsame Nebenwirkung zeigen sich jedoch extrapyramidale Störungen (EPS).

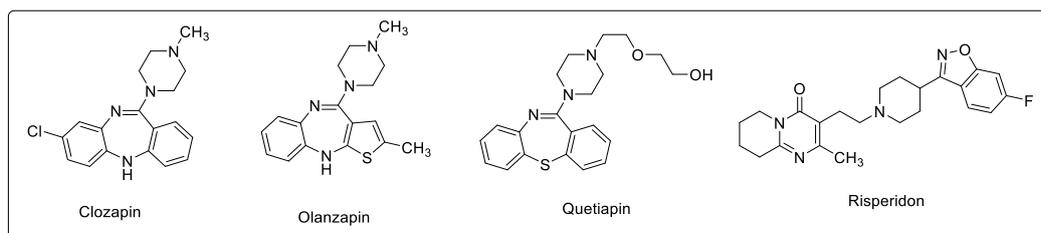
Durch den Dopaminantagonismus im nigrostriatalem System kommt es zu parkinson-ähnlichen Symptomen wie Akinese (Bewegungsarmut), Rigor (Starrheit) und Tremor (Zittern)<sup>97</sup>. Weiter kann es zu Frühdyskinesie mit Akathisie (Sitzunruhe), Schlundkrampf und „Rabbit-Syndrom“ (mümmelnde Kaubewegungen) kommen<sup>98</sup>. Als Spätfolge der Therapie kommt es zu Spätdyskinesien mit sich wiederholenden, unwillkürlichen Bewegungen wie Grimmassenziehen, Kauen und Schmatzen<sup>96</sup>. Substanzen dieser Klassen werden als typische Antipsychotika oder Antipsychotika der ersten Generation bezeichnet.

### Typisch

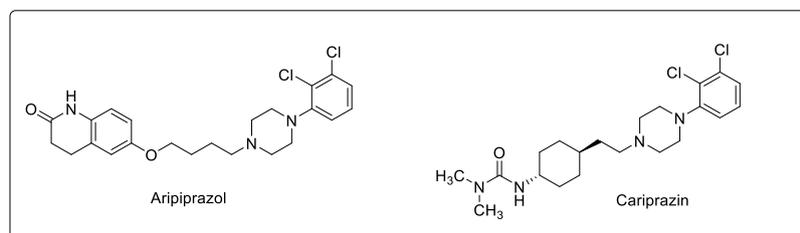


### 1. Generation

### Atypisch



### 2. Generation



### 3. Generation

Abbildung 7: Antipsychotika verschiedener Generationen

Mit Clozapin wurde 1959 ein Antipsychotikum ohne nennenswerte EPS-Symptomatik vorgestellt, welches 1990 als erster Vertreter der Gruppe der atypischen Antipsychotika zugelassen wurde<sup>99</sup>. Weitere Vertreter dieser Klasse folgten als die zweite Generation Antipsychotika mit Olanzapin, Quetiapin und Risperidon (Abbildung 7). Trotz unterschiedlich starker klinischer Effekte, wurde ein besseres Ansprechen auf negative und kognitive Symptomatiken bei vermindertem Auftreten von EPS festgestellt<sup>100</sup>. Als verantwortlich für das neue Wirkprofil wird ein 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor (Serotonin-Rezeptor-Subtyp-2A)-Antagonismus diskutiert, der eine erhöhte nigrostriatale Dopaminneurotransmission und eine erhöhte DA- und ACh-Konzentration im präfrontalen Kortex zur Folge hat. Bei andauernder D<sub>2</sub>R-Hemmung im mesolimbischen System kann so der klinische Effekt erklärt werden<sup>101</sup>.

Ein anderer Erklärungsansatz wurde durch Seeman et. al. diskutiert; durch geringere Verweilzeiten am D<sub>2</sub>R sollen die antipsychotischen Effekte erzielt werden können, ohne EPS zu erzeugen. Eine kürzere Verweildauer ist durch eine schnellere Dissoziation und einer größeren Dissoziationskonstante ( $K_{\text{off}}$ ) gekennzeichnet<sup>93,99,102</sup>. Neben dem 5-HT<sub>2A</sub>R werden jedoch noch weitere, unerwünschte Rezeptoren adressiert, z.B kann die Blockade des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors (H<sub>1</sub>R) zur Sedierung und Gewichtszunahme führen<sup>93,96</sup>.

2004 kam mit Aripiprazol (Abbildung 7) ein Vertreter der atypischen Antipsychotika dritter Generation auf den Markt. Anders als zuvor, handelt es sich dabei nicht um einen Dopaminantagonisten, sondern einen partialen Agonisten: bei hoher Dopaminkonzentration kommt durch eine geringere intrinsische Aktivität eine antagonistische Wirkung zu Stande; verminderte Dopaminkonzentrationen führen hingegen zu einer agonistischen Wirkung<sup>96</sup>. Mit Cariprazin kam ein weiterer Vertreter der dritten Generation hinzu, der neben den positiven und negativen Symptomen auch verstärkt die kognitiven Symptome therapieren kann<sup>103</sup>. Neben dem neuen Wirkmechanismus als partielle Agonisten sind auch die hohe Affinität zum Dopamin-D<sub>3</sub>-Rezeptor (D<sub>3</sub>R) in das Interesse gerückt. Besseres Ansprechen auf die negative und kognitive Symptomatik werden mit einer D<sub>3</sub>R-Präferenz in Verbindung gebracht<sup>104</sup>. Unterschiede in der klinischen Effektivität von Aripiprazol und Cariprazin können mit einer unterschiedlich langen Rezeptorverweildauer erklärt werden. Es konnte gezeigt werden, dass Cariprazin eine höhere D<sub>3</sub>R-Affinität und Verweildauer am Rezeptor zeigt, was die klinischen Unterschiede erklären könnte<sup>104,105</sup>. Daneben führt eine Blockade des D<sub>3</sub>R, wie oben beschrieben, zur verminderten Glutamatausschüttung; ein Prozess, der in starkem Zusammenhang mit den negativen und kognitiven Symptomatiken der Schizophrenie steht. (vergl.: 1.1.3.1)

Der Fortschritt in der pharmakologischen Therapie der Schizophrenie unterstreicht den multifaktoriellen Charakter der Erkrankung. Reine D<sub>2</sub>R-Antagonisten reichen zur zufriedenstellenden Therapie nicht aus. Neben dem D<sub>3</sub>R sind auch der D<sub>1</sub>R und der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor Gebiet intensiverer Forschung. D<sub>1</sub>R-Agonisten sowie H<sub>3</sub>R-Antagonisten weisen einen prokognitiven Effekt auf, der vorteilhaft für die Therapie der kognitiven Symptome sein kann. Auch Eingriffe in das glutamaterge und gabaerge Signalsystem, sowie antioxidative Ansätze, zeigen interessante Ergebnisse.

Schon das Rezeptorprofil der zugelassenen Arzneistoffe zeigt, dass multifunktionale Liganden besser für eine Behandlung geeignet sind (Tabelle 2). Wie auch in der Alzheimerforschung (1.1.2.2) reicht es nicht aus, nur eine Zielstruktur zu adressieren<sup>16,86,103</sup>.

Tabelle 2: Rezeptorprofile von Antipsychotika

	1. Generation		2. Generation		3. Generation	
Arzneistoff	Chlorpromazin	Haloperidol	Clozapin	Risperidon	Aripiprazol	Cariprazin
D <sub>2</sub> R	2,3	1,4	119,0	2,2	1,4	0,6
D <sub>3</sub> R	2,4	2,9	242,0	6,0	1,0	0,1
D <sub>1</sub> R	112,0	83,0	193,0	267,0	387,0	<1000
5-HT <sub>2A</sub>	15,6	84,7	6,5	0,4	8,7	19,0
5-HT <sub>1A</sub>	3057,0	1808,0	140,0	420,0	5,6	3,0
H <sub>1</sub> R	2,8	851,0	1,8	18,8	29,0	23,0

Angabe der Affinität als  $K_i$  in nM, D<sub>x</sub>R: Dopamine-Rezeptor-Subtyp X, 5-HT<sub>x</sub>: Serotonin Rezeptor Subtyp X, H<sub>1</sub>: Histamin-Rezeptor-Subtyp 1<sup>76</sup>, blau: Agonist, lila: partial Agonist, schwarz: Antagonist

Besonders interessant kann hier der H<sub>3</sub>R mit seine prokognitiven Eigenschaften in einer Kombination mit von Cariprazin und Aripiprazol abgeleiteten Therapieprinzipien sein. Um H<sub>1</sub>R vermittelte Nebenwirkungen zu vermeiden, sollte auf ein vorteilhaftes Rezeptorprofil geachtet werden. Dopaminerge und histaminerge Neurotransmission sind wichtige Neurotransmittersysteme im Hinblick auf neurodegenerative Erkrankungen.

## 1.2 Histamin

### 1.2.1 Physiologie des Histamins

Sir Henry Dale und seine Kollegen beschrieben 1910 die Entdeckung von 2-(1*H*-Imidazol-4-yl)-ethanamin (Histamin)<sup>106</sup>, welches erstmals 1927 aus menschlichem Gewebe extrahiert werden konnte<sup>107</sup>. Histamin ist ein biogener Signalbotenstoff, der in nahezu allen Geweben und Organen des Körpers vorkommt und diverse Funktionen reguliert. Dazu zählen viele physiologische Vorgänge mit Einfluss auf die glatte Muskulatur, das Gastro-Intestinal-System, das Herz-Kreislaufsystem, das Immunsystem und das zentrale und periphere Nervensystem. Als lokaler Mediator führt Histamin im Magen zu einer erhöhten Säureproduktion, löst in der Haut und den Lungen lokale Vasodilatationen aus und wirkt als Entzündungsmediator des Immunsystems. Als Neurotransmitter im ZNS beeinflusst Histamin z.B. die Temperaturregulierung, den Schlaf-Wach-Rhythmus, sowie Lern- und Gedächtnisvorgänge<sup>108,109</sup>.

### 1.2.1.1 Biosynthese und Metabolismus von Histamin

Histamin wird aus der Aminosäure L-Histidin gebildet. Die Biosynthese wird durch die Histidindecarboxylase (HDC) enzymatisch katalysiert. Dabei erfolgt innerhalb der Zellen eine oxidative Decarboxylierung des Aminosäuregerüsts (Abbildung 8)<sup>108,110</sup>. Als biogenes Amin hat Histamin neben seinem primären aliphatischen Amin ( $pK_s$ : 9,4) noch ein weiteres basisches Zentrum im Imidazolring ( $pK_s$ : 5,8). Unter physiologischen Bedingungen ( $pH$ : 7,4) liegt Histamin allerdings hauptsächlich als monokationische Verbindung vor.

Histamin in Vesikeln gespeichert und durch verschiedene Stimuli freigesetzt.

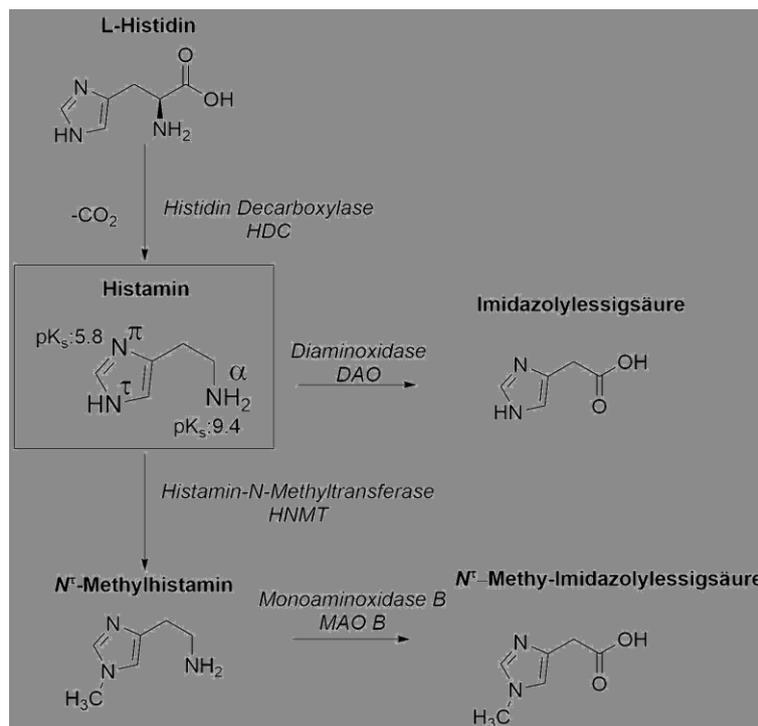


Abbildung 8: Biosynthese und Metabolisierung von Histamin, Histamin-Nomenklatur nach Black und Ganelli

Die Wirkung von Histamin wird durch seinen Abbau beendet; Wiederaufnahme-Transporter, wie für andere Signalbotenstoffe, sind nicht bekannt<sup>9</sup>. Zwei unterschiedliche Metabolisierungswege konnten identifiziert werden<sup>111</sup>. Zum einen kommt es durch die Diaminoxidase (DAO) zur Bildung von inaktiver Imidazolylelessigsäure. Dieser Weg wird vor Allem in der Peripherie beobachtet und macht ca. 20 % der Metabolisierung aus. Der Großteil des Histamins wird durch die Bildung von N<sup>τ</sup>-Methylhistamin (Nomenklatur nach Black und Ganelli<sup>112</sup>) durch die Histamin-N-Methyltransferase (HNMT) inaktiviert. Der Abbau von N<sup>τ</sup>-Methylhistamin erfolgt im Weiteren dann über die Monoaminoxidase B (MAO B) zu N<sup>τ</sup>-Methylimidazolylelessigsäure (Abbildung 8)<sup>111,113</sup>.

Die Wirkung von Histamin wird in den verschiedenen Geweben über vier Rezeptorsubtypen vermittelt (vergl. 1.2.3). Sowohl die Mitte der Neunzigerjahre entdeckten H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptoren als auch der H<sub>3</sub>- (1999) und H<sub>4</sub>- (2000) Rezeptor zählen zur Klasse der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR)<sup>111</sup>. Diese Rezeptorfamilie ist eine der größten Proteinklassen im menschlichen Körper und weist hohe strukturelle Gemeinsamkeiten innerhalb der Klasse auf.

### 1.2.2 G-Protein gekoppelte Rezeptoren

GPCR sind transmembranäre Rezeptoren, die intrazellulär an ein Guanosin triphosphat (GTP) bindendes Protein (G-Protein) gekoppelt sind. Extrazelluläre Stimulation durch Liganden oder andere Reize führt zu einer Dissoziation von G-Protein und Rezeptor, wodurch verschiedene Signalkaskaden ausgelöst werden.

#### *Struktur von GPCR*

Allen GPCR gemeinsam sind sieben Transmembrandomänen (TMD) in Form von  $\alpha$ -Helices, drei extrazelluläre und drei intrazelluläre Schleifen sowie der N-Terminalteil extrazellulär und C-Terminalteil intrazellulär<sup>114</sup>. Innerhalb der GPCR wird zwischen verschiedenen Klassen unterschieden, wobei die Klasse A (rhodopsinähnlich) die für biogene Amine wichtigste darstellt und im Weiteren beschrieben wird. Die GPCR der Klasse A zeigen, unabhängig von ihren endogenen Liganden, eine hohe strukturelle Übereinstimmung im Bereich der TMD. Besonders interessant für die Arzneistoffentwicklung ist die Ligandenbindetasche, die durch TMD 3, TMD 6 und TMD 7 gebildet wird.

Die Ausgestaltung dieser TMD mit verschiedenen Aminosäuren, führt zu unterschiedlichen Affinitäten von endogenen und exogenen Liganden<sup>115</sup>. Auch wenn sich die einzelnen Rezeptoren in der Bindetasche untereinander unterscheiden, gibt es einige Aminosäuren, die in fast allen Rezeptoren konserviert sind. Ein Beispiel hierfür ist Asparaginsäure Asp114 (D<sup>3.49</sup>), die in vielen Rezeptoren eine ionische Bindung mit dem endogenen biogenen Amin und exogenen Liganden eingeht<sup>116</sup>. Die Nummerierung der Aminosäuren kann dabei je nach Rezeptor unterschiedlich sein, da Asp114 angibt, dass es die 114 Aminosäure der Primärstruktur ist<sup>117</sup>. Durch die von Ballesteros und Weinstein eingeführte Nomenklatur wird die Aminosäure mit TMD und Abstand zu einer Referenzamino­säure angegeben. Auf diese Weise entstehen vergleichbare Angaben für jeden GPCR und der Einfluss von bestimmten Aminosäuren lässt sich besser erkennen. D<sup>3.49</sup> steht damit für eine Asparaginsäure auf der TMD 3 mit 46 Aminosäuren Abstand zur Referenz<sup>118</sup>.

Die intrazelluläre G-Protein-Bindetasche wird durch intrazelluläre Schleifen der TMD 3, TMD 5 und TMD 6 gebildet. Bei Aktivierung „schwingt“ TMD 6 zur Seite und setzt das G-Protein frei<sup>119</sup>. Eine Salzbrücke zwischen TMD 3 und TMD 6 fixiert den Rezeptor in seinem inaktivem Zustand, die Bindung wird bei Aktivierung durch einen Liganden gebrochen. In die Salzbrücke (engl. ionic lock) sind Arg131 (R<sup>3.50</sup>) auf TMD3 und Glu268 (Q<sup>6.30</sup>) auf TMD6 eingebunden<sup>120</sup>. Neben dem aktiven und inaktivem Zustand können einige Zwischenzustände eingenommen werden, da sich sowohl die Liganden- als auch die G-Protein-Bindetasche unabhängig voneinander bewegen können<sup>119</sup>.

### *Konstitutive Aktivität*

Diese Zwischenzustände sind mitunter eine Erklärung für eine ligandenunabhängige Aktivität der Rezeptoren. In den jeweiligen Zuständen weisen die GPCR eine unterschiedliche Affinität zum G-Protein auf, wodurch Bindungen ans G-Protein geschwächt sein können. So kann es, unabhängig von einem Liganden, zu einer G-Protein-Dissoziation kommen, wodurch die nachgeschalteten Effekte ausgelöst werden<sup>119,121</sup>. Diese basale oder auch konstitutive Aktivität kann auch durch  $\beta$ -Arrestin vermittelte Prozesse erzeugt werden<sup>122</sup>. Die konstitutive Affinität führt zur Notwendigkeit, Liganden deutlicher zu charakterisieren. Neben Agonisten und Antagonisten, die sozusagen als An- bzw. Ausschalter angesehen werden können, gibt es partialen Agonisten. Es handelt sich hierbei um Liganden die zu einer Aktivierung des Rezeptors führen, aber nicht denselben intrinsischen Effekt auslösen. Eine Erklärung liegt in der Affinität des G-Proteins zum Guanosindiphosphat (GDP) begründet; diese ist wiederum von der Konformation des GPCRs abhängig, welche vom Liganden mitbestimmt wird. Agonisten vermindern die Affinität zum G-Protein stärker als partielle Agonisten. Eine Abspaltung von GDP und G-Protein wird wahrscheinlicher und damit auch die Dissoziation vom Rezeptor (siehe unten). Agonisten vereinfachen damit die Freisetzung der G-Proteine und üben so einen stärkeren Effekt aus als Partial-Agonisten<sup>115,123</sup>. Als weitere Klasse von Liganden sind inverse Agonisten beschrieben, es handelt sich um Substanzen, die die basale Aktivität der Rezeptoren vermindern können. Diese Liganden fixieren die Rezeptoren im inaktiven Zustand und erzeugen so einen über die reine Blockade der Bindetasche hinausgehenden Effekt<sup>121</sup>.

### *G-Proteine*

Der Effekt einer Rezeptoraktivierung wird durch die Art des gebundenen G-Proteins bestimmt<sup>116</sup>. G-Proteine bestehen aus den drei Untereinheiten  $G_\alpha$ ,  $G_\beta$  und  $G_\gamma$ . Bei der Aktivierung des Rezeptors wird das G-Protein freigesetzt. Die Abspaltung von GDP von der  $\alpha$ -Untereinheit führt zum Dissoziieren von  $G_\alpha$  und  $G_{\beta\gamma}$ .  $G_\alpha$  bindet GTP und die Untereinheiten interagieren mit ihren nachgeschalteten Zielstrukturen.

Durch die GTPase (GTP spaltendes Enzym) -Aktivität von  $G_\alpha$  kommt es zur Hydrolyse von GTP zu GDP. Im GDP-gebundenen Zustand assoziiert  $G_\alpha$  mit  $G_{\beta\gamma}$  zum inaktiven G-Protein<sup>114</sup>.  $G_\alpha$ -Proteine können anhand ihrer Effekte in vier Klassen eingeteilt werden:  $G_s$ -,  $G_{i/o}$ -,  $G_q$ - und  $G_{12/13}$ -Proteine<sup>115</sup>.  $G_s$ -Proteine stimulieren mit ihrer  $G_{\alpha s}$ -Einheit die Adenylatcyclase (AC), das zur vermehrten Bildung von cyclischem Adenosintriphosphat (cAMP) führt. Dadurch wird die Protein-Kinase A (PKA) stimuliert und Effektorproteine werden phosphoryliert; die Folge ist die Erhöhung ihrer Aktivität. Darüber hinaus führt eine hohe Konzentration an cAMP zur Aktivierung des cAMP Responsive Element Binding Protein (CREB). Als Transkriptionsfaktor bindet es an das cAMP Responsive Element (CRE) und führt zu einer erhöhten Proteinbiosynthese von codierten Proteinen.  $G_{i/o}$ -Proteine führen über  $G_{\alpha i}$ -Untereinheiten zur Inhibition der AC und damit zu entgegengesetzten Effekten von der  $G_{\alpha s}$  Untereinheit<sup>124</sup>.

$G_q$ -Proteine stimulieren mit der  $G_{\alpha q}$ -Einheit die Phospholipase  $C_\beta$  ( $PLC_\beta$ ), wodurch Phosphatidylinositoldiphosphat ( $PIP_2$ ) zu Inositoltrisphosphat ( $IP_3$ ) und Diacylglycerin (DAG) gespalten wird.  $IP_3$  führt durch Öffnung von  $Ca^{2+}$ -Kanälen am endoplasmatischen Reticulum (ER) zu einem  $Ca^{2+}$ -Einstrom ins Cytosol, wo dieser weitere Signalkaskaden aktiviert. DAG aktiviert die Protein-Kinase C (PKC) und die damit verbundene Effekte<sup>125</sup>.

Die  $G_{\beta\gamma}$ -Untereinheit bindet an  $K^+$ -Kanäle des GIRK-Typs (G-protein-coupled inwardly-rectifying potassium channels), die sich daraufhin öffnen und es zum  $K^+$ -Ausstrom kommt. Es resultiert eine Hyperpolarisation. Das Binden an spannungsabhängige  $Ca^{2+}$ -Kanäle führt indes zu einem vermindertem  $Ca^{2+}$ -Einstrom. Die durch den Einstrom ausgelösten Zellkaskaden werden damit inhibiert<sup>115</sup>. Zudem aktiviert  $G_{\beta\gamma}$  die Mitogen-Activated-Protein-Kinase (MAPK) und Phosphatidyl-Inositol-3-Kinase ( $PI_3K$ ). MAPK ist in wichtige zellregulatorische Prozesse wie Wachstum, Differenzierung und Zellüberleben involviert. Die Aktivierung der  $PI_3K$  führt über Zwischenschritte zu einer verminderten GSK3 $\beta$ -Aktivität. Durch Aktivierung von G-Proteinrezeptor-Kinasen (GRK) kommt es zur Phosphorylierung der GPCRs. Die Phosphorylierung erhöht die Affinität zu  $\beta$ -Arrestin und wirkt als ein negativer Feedback-Mechanismus<sup>122</sup>.

### *$\beta$ -Arrestin*

Neben G-Proteinen kann eine weitere Proteinklasse an GPCR binden. Die  $\beta$ -Arrestin genannten Proteine binden ebenfalls intrazellulär an den Rezeptor<sup>126</sup>. Zunächst ging man davon aus, dass  $\beta$ -Arrestin lediglich die Bindung von G-Proteinen inhibiert und über Rekrutierungskaskaden zur Internalisierung der Rezeptoren führt.

Die Blockade der G-Protein-Bindungsstelle (Abbildung 9) vermindert die G-Protein-vermittelte Signalleitung<sup>119</sup>. Weder endogene Liganden, noch exogene Agonisten oder Antagonisten können so eine G-Protein gekoppelte Signalkaskade einleiten. Durch die Internalisierung wird zudem die Rezeptordichte verringert und eine generell verminderte Signaltransduktion erzeugt<sup>116,127</sup>. Allerdings fand man heraus, dass  $\beta$ -Arrestin eigene Signalkaskaden vermittelt, die G-Protein unabhängig stattfinden. Manche Liganden fördern oder verhindern diese Art der Signaltransduktion und werden als „biased ligand“ bezeichnet, da sie zu fehlerhaften bzw. unerwarteten Effekten führen<sup>119,127</sup>. Wie genau das Zusammenspiel von G-Protein-gekoppelter Signalleitung, der übergeordneten  $\beta$ -Arrestin-Kontrollfunktion und dem biased Signaling durch Liganden beeinflusst wird und welche Signaltransduktion für welche Effekte verantwortlich ist, bleibt Gegenstand aktueller Forschung<sup>127-130</sup>.

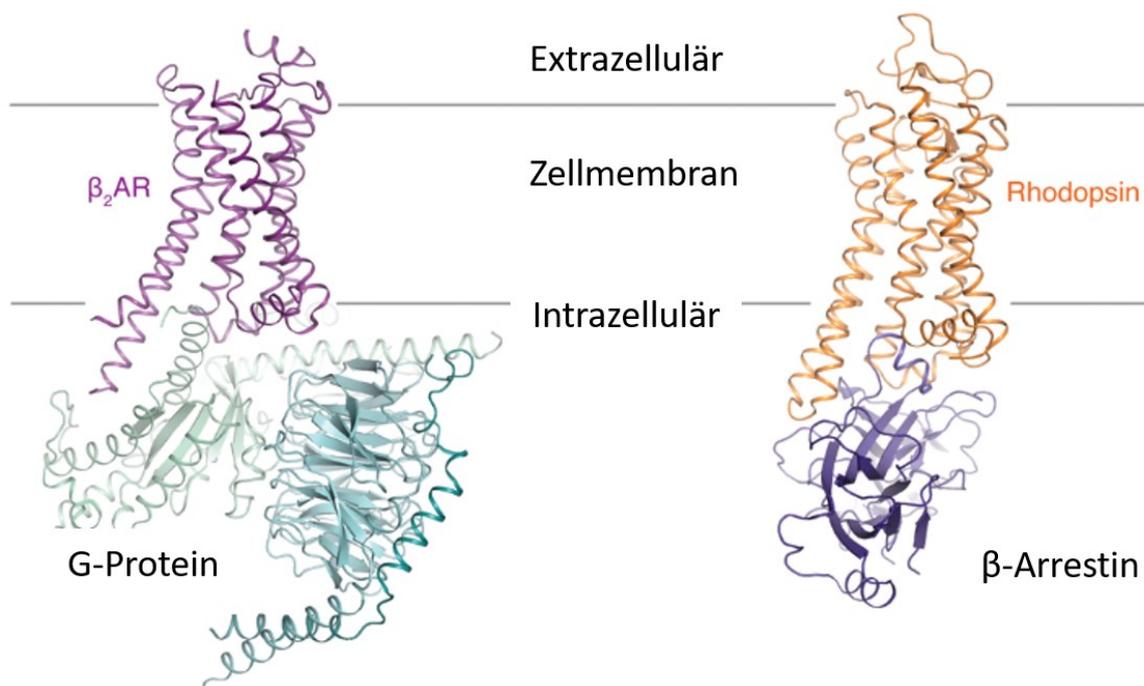


Abbildung 9: Vergleich der Kristallstrukturen von GPCR mit G-Protein ( $\beta_2$ -Adrenorezeptor) und mit  $\beta$ -Arrestin (Rodopsinrezeptor) nach Latoracca et. al<sup>127</sup>

### 1.2.3 Histaminrezeptor-Subtypen

Histamin als biogenes Amin übt seine Wirkung über vier GPCR der Klasse A aus. Die vier verschiedenen Rezeptoren zeigen hinsichtlich ihres natürlichen Liganden einen deutlichen Unterschied in ihrer Sensitivität. H<sub>1</sub>R und H<sub>2</sub>R werden erst bei erhöhten Histaminkonzentrationen aktiviert, H<sub>3</sub>R und H<sub>4</sub>R hingegen zeigen schon ein Ansprechen auf geringe Histaminkonzentrationen. Tabelle 3 zeigt, dass hierfür eine deutlich höhere Affinität des Histamins zu H<sub>3</sub>R und H<sub>4</sub>R verantwortlich ist.

Tabelle 3: Eigenschaften der Histaminrezeptoren

Rezeptor	H <sub>1</sub> R	H <sub>2</sub> R	H <sub>3</sub> R	H <sub>4</sub> R
Histamin pK <sub>i</sub> <sup>#109</sup>	4,2	4,3	8,0	7,8
G-Protein	G <sub>q</sub>	G <sub>s</sub>	G <sub>i/o</sub>	G <sub>i/o</sub>
Gewebe- verteilung	Ganzer Körper Lunge, Herz, Haut, Blutgefäße, ZNS	Ganzer Körper, GIT, Herz, ZNS	ZNS (Peripher)	Eosinophile, Mastzellen, Lunge, Haut
Pharmakol. Intervention	Allergie, Schlafstörungen	Reflux, Ulcus	Narkolepsie [AD, PD, Schizophrenie, ADHS] *	[ Puritus, Asthma, atop. Dermatitis] *

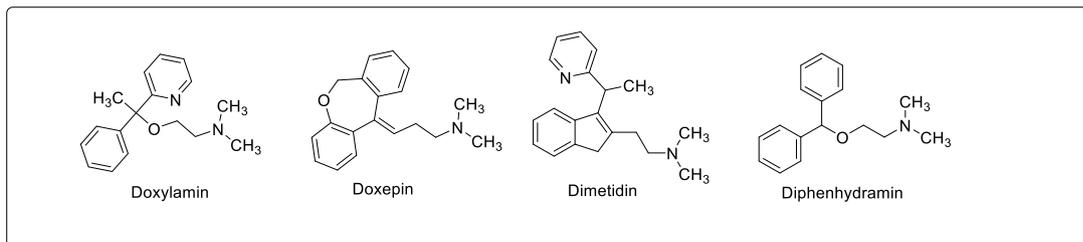
#: pK<sub>i</sub>-Werte an humanen Histaminrezeptoren\*: nicht für diese Indikation zugelassen, Schwerpunkt der Forschung

#### H<sub>1</sub>-Rezeptor

Der Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor (H<sub>1</sub>R) ist ein G<sub>q</sub>-gekoppelter GPCR und wird in vielen Geweben des Körpers exprimiert. Durch die Stimulation der PLC wird mehr IP<sub>3</sub> und DAG gebildet, das zu einer erhöhten intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Konzentration bzw. einer Aktivierung der PKC führt. Die erhöhte Ca<sup>2+</sup>-Konzentration führt in den glatten Muskelzellen der Lunge und den großen Blutgefäßen zur Vasokonstriktion. In den kleinen Blutgefäßen hingegen kommt es zu einer Dilatation durch die Stimulation der Stickstoffmonoxid-(NO)-Bildung. Diese Prozesse führen zu den Hauptcharakteristiken der H<sub>1</sub>R-vermittelten allergischen Reaktionen, wie Atemproblematik, Hautrötungen, Juckreiz und Anschwellen der Nasenschleimhäute<sup>131</sup>. Neben den peripheren Geweben wie der Lunge, der Haut, dem Herz-Kreislaufsystem und dem Gastro-Intestinal-Trakt (GIT) ist der Rezeptor auch im ZNS weit verbreitet<sup>109,111</sup>.

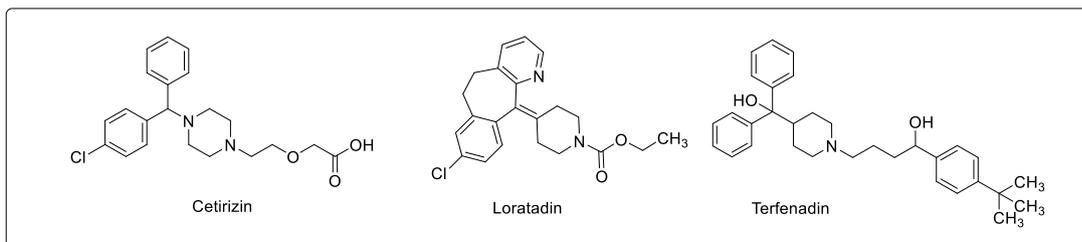
Eine Beeinflussung von Aufmerksamkeit, Wachheit dem Schlaf-Wach-Rhythmus und der Kognition<sup>9</sup> können durch die hohe H<sub>1</sub>-Rezeptordichte im Hypothalamus, dem Thalamus der Amygdala und dem Cortex erklärt werden. Auch eine Beeinflussung des Essverhaltens konnte beobachtet werden. Die Aktivierung des H<sub>1</sub>R führt zu einer verminderten Nahrungsaufnahme<sup>132</sup>. Eine zentrale H<sub>1</sub>R-Blockade kann daher zu starker Gewichtszunahme führen (vergl.: 1.1.3.2). Pharmakologisch werden zurzeit H<sub>1</sub>R-Antagonisten eingesetzt. Die Involvierung des H<sub>1</sub>R in allergischen Reaktionen machen H<sub>1</sub>R-Antihistaminika zu einer wichtigen Stoffklasse in deren Behandlung. H<sub>1</sub>R-Antihistaminika sind aufgrund ihrer zentralnervösen Nebenwirkungsprofile in zwei Generationen unterteilt (Abbildung 10). In der Behandlung allergischer Reaktionen werden Vertreter der ersten Generation nur selten beispielsweise zur topischen Therapie benutzt (z.B. Dimetidin), da sie leicht die Blut-Hirn-Schranke überschreiten.

**Stark ZNS-aktiv**

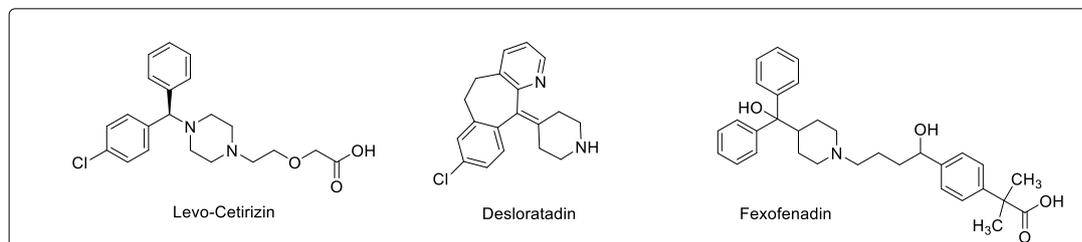


**1. Generation**

**Schwach ZNS-aktiv**



**2. Generation A**



**2. Generation B**

Abbildung 10: H<sub>1</sub>R-Antihistaminika der Generationen 1, 2A und 2B

Dieses Potential und die resultierenden, eigentlich unerwünschten Effekte, werden in anderen Indikationsbereichen ausgenutzt. Die sedierende Wirkung wird sich, z.B. im Fall von Doxylamin, in der Therapie von Schlafstörungen zu Nutze gemacht.



Die Blockade von H<sub>1</sub>R im Brechzentrum führt zum Einsatz von diphenhydraminhaltigen Arzneimitteln in der Behandlung von Übelkeit und Erbrechen<sup>133</sup>.

Die zweite Generation an H<sub>1</sub>R-Antihistaminika ist in ihrer Penetration der Blut-Hirn-Schranke eingeschränkt und führt so zu weniger sedierenden Effekten. Mit der Generation 2B wurden vor allem aktive Metabolite der zweiten Generation auf den Markt gebracht, die so die notwendige Dosierung vermindern. Unerwünschte Wirkungen sind so nur noch in geringerem Maße zu erwarten<sup>134</sup>.

Einige zentral aktive Arzneistoffe zeigen unerwünschte Wirkungen, die auf einen H<sub>1</sub>R-Antagonismus zurückzuführen sind. So kommt es z.B. bei Antipsychotika zu Sedierung und starker Gewichtszunahme. In umgekehrter Weise lassen sich aus Nebenwirkungen durch die Antagonisierung des H<sub>1</sub>R etwaige positive Effekte für H<sub>1</sub>R-Agonisten ableiten: prokognitive und übergewichtbeeinflussende Effekte werden H<sub>1</sub>R-Agonisten zugesprochen<sup>135</sup>. Zurzeit konnte jedoch kein H<sub>1</sub>R-Agonist dies in klinischen Studien belegen. Den Einfluss der erhöhten Histaminkonzentration, als natürlichem Agonist, durch H<sub>3</sub>R-Antagonisten wird im weiteren Verlauf diskutiert (vergl.:1.2.4). 2011 ist es gelungen eine Kristallstruktur des H<sub>1</sub>R mit dem Antagonisten Doxepin aufzunehmen.<sup>136</sup> Daraus ergaben sich neue Informationen hinsichtlich möglicher Bindepositionen von Agonisten, inversen Agonisten, Antagonisten und rezeptorfremden Substanzen (d.h. Substanzen, die hier ungewollt interagieren). Dies kann zur Verbesserung von Selektivitäten und Nebenwirkungsprofilen verwendet werden.

### *H<sub>2</sub>-Rezeptor*

Der Histamin-H<sub>2</sub>-Rezeptor (H<sub>2</sub>R) ist ein G<sub>s</sub>-gekoppelter Rezeptor. Die Wirkungen beruhen auf einer Aktivierung der Adenylatcyclase (AC), einer erhöhten cAMP-Konzentration und damit einer Aktivierung der PKA und nachgeschalteter Prozesse. Über den Transkriptionsfaktor CREB werden darüber hinaus nukleäre Mechanismen beeinflusst<sup>9,108,109</sup>

H<sub>2</sub>R werden im ZNS exprimiert und scheinen hier einen Einfluss auf kognitive Prozesse und den Schlaf-Wach-Rhythmus zu haben<sup>137</sup>. Die genauen Zusammenhänge sind jedoch noch unklar. Daneben sind H<sub>2</sub>R auch in die Metabolisierung von Glukose und die Steuerung der Nahrungsaufnahme eingebunden<sup>138</sup>.

Der Einfluss auf die Magensäureproduktion ist in Bezug auf den H<sub>2</sub>R die am besten erforschte Aufgabe. Die Stimulation des H<sub>2</sub>R führt zur einer Erhöhung der cAMP-Konzentration und im Weiteren zu einer erhöhten Sekretion an Magensäure. Pharmakologisch wird dies durch die Verwendung von H<sub>2</sub>R-Antagonisten unterdrückt. Weniger Magensäure wird sezerniert, was in der Behandlung von Refluxerkrankungen und Magenulzera Anwendung findet. Die Wirkstoffe (Abbildung 11) haben durch die Entdeckung der Protonenpumpeninhibitoren (PPI) Omeprazol und Pantoprazol etc. stark an Bedeutung verloren<sup>109</sup>.

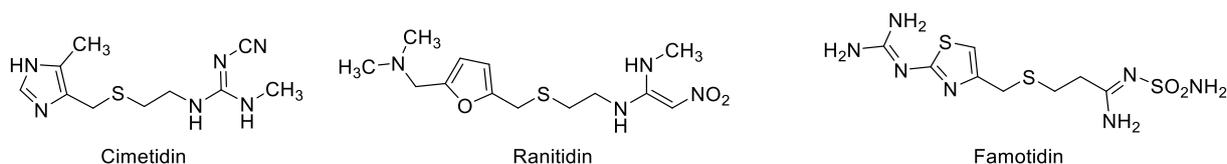


Abbildung 11: Auswahl an zugelassenen H<sub>2</sub>R-Antagonisten

### H<sub>3</sub>-Rezeptor

Der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor (H<sub>3</sub>R) ist der dritte Histamin Rezeptor Subtyp, der gegen Ende des letzten Jahrhunderts entdeckt und 1999 zum ersten Mal kloniert wurde<sup>109</sup>. Der H<sub>3</sub>R weist mit dem H<sub>4</sub>R eine höhere strukturelle Übereinstimmung als mit dem H<sub>1</sub>R und dem H<sub>2</sub>R auf<sup>9,139</sup>. Vorwiegend wird der H<sub>3</sub>R im ZNS exprimiert; eine Expression in der Peripherie wird jedoch vermehrt diskutiert<sup>140</sup>. Im ZNS findet man eine hohe Rezeptordichte im Cortex, im Striatum, im Nucleus Accumbens, in der Amygdala, dem Palladium und im Hippocampus<sup>9 140 141</sup>. Vorwiegend ist der H<sub>3</sub>R hier als präsynaptischer Rezeptor exprimiert und kommt sowohl auf histaminergen Neuronen als Autorezeptor vor und steuert hier die Synthese und Freisetzung von Histamin. Als Heterorezeptor auf nicht histaminergen Präsynapsen reguliert der H<sub>3</sub>R u.a. auch die Freisetzung von Dopamin (DA), Acetylcholin (ACh), Noradrenalin (NA), Glutamat (Glu), Serotonin (5-HT)  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA), Substanz P und weiterer Botenstoffe<sup>140,142</sup>. Neben der präsynaptischen Lokalisation konnten auch postsynaptische H<sub>3</sub>R identifiziert werden<sup>143</sup>. Präsynaptische H<sub>3</sub>R sind G<sub>i/o</sub>-gekoppelte GPCR, die bei Aktivierung des Rezeptors in G <sub>$\alpha$ i</sub> und G <sub>$\beta$  $\gamma$</sub>  gespalten werden. Beide Untereinheiten sind Ausgangspunkt weiterer Signalkaskaden<sup>9,142</sup>. Die G <sub>$\alpha$ i</sub>-Untereinheit inhibiert die AC und führt dadurch zu einer verminderten cAMP-Konzentration. Dies wiederum vermindert die Aktivität der PKA und damit die Phosphorylierung von Zielproteinen.

Der reduzierte cAMP-Spiegel führt zu einer verminderten CREB-vermittelten Gentranskription und senkt damit die Proteinbiosynthese. Die Aktivierung des H<sub>3</sub>R führt auf diesen Wegen zur Aktivitätsminderung der HDC und zur verminderten Histaminsynthese (vergl. 1.2.1.1)<sup>140,142,144</sup>. Die G<sub>βγ</sub>-Untereinheit bindet an den P- und Q-Typ spannungsabhängiger Calciumkanäle (Abbildung 12). Die daraus resultierende Inhibition der Kanäle führt zu einem geringeren Ca<sup>2+</sup>-Einstrom in die Präsynapse und zur verminderten Depolarisation. Die Aktivierung von GIRK-Kaliumkanälen führt zu einem vermehrten K<sup>+</sup>-Ausstrom und einer Hyperpolarisation. Verminderter Ca<sup>2+</sup>-Einstrom und erhöhter K<sup>+</sup>-Ausstrom sind Grund für die verminderte Ausschüttung von Neurotransmittern<sup>142</sup>.

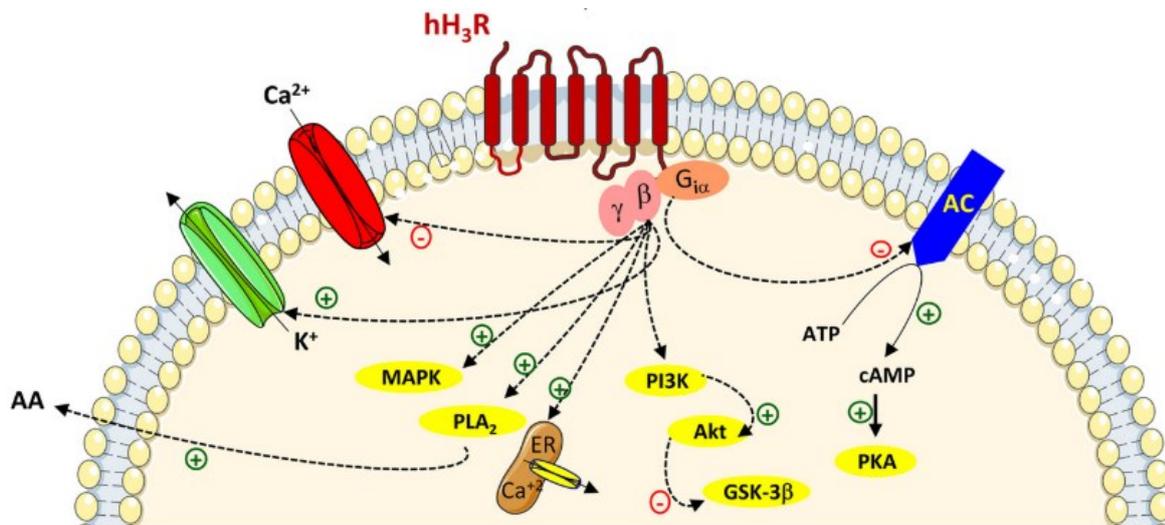


Abbildung 12: Effekte und Signalkaskaden vom H<sub>3</sub>R, nach Sadek et al.<sup>9</sup>

Weitere G<sub>βγ</sub>-Protein-vermittelte Effekte sind die Aktivierung der MAPK und der PI<sub>3</sub>K. Die MAPK ist in wichtige zellregulatorische Prozesse wie Wachstum, Differenzierung und Zellüberleben involviert<sup>140 142</sup>. Die Aktivierung der PI<sub>3</sub>K führt über Zwischenschritte zu einer verminderten GSK3β-Aktivität. Die Aktivität der Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) und Phospholipase C (PLC) wird ebenfalls erhöht, wodurch vermehrt Lipid- und Entzündungsmodulatoren gebildet werden (Abbildung 12). Welche Prozesse dabei in verschiedenen Splicingvarianten oder ZNS-Arealen verstärkt sind und ob diese prä- oder postsynaptisch ablaufen, bleibt Gegenstand der aktuellen Forschung. Konsistent ist dabei, dass ein verminderter Neurotransmitterausstoß und eine verminderte Histaminsynthese durch präsynaptische H<sub>3</sub>-Auto- und Heterorezeptoren vermittelt wird (Abbildung 13)<sup>9,109,140,142-144</sup>.

Antagonisten, die den inhibitorischen Effekt des H<sub>3</sub>R unterdrücken, führen zu einer erhöhten Histaminbiosynthese und erhöhen die Histaminfreisetzung im ZNS. Die Freisetzung weiterer Neurotransmitter wie ACh, NA, DA, 5-HT, Glu und GABA wird moduliert.

Als GPCR mit hoher konstitutiver Aktivität sind Antagonisten dabei zumeist als inverse Agonisten zu beschreiben<sup>145</sup>. Die vermehrte Neurotransmitterfreisetzung und die Lokalisierung der H<sub>3</sub>R in ZNS-Arealen, die Einfluss auf den Schlaf-Wach-Rhythmus, das Lernverhalten, das Gedächtnis und die Kognition haben, macht inverse H<sub>3</sub>R-Agonisten zu einer interessanten Arzneistoffklasse für neurologische und neurodegenerative Erkrankungen und wird im Kapitel 1.2.4 tiefergehend betrachtet<sup>9</sup>. Eine Beeinflussung des Wachzustandes durch H<sub>3</sub>R inverse Agonisten, durch erhöhte Histaminkonzentrationen und postsynaptische H<sub>1</sub>R-Aktivierung, führte zur Entwicklung von Pitolisant, dem ersten und bis jetzt einzigen von der FDA und EMA (European Medicines Agency) zugelassenen H<sub>3</sub>R inversen Agonisten (Abbildung 13). Unter dem Markennamen Wakix<sup>®</sup> ist Pitolisant zur Therapie von Narkolepsie mit und ohne Kataplexie indiziert<sup>143,146</sup>.

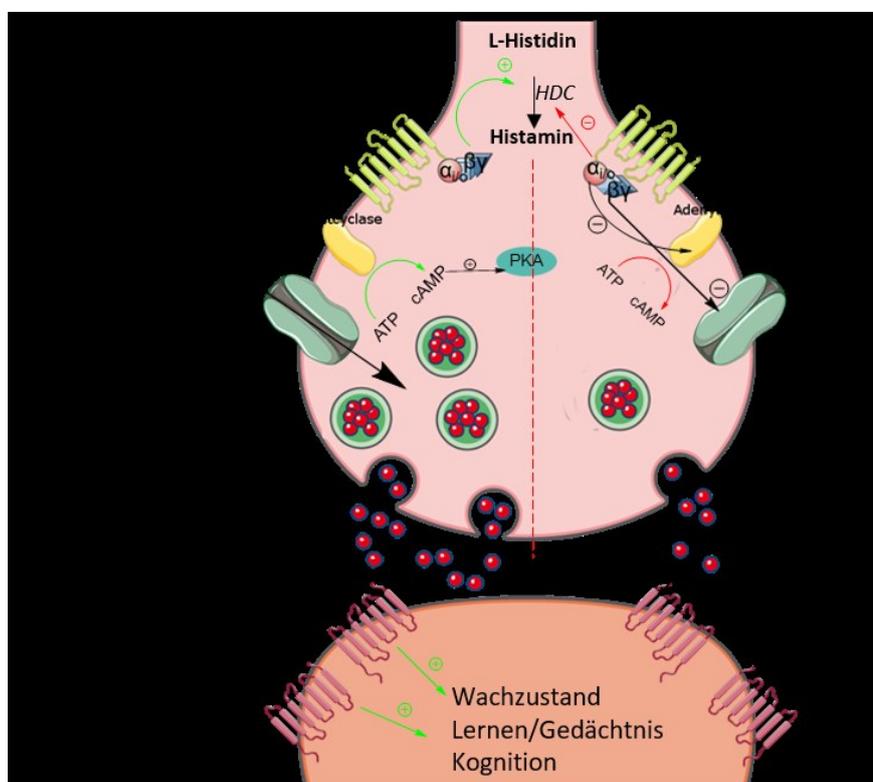


Abbildung 13: Synapse mit präsynaptischem H<sub>3</sub>R und postsynaptischen Histaminrezeptoren und nicht Histaminrezeptoren (nHR)

#### H<sub>4</sub>-Rezeptor

Der Histamin-H<sub>4</sub>-Rezeptor (H<sub>4</sub>R) ist ein G<sub>i</sub>-gekoppelter GPCR und wurde im Jahr 2000 als bisher letzter der Histaminrezeptoren identifiziert. H<sub>4</sub>R sind strukturell stark mit dem H<sub>3</sub>R verwandt. Die Expressionsmuster der Rezeptoren unterscheiden sich allerdings deutlich, sodass der H<sub>4</sub>R eine verstärkte periphere Expression aufweist<sup>109,147</sup>.

Hauptsächlich sind H<sub>4</sub>R auf hämatopoetischen Zellen exprimiert, vor allem auf eosinophilen Granulozyten<sup>148</sup>. Auch Mastzellen, natürliche Killerzellen sowie Monozyten exprimieren den H<sub>4</sub>R<sup>149,150</sup>. Zusammen mit Daten von H<sub>4</sub>R-Knock-out-Mäusen (d.h. Mäusen in denen der H<sub>4</sub>R nicht exprimiert wird), kann eine H<sub>4</sub>R-Beteiligung im Bereich von Immunsystem und Entzündungsprozessen postuliert werden<sup>151,152</sup>. Mögliche Erkrankungen, die in der Verbindung mit H<sub>4</sub>R diskutiert werden, sind unter anderem Asthma brochiale, atopische Dermatitis, Pruritus und unspezifische Entzündungsreaktionen<sup>109</sup>. Aufgrund des unvollständigen Verständnisses über den H<sub>4</sub>R sind zurzeit keine Liganden als Arzneistoffe zugelassen. Abbildung 14 zeigt einige interessante H<sub>4</sub>R-Liganden, die genutzt werden, um Struktur-Wirkung und Verteilungsmuster des Rezeptors zu erforschen.

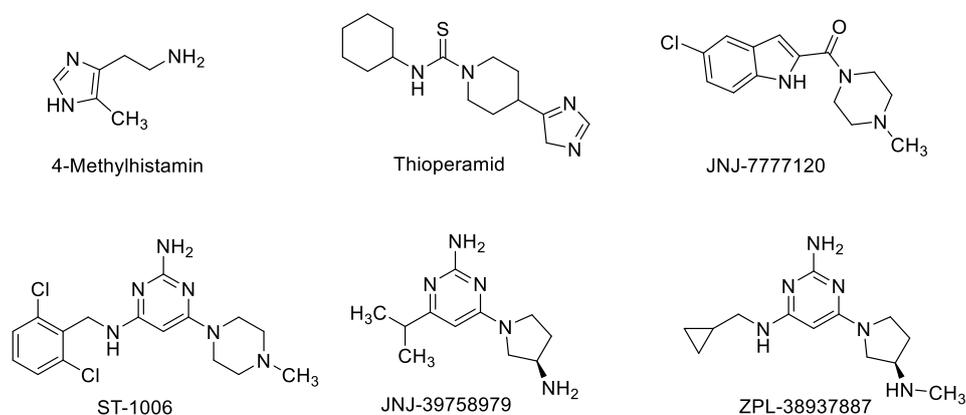


Abbildung 14: H<sub>4</sub>R-Liganden

Im Besonderen ist dabei die Selektivität zu anderen Rezeptoren wichtig, da nur so reine H<sub>4</sub>R-Effekte studiert werden können. Aufgrund der hohen Strukturverwandtschaft zum H<sub>3</sub>R zeigen sich hier vermehrt Selektivitätseinschränkungen. 4-Methylhistamin und Thioperamid wurden zunächst als H<sub>3</sub>R-Liganden beschrieben, zeigen aber vergleichbare Affinitäten am H<sub>4</sub>R<sup>153</sup>. Der erste selektive H<sub>4</sub>R-Antagonist war JNJ-7777120 als selektiverer Agonist konnte 4-Methylhistamin evaluiert werden<sup>109</sup>. ST-1006 wird als effektiver Agonist beschrieben. Als H<sub>4</sub>R-Antagonisten konnten JNJ-39758979 und ZPL-38937887 erfolgreich klinische Phase II Studien durchlaufen<sup>154,155</sup>.

Zurzeit bleibt die Rolle des H<sub>4</sub>R jedoch noch unklar, da weder das Expressierungsmuster noch der Einfluss von Agonisten bzw. Antagonisten vollständig geklärt ist.

### 1.2.4 Der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor als pharmakologische Zielstruktur

Wie im vorherigen Abschnitt beschrieben, ist der H<sub>3</sub>R eine Zielstruktur für Krankheiten, die mit Störungen im ZNS einhergehen. Dazu zählen Schizophrenie, Epilepsie, Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitätsstörung (ADHS), Autismus, veränderte Schlaf-Wach-Rhythmen und neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson<sup>143,156</sup>.

Mit Pitolisant steht ein Vertreter von H<sub>3</sub>R-inversen Agonisten als zugelassener Arzneistoff zur Verfügung. Ausgehend von Histamin wurden zunächst Antagonisten bzw. inverse Agonisten (im Weiteren: Antagonisten) mit einer Imidazolstruktur synthetisiert.

#### 1.2.4.1 Imidazolhaltige H<sub>3</sub>R-Liganden

Die erste Generation an H<sub>3</sub>R-Antagonisten enthalten einen histaminähnlichen Strukturteil mit einem Imidazolring und einer aliphatischen Kette, die zu einem Heteroatom führt. Abbildung 15 zeigt eine Auswahl wichtiger imidazolbasierter Liganden, die vor Allem für präklinische Studien Verwendung finden.

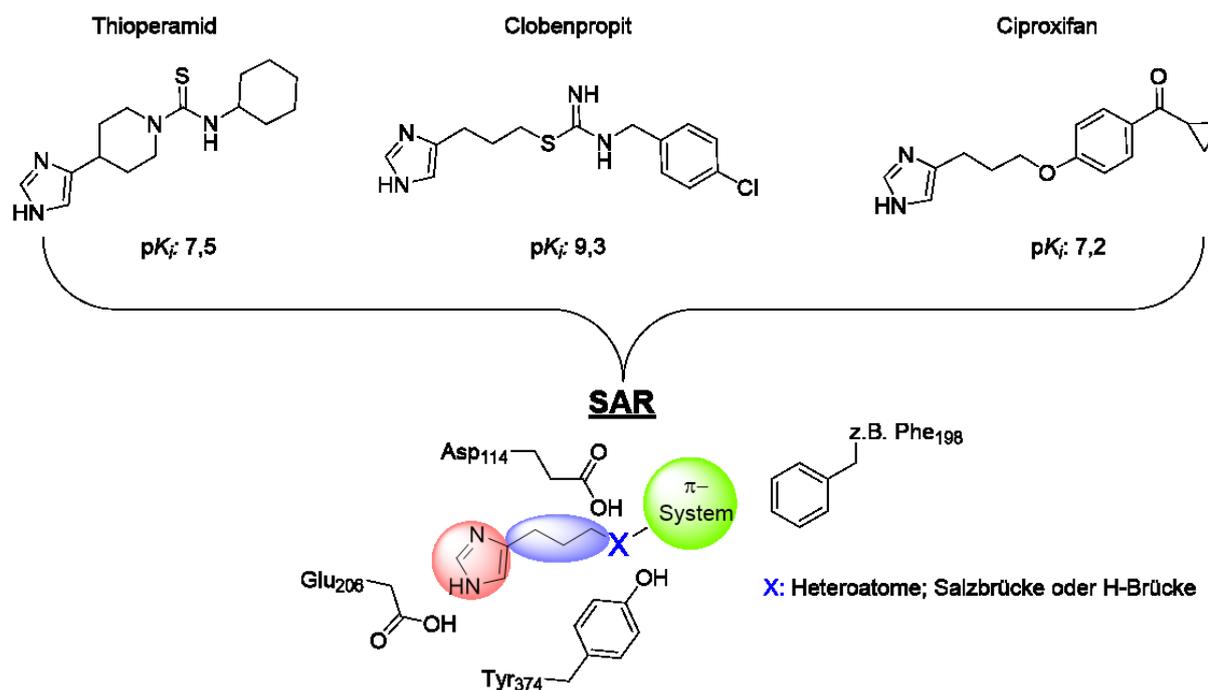


Abbildung 15: Imidazolbasierte H<sub>3</sub>R-Liganden mit hH<sub>3</sub>R-pK<sub>i</sub>-Werten und SAR mit Interaktionen in der Bindetasche

Als Arzneistoffe sind die meisten der Verbindungen jedoch ungeeignet, da durch den Imidazolring eine hohe Interaktion mit Cytochrom P450 Enzymen (CYP450) zu erwarten ist<sup>140</sup>. Die imidazolbasierten Liganden haben zum Verständnis der Struktur-Wirkungs-Beziehung (engl.: structure activation relationship, SAR) entscheidend beigetragen, sodass nicht-imidazolbasierte Liganden entwickelt werden konnten. Abbildung 15 zeigt die extrahierte SAR und die durch In-silico-Experimente ermittelten, stabilisierenden Rezeptorinteraktionen<sup>142,157</sup>.

### 1.2.4.2 Nicht-imidazolhaltige H<sub>3</sub>R-Liganden

Aus der für imidazolhaltige Liganden ermittelten SAR konnte durch Austausch des Imidazols durch andere basische Gruppen eine generelle SAR für H<sub>3</sub>R-Antagonisten definiert und neue Liganden synthetisiert werden (Abbildung 16). Als basische Gruppen wurden hier häufig tertiäre Amine in cyclischen Systemen verwendet wie z.B. Piperidin in Pitolisant. Verschiedenste In-silico-Versuche konnten zeigen, dass die Antagonisten von denselben Aminosäuren in der Bindetasche stabilisiert werden (Tabelle 4). Die hierfür essenziellen Interaktionen sind in Tabelle 4 zusammengefasst<sup>158-160</sup>.

Tabelle 4: Interaktionen von H<sub>3</sub>R und Liganden

Aminosäure in H <sub>3</sub> R-Bindetasche	Interaktionsart	Element im Ligand
Glutaminsäure 206	Salzbrücke/ ionisch	<u>1. Basische Gruppe westlich</u>
Tyrosin 374	H-Brücke	<u>Heteroatome z.B. Sauerstoff</u>
Asparaginsäure 114		<u>Freie Elektronenpaare</u>
Asparaginsäure 114	Salzbrücke/ ionisch	<u>2. Basische Gruppe östlich</u>
Tyr 189	H-Brücke	<u>2. Heteroatomgruppe</u>
z.B. Phe198 / Try110	$\pi$ - $\pi$ Interaktionen	<u>Aromat östlich</u>

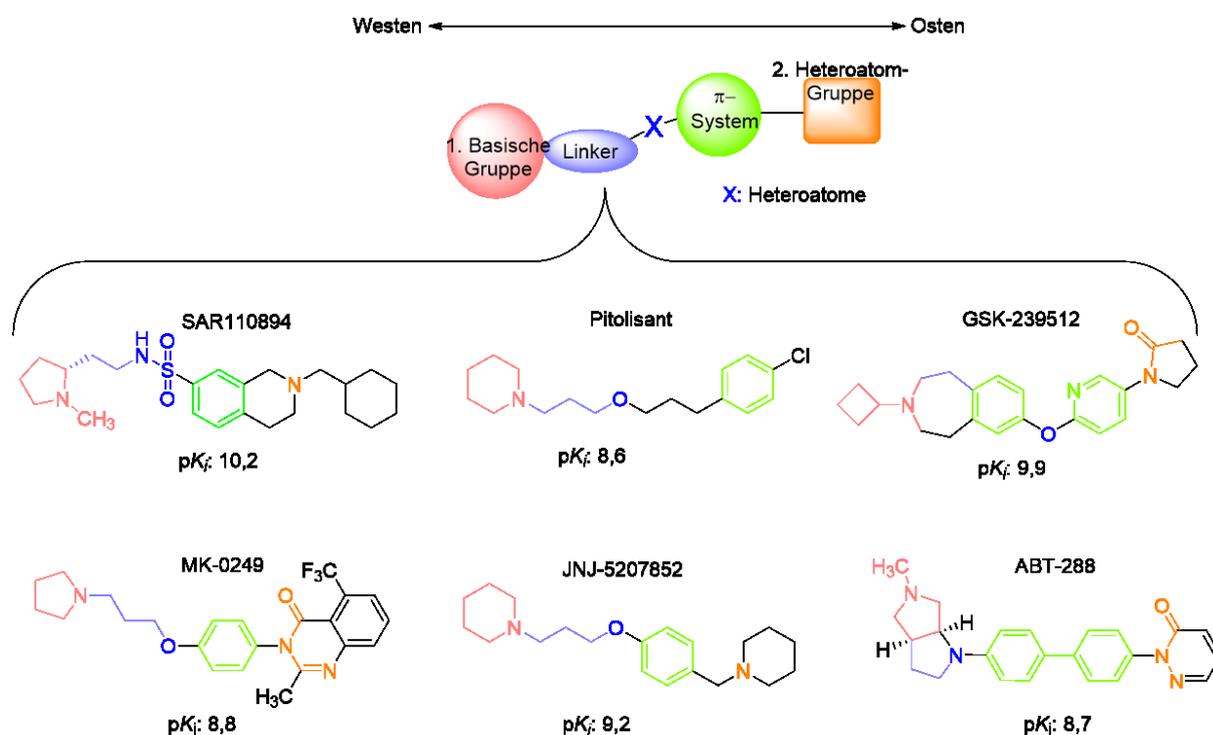


Abbildung 16: SAR von nicht imidazolhaltigen H<sub>3</sub>R-Antagonisten mit hH<sub>3</sub>R- pK<sub>i</sub> Werten<sup>8,105,124,128</sup>

Die Substanzen wurden in verschiedensten Phase-I-Studien auf ihre Sicherheit und Verträglichkeit getestet und konnten diese erfolgreich beenden. In Phase-II-Studien wurden ABT-288, GSK-239512, MK-0249 hinsichtlich ihrer Wirkung auf kognitive Effekte bei Alzheimer und Schizophrenie getestet, dabei konnte keine der Verbindungen ihre definierten primären Studienziele erreichen<sup>161</sup>. GSK-239512 und ABT-288 zeigten allerdings verbesserte Gedächtnisleitungen<sup>143,161,162</sup>. SAR-110894 hat mit einem  $K_i = 0,06$  nM eine sehr hohe Affinität im picomolaren Bereich; zusätzlich dazu weist die Verbindung eine herausragende Selektivität gegenüber den anderen Histaminrezeptoren auf. Mit  $K_i$ -Werten über 10 000 nM hat SAR-110894 faktisch keine Affinität zum  $H_1R$ ,  $H_2R$  und  $H_4R$ <sup>163</sup>. In Tiermodellen konnten positive Effekte auf die Aufmerksamkeit, sowie das Kurz- und Langzeitgedächtnis festgestellt werden<sup>162</sup>. In einer Phase-II-Studie wurden die Studienziele jedoch nicht erreicht<sup>164</sup>. Neben den klinischen Studien werden  $H_3R$ -Antagonisten weiter intensiv auf ihre Effekte in neurodegenerativen Erkrankungen erforscht. Auch wenn klinisch bisher keine signifikanten Auswirkungen auf kognitive Funktionen gezeigt werden konnten, weisen die Vielzahl an positiven Ergebnissen in Tierversuchen und Phase-I-Studien daraufhin, dass  $H_3R$ -Antagonisten einen Beitrag zur verbesserten Kognition leisten können.

Die Kognition umfasst eine Vielzahl verschiedener Vorgänge, wie Aufmerksamkeit, Lernen, Erinnern, Orientierung, Wahrnehmungsvermögen und weitere, die Informationen der Umwelt verarbeitende Prozesse. Diese finden in verschiedenen ZNS-Arealen statt, sodass eine distinkte anatomische Zielstruktur nicht definiert werden kann<sup>165</sup>. Die kognitionsverbessernden Effekte von  $H_3R$ -Antagonisten werden auf die Erhöhung der Histamin- und ACh-Konzentrationen im ZNS zurückgeführt. Im Gehirn von AD-Patienten konnte in kognitionsbeeinflussenden Gebieten wie Hippocampus, Hypothalamus und temporalem Cortex, eine verminderte Histamin- und ACh-Konzentration festgestellt werden (vergl. 1.1.2).  $H_3R$ -Antagonisten sind in der Lage, die Konzentration der beiden Neurotransmitter zu erhöhen. Die positiven Effekte werden dann durch  $H_1R$ ,  $H_2R$  und muskarinerge ACh-Rezeptoren im Hippocampus, dem Cortex und anderen Strukturen vermittelt<sup>9,143</sup>. Eine erhöhte Dopaminfreisetzung kann wie beschrieben, über die Stimulation von  $D_1R$  im präfrontalem Cortex Einfluss auf kognitive Vorgänge nehmen. Mit Einfluss auf weitere Neurotransmitter ist der  $H_3R$  ein ideales Target für Krankheiten, die mit Ungleichgewichten von Neurotransmitter assoziiert sind.

## 1.3 Dopamin

Das biogene Amin 3-Hydroxytyramin, besser bekannt als Dopamin, ist ein Neurotransmitter der in vielen Regelkreisen des ZNS involviert ist<sup>166</sup>. Der Einfluss von Dopamin im ZNS wurde zunächst in den 1960er Jahren anhand der Wirkung antipsychotischer Arzneistoffe untersucht<sup>167</sup>. Im Laufe der Jahre konnte eine Beeinflussung von Motorik, Motivation, Kognition, Emotion und neuroendokrine Sekretion nachgewiesen werden<sup>168</sup>. Das hat zur Folge, dass die Dopamin-Signaltransmission in der Pathogenese vieler neurologischen Krankheiten diskutiert wird; neben der Schizophrenie sind das vor allem PD, ADHS und Suchterkrankungen<sup>166,169</sup>.

### 1.3.1 Biosynthese und Metabolismus

Als biogenes Amin wird Dopamin im Körper aus der Aminosäure L-Tyrosin synthetisiert. L - Tyrosin wird entweder aus der Nahrung aufgenommen oder in der Leber aus L -Phenylalanin durch die Phenylalaninhydroxylase (PAH) gebildet. Bei fehlender Aktivität der PAH muss L - Tyrosin aus der Nahrung aufgenommen werden, wie es für Patienten mit Phenylketonurie zutrifft<sup>170</sup>. L-Tyrosin wird im Weiteren durch die Tyrosinhydroxylase (TH) in Position 3 des Tyrosin zu L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) hydroxyliert (Abbildung 17). Die oxidative Decarboxylierung durch die DOPA-Decarboxylase (DDC, auch aromatische Aminosäure Decarboxylase, AADC) liefert Dopamin. Die Prozesse sind im Zytosol dopaminerger Neuronen lokalisiert, wo Dopamin anschließend in Vesikeln gelagert wird<sup>171</sup>. Die Decarboxylierung von L-Phenylalanin durch AADC zu Phenylethylamin mit anschließender Hydroxylierung durch CYP2D zu Tyramin, respektive Dopamin, kann ebenfalls als Biosyntheseweg genutzt werden, spielt aber unter physiologischen Bedingungen eine untergeordnete Rolle<sup>172</sup>. Nach Freisetzung des Dopamins durch Exozytose wird es durch Dopamintransporter (DAT) zurück in die Neuronen („Reuptake“) oder in Gliazellen aufgenommen. Der DAT ist Zielstruktur einiger Arzneistoffe und Drogen, die durch Blockade eine erhöhte Dopaminkonzentration im synaptischen Spalt zur Folge haben<sup>173</sup>.

In den dopaminergeren Neuronen wird Dopamin erneut in Vesikeln verpackt und steht zur erneuten Ausschüttung bereit. In Gliazellen wird Dopamin durch mitochondrienassoziierte Monoaminoxidasen B (MAO B) und Catechol-O-Methyltransferasen (COMT) inaktiviert<sup>174,175</sup>. Eine Aktivität der COMT kann dabei in nigrostriatalen Neuronen nicht festgestellt werden, sodass hier der Abbau nur über MAO B gesteuert wird<sup>176</sup>.

Die Oxidation von Dopamin führt zu 3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyd (DOPAL), welches über die Aldehyddehydrogenase (ALDH) zu 3,4-Dihydroxyphenyllessigsäure (DOPAC) abgebaut wird<sup>175</sup>. Die Methylierung der 3-Position führt zur Bildung von 3-Methoxytyramin, welches im Anschluss durch MAO B und ALDH zu Homovanillinsäure (HVA) oxidiert wird. HVA stellt auch für DOPAC das finale Stoffwechselprodukt, das durch COMT-assistierte Methylierung von DOPAC gebildet wird (Abbildung 17)<sup>171,177</sup>.

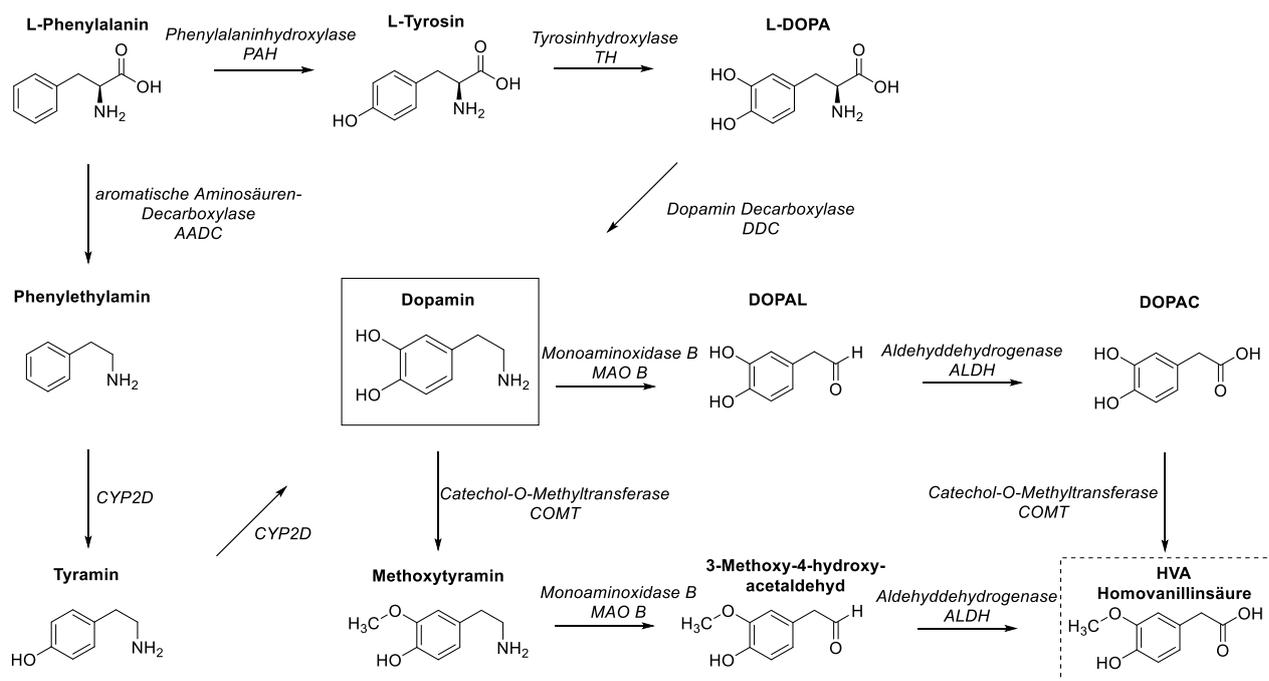


Abbildung 17: Biosynthese und Metabolismus von Dopamin

Sowohl synthetische als auch metabolisierende Enzyme und Transportproteine sind Ziel pharmakologischer Intervention. Je nach Erkrankung und Symptomatik sind im ZNS verschiedene neuronale Netzwerke betroffen. Dopaminerge Netzwerke lassen sich in vier große Leitungsbahnen einteilen, die bei Fehlfunktion der Grund der verschiedenen Symptomatiken sind<sup>166,171,178</sup>.

### 1.3.2 Dopaminerge Leitungsbahnen im ZNS

Die nigrostriatalen Leitungsbahnen projizieren von der Substantia Nigra in die Basalganglien zum Putamen und Nucleus Caudatus (zusammen als Striatum bezeichnet). Diese Projektionen sind in die Steuerung der Bewegung bzw. Motorik eingebunden. Untergang von dopaminergen Neuronen in der Substantia Nigra führen, wie in PD, zu Störungen in der Lokomotorik<sup>80,169</sup>. Die Blockade striataler Dopaminrezeptoren führt zu den bei Antipsychotika bekannten EPS (vergl. 1.1.3.2).

Die Effekte von Antipsychotika werden durch die Blockade von Dopaminrezeptoren im mesolimbischen Netzwerk erzeugt. Ausgehend vom Gebiet des ventralen Tegmentums ziehen die Neuronen ins limbische System zur Amygdala, dem Nucleus Accumbens und weiteren Strukturen. Das limbische System ist mitverantwortlich für die Verarbeitung von Emotionen und gilt als Zentrum für Belohnung, Lust und Befriedigung; psychoaktive Drogen lösen eine Aktivierung aus. Auch die Positivsymptomatik der Schizophrenie hat hier ihren Ursprung<sup>80,86,171</sup>.

Mesokortikale Leitungsbahnen projizieren vom ventralen Tegmentum in den präfrontalen Cortex und sind mit kognitiven Prozessen wie Lernen, Erinnern sowie Aufmerksamkeit, Aufgewecktheit und Emotion assoziierte Prozesse<sup>171</sup>, die in Bezug auf die kognitive und negative Symptomatik der Schizophrenie entscheidend sind<sup>80,86,89</sup>.

Der tuberoinfundibuläre Schaltkreis projiziert vom Nucleus Arcuatus (im Hypothalamus) auf die Eminentia Medialis und steuert die Prolaktinsekretion<sup>80</sup>, wobei Dopamin als Inhibitor der Sekretion wirkt<sup>179</sup>. Die Effekte von Dopamin, Arzneistoffen und anderen exogenen Substanzen werden in den verschiedenen Schaltkreisen über fünf verschiedene Dopaminrezeptoren vermittelt.

### 1.3.3 Dopaminrezeptoren

Die Dopaminrezeptoren (DR) sind nach den Subtypen als D<sub>1-5</sub>R bezeichnet. Alle fünf Rezeptoren gehören zur Gruppe der GPCR und sind nach ihrem koppelnden G-Protein in zwei Gruppen unterteilt. Rezeptoren D<sub>1</sub> und D<sub>5</sub> sind G<sub>s</sub>-gekoppelt und werden als D<sub>1</sub>-Typ (D<sub>1</sub>-like) bezeichnet. Die Rezeptoren D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> und D<sub>4</sub> sind G<sub>i/o</sub>-gekoppelt und zum D<sub>2</sub>-Typ zusammengefasst (D<sub>2</sub>-like)<sup>180</sup>. Die Signalkaskaden der G-Proteine sind in 1.2.2 erklärt. Die Expressionsdichte im ZNS zeigt eine klare Staffelung von D<sub>1</sub> > D<sub>2</sub> >> D<sub>3</sub> > D<sub>5</sub> > D<sub>4</sub>, wobei D<sub>1</sub>R und D<sub>2</sub>R noch einmal deutlich häufiger sind als die anderen Subtypen<sup>180,181</sup>. Dopamin als endogener Ligand weist deutliche Affinitätsunterschiede zu den Dopamin-Rezeptorsubtypen auf. Wie Tabelle 5 zeigt, ist seine Affinität zum D<sub>3</sub>R und D<sub>4</sub>R zehnfach gegenüber D<sub>2</sub>R und D<sub>5</sub>R bzw. hundertfach gegenüber D<sub>1</sub>R erhöht.

Tabelle 5 fasst die Art der G-Proteinkopplung, die Verteilung im ZNS, die Affinität des Dopamins und die Anwendung in der Therapie der Dopaminrezeptoren zusammen.

Tabelle 5: Eigenschaften der Dopamin Rezeptoren

Rezeptor	D <sub>1</sub> R	D <sub>5</sub> R	D <sub>2</sub> R	D <sub>3</sub> R	D <sub>4</sub> R
G-Protein	G <sub>s</sub>	G <sub>s</sub>	G <sub>i/o</sub>	G <sub>i/o</sub>	G <sub>i/o</sub>
Dopamin pK <sub>i</sub> <sup>#182</sup>	5,5	6,1	6,6	7,3	7,6
ZNS- Verteilung <sup>166</sup> (hohe Dichte)	ST, NucA. fC, HC, Sn	unspez., geringe Dichte	ST, NucA, Sn, vT, HC, Amy	NucA, HC Calleja-Insel	geringe ZNS- Dichte
Pharmakol. Intervention	[Schizophrenie Sucht] *	prä- klinische- Forschung	PD (Ago.) Schizophrenie (Ant.)	PD (Ago.) Schizophrenie (Ant.)	prä- klinische- Forschung

<sup>#</sup>: pki am humanen Dopaminrezeptor\*: nicht für diese Indikation zugelassen, Schwerpunkt der Forschung, NucA: Nucleus Accumbens, ST: Striatum, fC: frontaler Cortex, HC: Hippocampus, Sn: Substantia nigra, Amy: Amygdala, vT: ventrales Tegmentum, PD: Morbus Parkinson, Ago.: Agonist, Ant: Antagonist

### D<sub>1</sub>-like Rezeptoren

Der D<sub>1</sub>R ist der häufigste dopaminerge Rezeptor im ZNS und findet sich in allen vier großen dopaminergen Schaltbahnen. Der D<sub>5</sub>R ist deutlich weniger stark vertreten. Mit einer Homologie von 50% zum D<sub>1</sub>R sind vergleichbare Eigenschaften und Effekte an beiden Rezeptoren zu erwarten und wird im Folgenden nicht weiter separat behandelt. Der D<sub>1</sub>R ist postsynaptisch lokalisiert und führt hier als G<sub>s</sub>-gekoppelter GPCR zur Aktivierung nachgeschalteter Prozesse. Der D<sub>1</sub>R ist involviert in kognitive Prozesse wie Lernen, Aufmerksamkeit und Gedächtnis<sup>166,171</sup>. Des Weiteren werden Einflüsse auf die Motorik und das Belohnungssystem zum Bestandteil seiner Aufgaben gezählt<sup>180</sup>. Hieraus ergeben sich die Interessen am D<sub>1</sub>R in Bezug auf Krankheiten, die mit Motorik, kognitiven Defiziten und Sucht einhergehen<sup>105</sup>. In Bezug auf PD und Schizophrenie wird der D<sub>1</sub>R seit mehr als 40 Jahren als Zielstruktur diskutiert und erforscht (vergl. 1.1.3.)<sup>183</sup>.

Ein Arzneistoff mit D<sub>1</sub>R-Ligandenprofil wurde bis jetzt für diese Indikationen jedoch nicht zugelassen. Als einziger zugelassener Arzneistoff wird Fenoldopam (Corlopan®) als partieller D<sub>1</sub>R-Agonist für die periphere Therapie von Bluthochdruck eingesetzt<sup>183</sup>.

### *D<sub>2</sub>-like Rezeptoren*

Im Vergleich zu den Rezeptoren des D<sub>1</sub>-Typs sind D<sub>2</sub>-like-Rezeptoren an ein inhibitorisches G<sub>i/o</sub>-Protein gekoppelt. Der D<sub>4</sub>R ist verglichen mit D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R nur gering exprimiert und zurzeit kein Ziel pharmakologischer Intervention, weshalb sich die nachfolgenden Erläuterungen auf D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R beschränken. D<sub>2</sub>R werden sowohl prä- als auch postsynaptisch exprimiert<sup>166</sup>, wobei zwei Isoformen als Spleißingalternativen ausgebildet werden. Der D<sub>2S</sub>R (S für short) wird vorwiegend präsynaptisch als Autorezeptor exprimiert (vergl. 1.2.3), während der D<sub>2L</sub> (L für long) postsynaptisch ausgebildet wird. Der Unterschied der Rezeptoren liegt in einer 29-aminosäurelangen Sequenz, die im D<sub>2S</sub> ausgeschnitten wird<sup>166,184</sup>. Auch der D<sub>3</sub>R wird prä- und postsynaptisch und in Isoformen ausgebildet<sup>184</sup>. Auch wenn Signalkaskaden und Expressionsmuster des D<sub>3</sub>R oft mit dem D<sub>2</sub>R übereinstimmen, zeigen D<sub>3</sub>R-selektive Liganden, dass unterschiedliche Effekte der Rezeptoren messbar sind. Unter anderem werden D<sub>3</sub>R und D<sub>1</sub>R als Heterodimer im Striatum und Nucleus Accumbens ausgebildet, wodurch teilweise paradoxe Wirkungen erzeugt werden können<sup>185</sup>.

### **1.3.4 D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R als pharmakologische Zielstrukturen**

Die Selektivität von Liganden ist eine ihrer entscheidenden Eigenschaften, um gewünschte von unerwünschten Effekten zu trennen. Die Entwicklung dopaminerger Liganden konzentrierte sich zunächst auf eine Selektivität zwischen den beiden Rezeptorfamilien<sup>186</sup>. Der unterschiedliche Effekt einer D<sub>2</sub>R- und D<sub>3</sub>R-Inhibition auf die Symptomatik der Schizophrenie hat dazu geführt, auch innerhalb der Familie die einzelnen Rezeptoren als getrennte Targets zu betrachten<sup>187</sup>.

### *Agonisten*

Dopaminagonisten sind vor allem als D<sub>2</sub>R-Agonisten beschrieben und aus der Behandlung von PD bekannt. Dabei zeigt sich, dass die Substanzen teilweise eine D<sub>3</sub>R-Präferenz aufweisen, wie es auch Dopamin selbst zeigt (Tabelle 5). Der Untergang von dopaminergen Neuronen in der Substantia Nigra und damit eine verminderte Neurotransmission im nigrostriatalen Netzwerk führt unter anderem zu den motorischen Kardinalsymptomen von PD<sup>188,189</sup>. Die Wiederherstellung der Transmission ist Ziel der zurzeit zugelassenen Arzneistoffe. D<sub>2</sub>R-Agonisten wie Pramipexol und Ropinerol sind dabei eine der möglichen Ansätze (Abbildung 18)<sup>190</sup>. Darüber hinaus wird versucht die Dopaminkonzentration durch den Eingriff in die Biosynthese bzw. den Metabolismus zu erhöhen (Abbildung 17). MAO B- und COMT-Inhibitoren sollen den Abbau von Dopamin vermindern. Die externe Zufuhr von L-DOPA wird zur vermehrten Biosynthese genutzt<sup>189,190</sup>.

H<sub>3</sub>R-Antagonisten, allein oder als MTDL mit MAO B-inhibitorischer Aktivität, erhöhen ebenfalls die Dopaminkonzentration. Zusätzliche positive Effekte der H<sub>3</sub>R-Antagonisten auf kognitive Einschränkungen machen diese zu sehr interessanten Ansatzpunkten, allerdings sind sie in der Therapie noch nicht zugelassen<sup>143,191,192</sup>.

Die Entwicklung selektiver Agonisten innerhalb der D<sub>2</sub>-Typ-Rezeptoren wird durch die intrinsische Aktivität erschwert. Wo Antagonisten „nur“ eine Blockade des Rezeptors erzeugen müssen, sollen Agonisten eine Konformationsänderung zur Aktivierung des Rezeptor erzeugen<sup>186</sup>. Liganden, die eine Selektivität In-vitro zeigen, können In-vivo ein anderes Profil haben. So konnte der selektive D<sub>2</sub>R-Agonist Sumanriol (Abbildung 18) in klinischen Studien keinen Unterschied gegenüber dem unselektiven Agonisten Ropinirol in klinischen und physiologischen Effekten aufweisen<sup>193,194</sup>.

Aufgrund der Präferenz von Dopamin und Pramipexol für den D<sub>3</sub>R wurden auch selektive D<sub>3</sub>R-Agonisten wie PD-128907 entwickelt<sup>195,196</sup>.

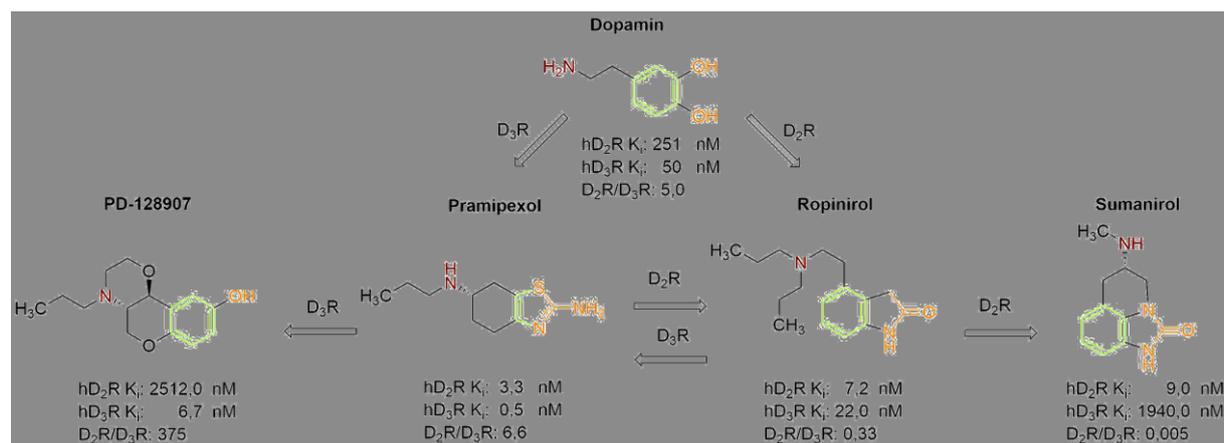


Abbildung 18: Strukturvergleich von D<sub>2</sub>R- und D<sub>3</sub>R-Agonisten, D<sub>2</sub>R/D<sub>3</sub>R: Affinitätsverhältnis von D<sub>2</sub>R zu D<sub>3</sub>R

Bis jetzt konnten die selektiven Agonisten klinisch keinen Vorteil gegenüber den affinitätsausgeglichene Substanzen zeigen<sup>186,196,197</sup>. Der Untergang der dopaminergen Neurotransmission führt zum Verlust dopamingesteuerter Prozesse. Die Transmission zu erhalten scheint mit Agonisten, mit vergleichbarem Rezeptorprofil wie Dopamin, am besten zu funktionieren. Abbildung 18 zeigt Strukturen von Agonisten mit ausgeglichenem und selektivem Rezeptorprofil. Als Arzneistoffe werden die zentral dargestellten Substanzen in der Therapie von PD verwendet. Dopamin selbst wird dabei, durch L-DOPA, MAO B- und COMT-Inhibitoren, als endogener Agonist gebildet.

### *Antagonisten*

Der D<sub>2</sub>R galt lange Zeit als der entscheidende Rezeptor in der Behandlung der Schizophrenie. Die entwickelten Liganden waren Antagonisten, die aufgrund ihrer Affinität zum D<sub>2</sub>R antipsychotische Effekte lieferten. Der geringe Effekt auf die negative und kognitive Symptomatik führte zur Entwicklung von weniger D<sub>2</sub>R-selektiven Substanzen, hin zu Arzneistoffen, die eine D<sub>3</sub>R-Präferenz aufweisen (vergl. 1.1.3.2)<sup>198</sup>. Substanzen wie Cariprazin und Aripiprazol zeigen eine bessere Beeinflussung der komplexen Symptomatik<sup>199</sup>.

Die Entwicklung von D<sub>3</sub>R-selektiven Liganden konnte durch die Aufnahme von Kristallstrukturen des D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R vereinfacht werden<sup>200,201</sup>, da strukturelle Unterschiede besser erkannt werden konnten<sup>198</sup>. Selektive Liganden für die beiden Subtypen zu erzeugen, stellt sich aufgrund konservierter Aminosäuren im Bereich der Bindetasche als schwierig heraus<sup>202</sup>. Die primäre bzw. orthosterische Bindetasche (engl.: orthosteric binding site, OBS), weist kaum Unterschiede in den beiden Rezeptorsubtypen auf<sup>203</sup>. Wie Dopamin bilden die exogenen Liganden eine Salzbrücke mit der hochkonservierten Aminosäure Asparagin D<sup>3,32</sup> (Asp114 in D<sub>2</sub>R und Asp110 in D<sub>3</sub>R)<sup>204</sup>. Durch unterschiedliche Ausgestaltung dieser Bindetaschen können dennoch selektive Liganden erzeugt werden. Mit einer Homologie von 78 % von D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R in den TMD fehlen im Bereich der OBS jedoch genügend große Unterschiede im Aminosäureprofil<sup>202,205</sup>. Eine Selektivität über die reine OBS-Interaktion erscheint nicht möglich. Die Synthese von Liganden mit einer D<sub>3</sub>R-Präferenz ließ vermuten, dass eine zweite Bindetasche (engl.: secondary binding pocket, SBP) für die Selektivität entscheidend ist. Die Kristallstrukturen der Rezeptoren konnten diese Annahme belegen.

Die SBP wird durch ein zweites Pharmakophor und einen Linker entsprechender Länge erreicht<sup>186,206,207</sup>. Liganden werden hier durch lipophile Interaktionen und Wasserstoffbrücken stabilisiert<sup>208</sup>. Für den D<sub>2</sub>R konnte so eine Bindetasche ebenfalls aufgeklärt werden. Eine deutlich höhere Beweglichkeit in der SBP des D<sub>2</sub>R führt zu einer großen Akzeptanz von Strukturmotiven, sodass bis jetzt keine absolut selektiven Liganden dargestellt werden konnten<sup>209</sup>. Verbindung L-741626 (Abbildung 19) zeigt mit einer zehnfach höheren Affinität zum D<sub>2</sub>R eine der zurzeit höchsten D<sub>2</sub>R-Präferenzen bzw. relative Selektivitäten<sup>186,205</sup>.

Abbildung 19 zeigt, wie, ausgehend von einem Antagonisten mit ausgeglichener  $D_2R/ D_3R$ -Affinität (Haloperidol) Liganden sowohl mit  $D_2R$ - als auch mit  $D_3R$ -Präferenz entwickelt wurden<sup>186 204 205</sup>.

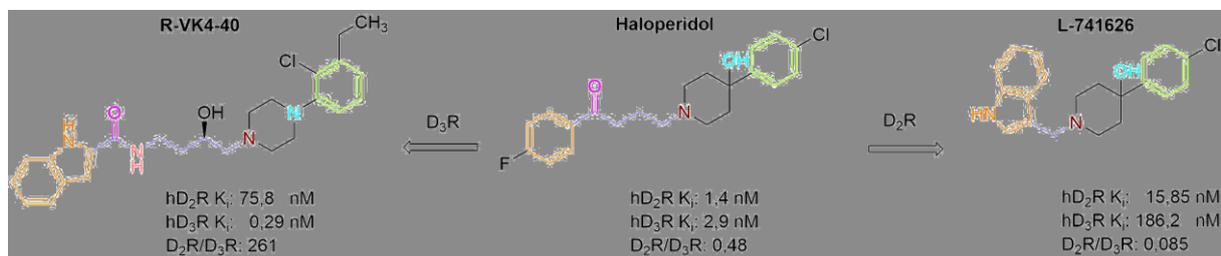


Abbildung 19: Strukturvergleich von  $D_2R$ - und  $D_3R$ -Antagonisten,  $D_2/D_3$ : Affinitätsverhältnis  $D_2R$  zu  $D_3R$

Allen Verbindungen gemein ist das tertiäre aliphatische Amin (rot), ein H-Brückenakzeptor (cyan), ein Aromat (grün) sowie ein Linker (hellblau) zu einer zweiten aromatischen Gruppe (orange). Die gemeinsamen Strukturmerkmale im rechten Teil der Moleküle binden in die OBS und weisen daher nur kleine Unterschiede auf.

Entscheidend für die Selektivität ist die Ausgestaltung der Linkerstruktur: längere Linker mit Carbonylstrukturen am westlichen Ende erhöhen die  $D_3R$  Präferenz<sup>204,205</sup>.

Die Entwicklung selektiver Substanzen ist für das Verständnis über die Einflüsse der verschiedenen Rezeptoren auf die Symptomaten essenziell. Zurzeit werden klinische Effekte auf verschiedene Rezeptorprofile zurückgeführt. Selektive Liganden konnten diese in Studien wiederum noch nicht belegen, sodass bis jetzt kein selektiver Ligand zugelassen werden konnte. In Kombination mit den Wirkprofilen von Aripiprazol und Cariprazin zeigt sich, dass eine absolute Selektivität der Rezeptorpräferenz für diese Indikation nicht überlegen ist<sup>94,198</sup>.

## 2 Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit ist die Synthese, chemische Charakterisierung und Beschreibung von Struktur-Wirkungsbeziehungen (engl: structure activation relationship, SAR) von MTDL. Die biologische Aktivität wird aufgrund von Affinitäten zu Rezeptoren, Proteinen und Proteinfragmenten sowie inhibitorischen Eigenschaften auf Enzyme bewertet.

Ein MTDL weist nicht nur eine Zielstruktur auf, an der ein Effekt erzielt werden soll. Die MTDL, die in dieser Arbeit dargestellt werden, sollen im Wesentlichen an drei Zielstrukturen angreifen:

1. Der Histamin-Rezeptorsubtyp H<sub>3</sub>,
2.  $\beta$ -Amyloidplaques, wie sie bei Morbus Alzheimer auftreten und
3. Die Insulin-like-growth-factor-1-Bindingproteine (IGF<sub>1</sub>BP).

Wie in der Einleitung beschrieben, besteht ein großer Bedarf an neuen Arzneistoffen zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen wie AD, PD und Schizophrenie. Besonders im Bereich von AD ist nicht abschließend geklärt, welche pathophysiologischen Prozesse für die Entwicklung und Progression der Erkrankung verantwortlich sind. Die Vielfalt an Hypothesen und Anhaltspunkten verdeutlicht aber, dass ein direkter „ein-Arzneistoff-ein-Target“-Therapieerfolg äußerst unwahrscheinlich ist. Damit ist gemeint, dass die Adressierung eines Targets nicht ausreichend sein wird, um die Erkrankung in ihrer Komplexität kausal therapieren zu können.

Der gewählte multifaktorielle Ansatz bezieht sowohl symptomatische als auch remitierende und kurative Therapieansätze mit ein. Durch die Antagonisierung des H<sub>3</sub>R wird das Level an Neurotransmittern erhöht, was zu einer erhöhten spezifischen Neurotransmission führt. Wie beschrieben führen H<sub>3</sub>R-Antagonisten zu einer Verbesserung von Kognition und Lernen (vergl. 1.2.4). Einschränkungen darin sind zentrale Punkte in der Symptomatik von AD, die so vermindert werden können. Dieser Prozess wird jedoch durch den fortschreitenden Untergang von Neuronen limitiert. Um diesen Verlust an Neuronen zu verlangsamen und im besten Fall aufzuhalten, soll die Bildung toxischer  $\beta$ -Amyloidoligomere verhindert werden. Die Oligomere stellen dabei, in Bezug auf die  $\beta$ -Amyloidfragmente, die vorwiegend toxisch wirkenden Bestandteile dar (vergl. 1.1.2.1). Eine verminderte Bildung dieser toxischen Spezies kann so den Fortschritt der Erkrankung verlangsamen oder stoppen.

Durch die Wahl von aminosäurebasierten Grundbausteinen sollen die synthetisierten Moleküle die Aggregation der  $\beta$ -Amyloidmonomere ( $A\beta$ -Monomere) durch unspezifische Interkalation zwischen die Monomeren verhindern. Dabei soll im Extrazellularraum des ZNS dafür gesorgt werden, dass Monomere für die Oligomerbildung reversibel blockiert werden und damit abbaubar bleiben. Eine zu starke Interaktion mit den Monomeren könnte dazu führen, dass die Substanzen mehr als eine Art Verbindungsstück zwischen Monomeren fungieren und damit die Oligomerisierung weiter begünstigt werden würde. Die Interaktion zwischen  $A\beta$ -Monomere (als Fragmente des Amyloid-Precursor-Protein (APP)), und den Substanzen erfolgt dabei über typische Protein-Protein-Interaktionen wie Salzbrücken, Wasserstoffbrückenbindungen und  $\pi$ -Interaktion<sup>210</sup>.

Dem Untergang von Neuronen steht die Stimulation der Neuronenbildung entgegen. Durch Wachstumsfaktoren wie dem IGF<sub>1</sub> wird die Bildung neuer Nervenzellen stimuliert. Diese können die bereits untergegangenen ersetzen und so zu einer Remission oder Heilung führen. Andererseits führt ein Überschuss an Wachstumsfaktoren in manchen Fällen zu einer überschießenden Reaktion und zur Bildung von Tumoren. Die Balance kann hier durch Bindungsproteine erfolgen. Diese binden den Wachstumsfaktor und inaktivieren ihn somit. Die in der klinischen Testung befindliche Substanz NNZ-2591 zeigt dabei ein herausragendes Potential, das Gleichgewicht zwischen freiem und gebundenem Wachstumsfaktor positiv zu beeinflussen<sup>211</sup>. NNZ-2591 besetzt die Bindungsstelle des Wachstumsfaktors im Bindungsprotein (IGF<sub>1</sub>-BP). So wird bei verminderter oder nur leicht erhöhter IGF<sub>1</sub>-Konzentration der Wachstumsfaktor weiter verdrängt und die freie Konzentration erhöht. Bei hohen Konzentrationen jedoch verdrängt der Wachstumsfaktor die Substanz aus dem Bindungsprotein und reguliert seine eigene Konzentration dabei auf ein normales Level (vergl. 1.1.2.2)<sup>211</sup>.

Die Synthese soll Moleküle im Bereich von 500 g/mol, sogenannte kleine Moleküle (engl.: small molecules) liefern. Der Vorteil dieser Substanzen ist, dass sie potenziell peroral verabreicht werden können. Große Moleküle wie Proteine, zu denen auch Antikörper gehören, bedürfen der Umgehung der peroralen (p.o.) Applikation; sie würden entweder direkt durch einen starken First-Pass-Effekt inaktiviert oder gar nicht erst aus dem Gastrointestinaltrakt aufgenommen werden. Ein weiterer Nachteil wäre die schlechte Penetration durch die Blut-Hirn-Schranke. Die Substanzen müssen diese jedoch überwinden, um ihr Ziel im ZNS zu erreichen. Auch hinsichtlich dieses Punktes liefern kleine Moleküle einen großen Vorteil, da sie bei ausreichender Lipophilie die Schranke durch Diffusion überwinden könnten.

Die „Lipinski Rule of Five“ zu befolgen, sowie die Eigenschaften guter Arzneistoffe (engl.: drug likeness) einzubeziehen, gilt als weitere Anforderung an die neuen Substanzen. Die „Lipinski Rule of Five“ beschreibt Anforderungen die an das Molekül gestellt werden müssen, damit es peroral absorbiert werden kann<sup>212</sup>. Der Drug-Likeness liegen verschiedene Modelle zugrunde, die auf Grundlage von physikochemischen Eigenschaften und funktionellen Gruppen versuchen, eine Aussage über die Güte als Arzneistoff zu treffen. Dabei werden neben der Lipinski Rule und anderer „Auswahlregeln“ auch mögliche Metabolisierungen und Interaktionen berücksichtigt<sup>213</sup>.

Durch die Kombination der Zielstrukturen, soll im Idealfall ein Molekül synthetisiert werden, welches die Symptome der Krankheit behebt, die Progression der Krankheit stoppt und deren Heilung ermöglicht. Die Notwendigkeit, mehr als nur eine Zielstruktur in der Therapie zu berücksichtigen, wird auch durch das Scheitern vieler aussichtsreicher Arzneistoffkandidaten unterstrichen. Eine reine Fokussierung auf  $\beta$ -Amyloidplaques zum Beispiel, wie es durch einige Antikörper geschieht, zeigt am Ende klinischer Studien kaum einen Therapieerfolg (vergl. Tabelle 1). Die alleinige symptomatische Therapie kann die Auswirkungen der Krankheit abmildern, bietet aber nicht die Möglichkeit einer Heilung.

Das Ziel der Arbeit ist eine Substanzbibliothek erstellt werden, mit deren Hilfe Ansatzpunkte und Lösung zur Therapie von Morbus Alzheimer gefunden werden können.

In einer anderen MTDL-Strategie wurden Pharmakophore für einen H<sub>3</sub>R-Antagonist und eine D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Antagonist kombiniert. Hinsichtlich einer zufriedenstellenden Therapie der Schizophrenie ist diese Kombination sinnvoll (vergl. 1.1.3.2). Wie beschrieben stellt die alleinige Antagonisierung der D<sub>2</sub>R, wie es durch die typischen Antipsychotika geschieht, keine ausreichende Therapie zur Verfügung und führt zu EPS als unerwünschte Nebenwirkungen. Prokognitive Effekte des H<sub>3</sub>R Antagonisten sollen mit D<sub>2</sub>R- und D<sub>3</sub>R-Partialagonist- bzw. Antagonist-Bausteinen mit D<sub>3</sub>R-Präferenz verknüpft werden, um sowohl positive und negative als auch kognitive Symptomaten gleichzeitig mit einem Molekül zu adressieren.



## 3 Synthese

### 3.1 Rationale Arzneistoffentwicklung

Die Synthese eines MTDL beginnt zunächst mit der Suche nach passenden Leitstrukturen. Darunter versteht man Substanzen, Strukturen oder Struktur motive, die an den definierten Zielstrukturen (Targets) bereits eine vielversprechende Interaktion gezeigt haben. Durch rationale Arzneistoffentwicklung (engl.: rational drug design) werden die Struktur motive in mögliche Zielverbindungen (engl.: target structures) übersetzt. Die Zielstruktur enthält dabei jeweils ein Pharmakophor für die verschiedenen Targets. Ein Pharmakophor ist die auf ein Minimum reduzierte Molekülstruktur, die für einen Effekt am Target nötig ist. Stark et al.<sup>4</sup> beschreiben dabei die Notwendigkeit, die Pharmakophore gezielt auszuwählen, um die Synthese eines „Dirty Drugs“ zu vermeiden. Als „Dirty Drug“ wird eine Verbindung beschrieben, die ungewollt an vielen Enzymen oder Rezeptoren (sogenannte „off targets“) einen Effekt hat. Der fundamentale Unterschied eines MTDL zu einem „Dirty Drug“ ist, dass die Wirkung an verschiedenen biologischen Strukturen (sogenannte „on targets“) gewünscht ist und in die Entwicklung mit einfließt. „Dirty Drugs“ zeigen dagegen zunächst ungewollte Effekte an anderen Strukturen, die man sich im Nachhinein als Therapieoption zu Nutze macht. Dabei bleiben diese Verbindungen jedoch unselektiv und in ihrer Wirkung schwer kalkulierbar. Ein MTDL ist damit nicht etwa eine Verbindung, bei der man Nebenwirkungen ausnutzt und zu einer Hauptwirkung erklärt. Vielmehr werden Verbindungen kreiert, die mehr als eine Wirkung haben und diese additiv oder synergistisch aufeinander abgestimmt sind.

Die Entwicklung eines MTDL ist aus verschiedenen Gründen sinnvoll. Zum einen können Nebenwirkungen eines Pharmakophors durch das andere unterbunden werden. Zum anderen können Erkrankungen, die auf einem verschobenen Gleichgewicht von verschiedenen Botenstoffen oder Regelkreisen basieren, besser angesprochen werden. Durch den Eingriff in verschiedene Botenstoffsysteme und an mehreren Punkten des Regelkreises, können die Vorgänge ausbalanciert werden. Ein weiterer Vorteil von MTDL ist, dass es sich nur um eine einzige chemische Verbindung handelt. Demnach gibt es für diese Verbindung auch nur eine Pharmakokinetik (PK) und Pharmakodynamik (PD). Durch die Gabe zweier Arzneistoffe, mit zwei unterschiedlichen PK und PD müssen verschiedene Interaktionen untereinander berücksichtigt werden. Die Einstellung einer Dosierung kann so sehr aufwendig sein. Bei diesem Vergleich muss jedoch betrachtet werden, dass von einem optimalen MTDL ausgegangen wird, d.h., dass durch das Design unterschiedliche Metabolisierungen und damit Effektänderungen der Pharmakophore im Vorhinein mit einbezogen werden und gewollt sind.

Multivalente Erkrankungen wie Morbus Alzheimer können schwerlich durch die Adressierung einer Zielstruktur therapiert werden. Durch Anwendung von MTDL kann ein breiter Eingriff in die Pathophysiologie erfolgen, sodass simultan verschiedenste Mechanismen therapiert werden. Die Kombination, d.h. die Verknüpfung der Pharmakophore, kann bei MTDL auf verschiedene Weisen erfolgen. Morphy et al.<sup>214</sup> beschreiben in ihrem Konzept über MTDL dabei drei generelle Ansatzpunkte:

1. Linker, die zwei oder mehr Pharmakophore miteinander verbinden bzw. verlinken
2. Überlappung von Pharmakophoren, wenn diese ähnliche Struktur motive aufweisen
3. Verschmelzung von Pharmakophoren zu einem Neuen.

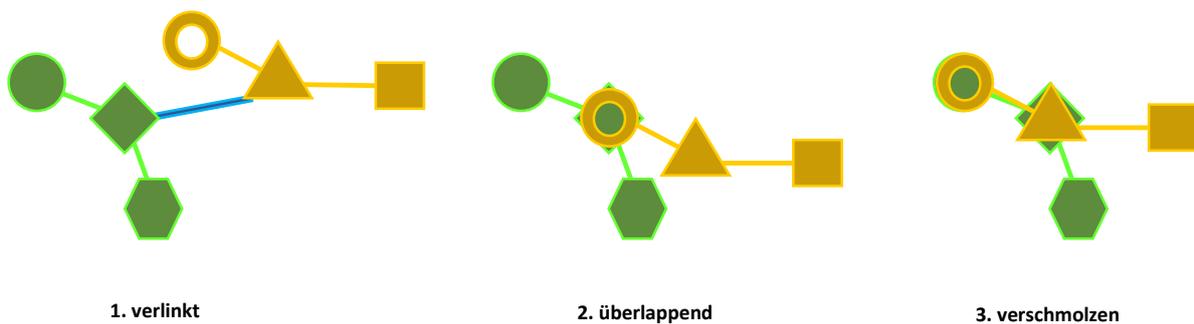


Abbildung 20: Varianten eines MTDL, modifiziert nach Stark et al.<sup>4</sup>

Durch Einführung einer verbindenden Komponente (Linker) können zwei Pharmakophore miteinander verbunden werden. Dabei ist darauf zu achten, dass notwendige Bindungsareale durch den Linker nicht verändert werden; die Art des Linkers ist auf die Pharmakophore anzupassen. Diese können substituierbare Gruppen enthalten oder müssen mit solchen versehen werden. Der Linker selbst hat meistens keine pharmakologischen Effekte, kann aber in Art und Länge variiert werden, um das Profil des MTDL zu beeinflussen. Sollen die Pharmakophore überlappend dargestellt werden, muss zunächst ein Strukturteil identifiziert werden, der in beiden Strukturen durch bioisostere Fragmente dargestellt werden kann. Eine schlichte Verbindung zweier Moleküle ist dabei nicht mehr möglich; die Substanz muss durch einen neuen Syntheseweg erzeugt werden. Können große Teile der Pharmakophore durch dieselben Fragmente dargestellt werden, verschmelzen die Pharmakophore zu einem. Eine verstärkte Integration ist dabei elegant und häufig gewünscht, da sie kleine Molekülstrukturen liefert und somit im Hinblick auf die Drug-Likeness und die perorale Bioverfügbarkeit Vorteile bieten kann. In manchen Fällen lassen sich die Pharmakophore jedoch schlecht ineinander integrieren, sodass gewünschte Effekte verloren gehen könnten. Gehen bei der Verschmelzung der Leitstrukturen zu viel von ihrer „Wirkungen“ verloren, kann eine überlappende oder verbundene Variante eher zielführend sein.

Verlinkte Substanzen sind besonders im Hinblick auf die Identifikation und Evaluation neuer Prinzipien interessant. In In-vitro-Testsystemen ist die Drug-Likeness zunächst vernachlässigbar. Welche Variante sich am Ende als „besser“ herausstellt, ist nur aufgrund des Ausmaßes der Verschmelzung der Strukturen, nicht zu bestimmen.

Wie in der Zielsetzung beschrieben, wurden der H<sub>3</sub>R, die  $\beta$ -Amyloidplaques und die IGFA<sub>1</sub>-BP als Targets gewählt. Um diese mit einem MTDL adressieren zu können, wurden Leitstrukturen gesucht, die ineinander integrierbar sind. Als besonders interessante Verbindung wurde dafür NNZ-2591 (Abbildung 22) identifiziert; als Arzneistoffkandidat, der sich bereits in der klinischen Testung für AD befindet, bietet die Substanz optimale Eigenschaften, um als Grundstruktur in das Design einzugehen. Die Verbindung stellt daneben auch den ersten Vertreter des postulierten Wirkmechanismus über die IGFA<sub>1</sub>-Homöostase dar. Cornacchia et al.<sup>215</sup> beschreiben eine grobe Strukturwirkungsbeziehung für neuroprotektive 2,5-Diketopiperazine wie NNZ-2591 (Abbildung 21). Dabei wird beschrieben, dass die Amide der Struktur als Wasserstoffbrückenakzeptoren und -donoren beibehalten werden sollen. Im östlichen Molekülteil muss, dem Prolinfragment entsprechend, ein lipophiler Substituent stehen. Die ungesättigte Allylstruktur scheint dabei die neuroprotektive Wirkung zu erhöhen, aber nicht essenziell für diese zu sein. Ein weiterer Grund, den 2,5-Diketopiperazingrundkörper in die Zielstruktur zu integrieren, ist sein struktureller Aufbau aus zwei Aminosäuren. Das zyklische Dipeptid bietet damit die nötigen Voraussetzungen, um unspezifische Protein-Protein-Interaktionen eingehen und unterbrechen zu können.

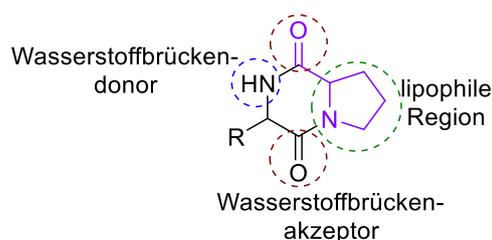


Abbildung 21: 2,5-Diketopiperazingrundgerüst mit SAR nach Cornacchia et al.<sup>209</sup>

Mit der Möglichkeit, Wasserstoffbrücken auszubilden sowie lipophile Wechselwirkungen eingehen zu können, sind zwei zentrale Wechselwirkungsmöglichkeiten gegeben. Wie beschrieben, sollen genau diese Interaktionen mit Amyloidfragmenten eingegangen werden. Das 2,5-Diketopiperazingrundgerüst der Verbindung NNZ-2591 kann damit bereits zwei der geforderten Eigenschaften des MTDL erfüllen.

Im nächsten Schritt des „Rational Drug Designs“ geht es um das Einbringen eines H<sub>3</sub>R-Antagonistenpharmakophors. Abgeleitet aus der Kombination von Pitolisant (Wakix®) und JNJ-Verbindung 53 konnte bereits gezeigt werden, dass eine Reduktion des Pharmakophors auf einen Piperidinpropyloxyaryl-Rest die Affinität zum Rezeptor beibehält<sup>9,74,157</sup>. Die Substitution sollte dabei in *para*-Position erfolgen. Durch Austausch des Glycins durch Tyrosin, konnte so eine Zielstruktur erzeugt werden, die das Potential hat, die gewünschten Effekte an den identifizierten Targets zu erzielen (Abbildung 22).

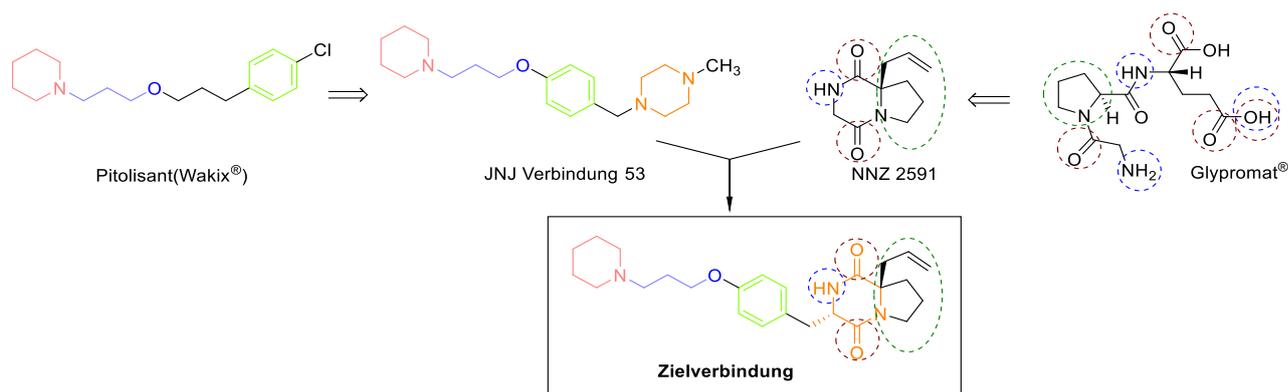


Abbildung 22: Leit- und Zielstrukturen, JNJ-Verbindung 53 aus einer Johnson & Johnson Patentschrift<sup>212</sup>

Zum Aufbau einer umfassenden Substanzbibliothek wird die Zielstruktur retrosynthetisch in einzelne Fragmente zerlegt, die anschließend wieder zu neuen Verbindungen zusammengesetzt werden (Abbildung 23). So entstehen diverse Verbindungen, die sich divergent voneinander fort- und auf der anderen Seite konvergent aufeinander zubewegen.

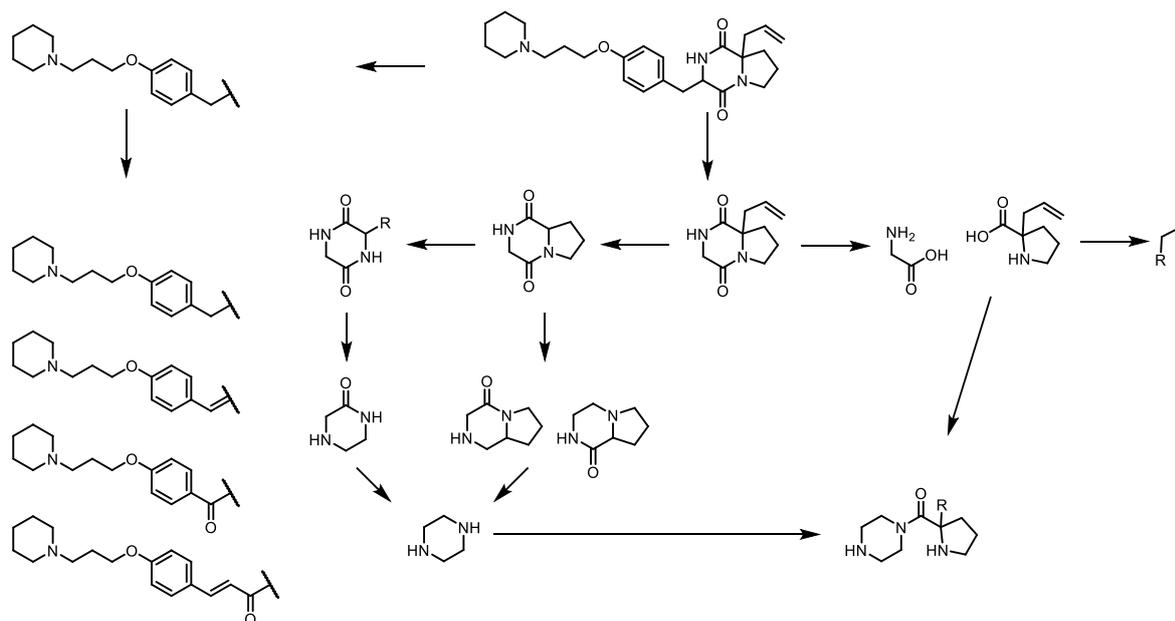


Abbildung 23: Retrosynthese der Zielstruktur

Am Ende entsteht so eine Substanzbibliothek, mit der sich der Einfluss der einzelnen Struktur motive auf die Eigenschaften, Wirkungen und Affinitäten der MTDL untersuchen lässt. Dabei werden alle drei der genannten Verbindungsmöglichkeiten für MTDL in verschiedenem Ausmaß genutzt. Dieses Vorgehen ermöglicht es, Pharmakophore zu identifizieren und zu evaluieren, inwieweit diese sich ineinander integrieren lassen.

Die beim Zusammenbau der Struktur motive entstehenden Verbindungsklassen sind Abwandlungen des nichtaromatischen, zyklischen Diamins Piperazin. Piperazin findet sich in einer Vielzahl an Arzneistoffen und Arzneistoffkandidaten (Abbildung 24). Hierbei ist vor allem der ausbalancierende Effekt im Hinblick auf Hydro- und Lipophilie zu beachten: durch die Stickstoffatome in Position 1 und 4 erhält der Cyclohexan-Grundkörper eine Polarisierung, die Fähigkeit, Wasserstoffbrücken auszubilden, sowie zwei basische Funktionalitäten.

Der ausgleichende Effekt zeigt sich im Besonderen bei ZNS-aktiven Arzneistoffen, die sowohl lipophil sein müssen, um die Bluthirnschranke zu überwinden, als auch ihr Lösungsvermögen im wässrigen Medium nicht verlieren dürfen<sup>216,217</sup>.

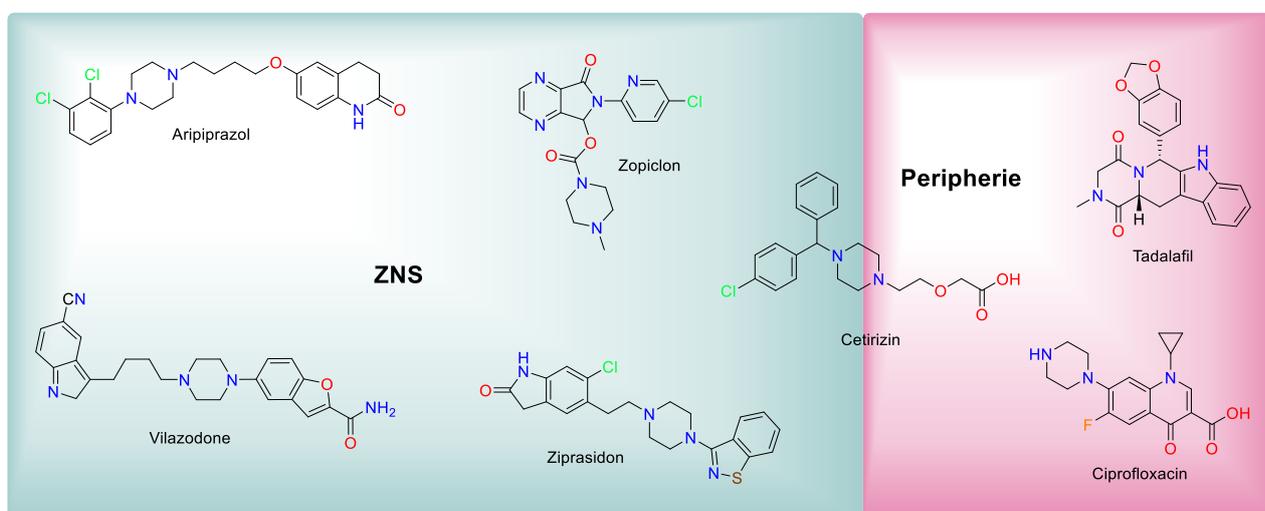


Abbildung 24: Arzneistoffe mit Piperazinstrukturelementen

Die Drug-Likeness, die ZNS Gängigkeit und die Möglichkeit der peroralen Applikation sind von Beginn an gewünschte Eigenschaften der synthetisierten MTDL. Das Piperazin als Grundkörper liefert dafür die genannten vielversprechenden Eigenschaften. Im Feld der H<sub>3</sub>R-Antagonisten konnten piperazinbasierte Verbindungen bereits vielversprechende Daten liefern. Bezogen auf die SAR von H<sub>3</sub>R-Antagonisten tritt das Piperazinelement sowohl als erstes basisches Zentrum als auch als zweite Heteroatomgruppe auf (Abbildung 25)<sup>218-220</sup>.

Abbildung 25 zeigt Vertreter von piperazinhaltigen H<sub>3</sub>R-Antagonisten und deren Affinität zum humanen H<sub>3</sub>R (hH<sub>3</sub>R). A-304121 und das D-Prolin-Derivat zeigen den Versuch, piperazinhaltige H<sub>3</sub>R-Antagonisten mit Aminosäurestrukturen zu kombinieren, wobei nur moderate Rezeptoraffinitäten erreicht wurden<sup>212-214</sup>.

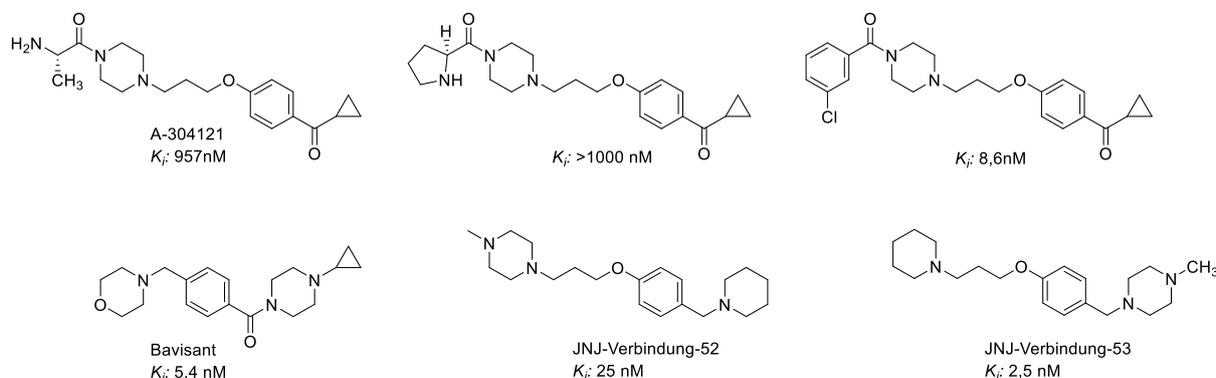


Abbildung 25: Piperazinhaltige H<sub>3</sub>R-Antagonisten mit hH<sub>3</sub>R-K<sub>i</sub>-Werten<sup>212-214</sup>

Die Übersicht zeigt, dass Variationen im Substitutionsmuster des Piperazins möglich sind. So wurde mit der Basizität der Amine im Piperazin experimentiert und sowohl tertiäre Amine als auch Amide mit guter H<sub>3</sub>R-Affinität erzeugt. H<sub>3</sub>R-Antagonisten, die Aminosäurestrukturen in die Piperazinmotive integrieren, wie es bei 2,5-Diketopiperazinen der Fall ist, sind ein neuer Syntheseansatz. Wie sich die Variation der Basizität im Falle der neuen MTDL auswirkt und welche Effekte davon ausgehen soll untersucht werden. Durch die Verschiebung von Amidbindungen von einer endo- zu einer exocyclisch Position wird dem Ringsystem ein höheres Maß an Flexibilität eingeräumt. Neben der Basizität kann so auch die Möglichkeit der räumlichen Ausrichtung und Beweglichkeit der Moleküle im Hinblick auf Ihre Effekte evaluiert werden. Die neugebildeten Strukturen variieren stärker in ihren Piperazinstruktur als in den Substituenten, sodass die Synthese nach ihnen ausgerichtet ist: 1.) Piperazin-2,5-dione, 2.)  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Piperazin-2,5-dione, 3.) Piperazin-2-one, 4.) C-substituierte Piperazine und 5.) N-substituierte Piperazine (Abbildung 26).

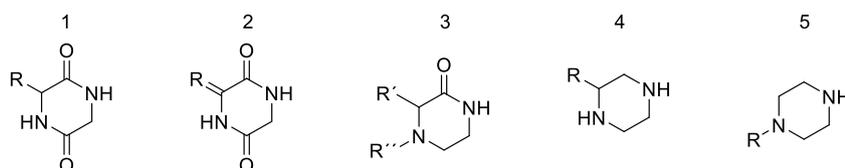


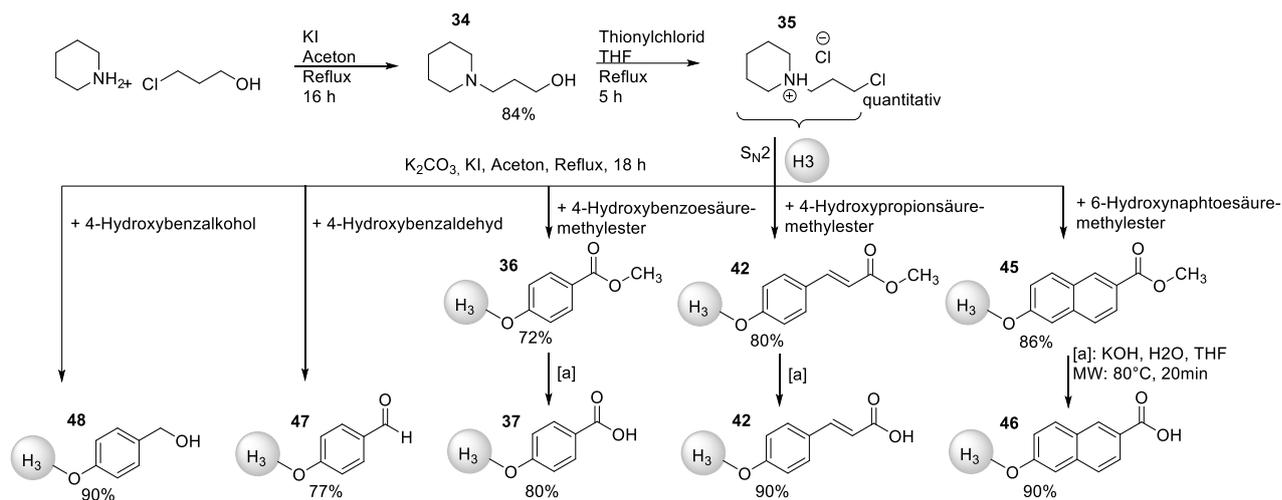
Abbildung 26: Grundkörper der Piperazinderivate

### 3.2 Synthese von Vorstufen mit H<sub>3</sub>R-Pharmakophor

Im Verlauf der Synthesen werden an verschiedenen Stellen wiederkehrende Molekülbausteine verwendet. Hinsichtlich einer effizienten Synthese erwies es sich als vorteilhaft, die nötigen Molekülmotive in großer Menge als Synthese-Bausteine im Vorhinein herzustellen.

Das Pharmakophor der H<sub>3</sub>R-Antagonisten (im Weiteren H<sub>3</sub>R-Pharmakophor) besteht aus einem Piperidinpropylrest, der über eine Etherstruktur an einen Aromaten gebunden ist. Die dafür notwendige phenolische Hydroxygruppe sollte dabei in *para*-Position zu weiteren Substituenten stehen. Um *para*-Hydroxybenzylverbindungen leicht in potenzielle H<sub>3</sub>R-Antagonisten umwandeln zu können, wurde Verbindung **35** synthetisiert (Schema 1). Als Halogenalkan steht diese Verbindung für *Williamson-Ethersynthesen* leicht darstellbar zur Verfügung<sup>221</sup>. Die Ethersynthese wurde in Aceton unter Rückfluss durchgeführt, Kaliumcarbonat diente als Base und Kaliumiodid als Katalysator, im Sinne eines *Finkelstein-Austauschs*<sup>222,223</sup>. Die Alkylierung ist einer nukleophilen Substitution der S<sub>N</sub>2-Klasse zuzuordnen.

Verbindung **35** wurde auch genutzt, um Vorstufen darzustellen, die bereits einen *para*-Hydroxyaromaten aufweisen. Für die Einführung dieser Bausteine bedurfte es verschiedener reaktiver Gruppen, um sowohl Alkylierungen, Acylierungen und andere Derivatisierungen durchführen zu können. Als H<sub>3</sub>R-Pharmakophorvorstufen wurden daher sowohl Alkohole, Aldehyde als auch Säuren verwendet. Dabei ist im Besonderen bei den organischen Säuren darauf zu achten, dass durch die Einführung einer basischen Gruppe eine Aminosäurestruktur entsteht. Diese kann sowohl hinderlich für den weiteren Reaktionsschritt sein als auch bei der Aufreinigung Probleme erzeugen. Um die Aufreinigung zu vereinfachen, wurde zunächst der Methylester gebildet. Diese Reaktion verlief unter den Bedingungen der *Fischer-Veresterung* nach einem S<sub>N</sub>2t-Mechanismus jeweils quantitativ. Die Veretherung mit Verbindung **35** lieferte in guter Ausbeute die jeweiligen 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxyphenyl-carbonsäuremethylester (Schema 1). Diese ließen sich durch wässrige Kaliumhydroxidlösung hydrolysieren. Der Einsatz der Mikrowelle konnte diesen Schritt sowohl beschleunigen als auch zum quantitativen Umsatz führen. Durch Zugabe von Salzsäure wurde der *pH*-Wert so weit erniedrigt, dass der isoelektrische Punkt der Verbindungen erreicht und diese als Zwitterion aus der wässrigen Lösung ausfiel und abfiltriert werden konnte. Durch Lösen in Dioxan und Zugabe weiterer Salzsäure wurden die Zwitterionen in Hydrochloridsalze überführt.



Schema 1: Synthese von H<sub>3</sub>-Pharmakophor-Vorstufen

In der Synthese der Zielverbindungen kann generell zwischen zwei Vorgehensweisen unterschieden werden. Die Verbindung kann sukzessiv Schritt für Schritt aufgebaut oder aus Vorstufenbausteinen zusammengesetzt werden. Die bausteinbasierte Synthese wurde aus folgenden Gründen präferiert:

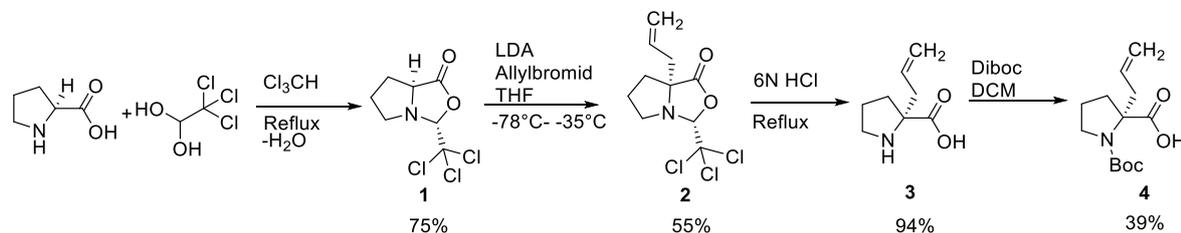
1. Die Vorstufen mit H<sub>3</sub>R-Pharmakophor ließen sich in guter Ausbeute synthetisieren und leicht aufzureinigen.
2. Andere Bausteine wurden über mehrstufige Syntheserouten hergestellt, an deren Ende wenig Substanz erhalten wurde. An den Aufbau einen mehrschrittigen Prozess zum Einbringen des H<sub>3</sub>R-Pharmakophors anzuschließen war ineffizient. Auch bei guten Reaktionsausbeuten muss bei jeder Aufreinigung mit Substanzverlust gerechnet werden, welcher umso mehr ins Gewicht fällt, je weniger Substanz eingesetzt wird.
3. Die Einführung von *para*-Hydroxyaromaten erfolgt häufig als nukleophile Substitution. Die gewählten Reaktionsbedingungen würden auch den Angriff der nukleophilen phenolischen Hydroxygruppe begünstigen, wodurch die Reaktionen in Konkurrenz zueinanderstehen würden. In vielen Fällen müsste diese Gruppe vor der Reaktion durch Schutzgruppen inaktiviert werden. Das Einbringen und Entfernen der Schutzgruppe stellen dabei zwei vermeidbare Reaktionsschritte dar.
4. Die Umsetzung von H<sub>3</sub>R-Pharmakophorbausteinen lieferte häufig eine schlechtere Ausbeute als für die jeweiligen Reaktionstypen erwartet wurde. Dennoch liegt die Gesamtausbeute am Ende mindestens auf dem Niveau der schrittweisen Umsetzung. Prozessausbeuten setzten sich nur anteilig fort, d.h. jeder weitere Schritt vermindert die Gesamtausbeute, selbst wenn eine hohe Ausbeute erreicht wird.

### 3.3 Synthese von 2,5-Diketopiperazinen

2,5-Diketopiperazine sind sogenannte trojanische Pferde (engl.: trojan horses). So werden Strukturelemente bezeichnet, die es ermöglichen, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden, da sie endogenen Substanzen ähnlich sind. Durch ihre Zusammensetzung aus zwei Aminosäuren werden die Diketopiperazine nicht als fremdartig erkannt und können leicht ins zentrale Nervensystem gelangen<sup>224</sup>. 2,5-Diketopiperazine sind Dipeptide, die durch eine intramolekulare Peptidbindung zyklisieren. Retrosynthetisch betrachtet ergibt sich damit ein Syntheseweg, der mit zwei Aminosäuren beginnt. Als mindestens bifunktionelles Molekül ist bei der Auswahl geeigneter Edukte auf eine jeweils passende Schutzgruppenwahl zu achten. Freie Amino- und freie Säurefunktionen führt zu einer unreaktiven zwitterionischen Salzform. Um eine Amidbildung selektiv zu erhalten und sowohl Produktgemische als auch Oligomere zu vermeiden, ist eine Aminosäure mit geschützter Aminofunktion und eine Aminosäure mit geschützter Säurefunktion nötig. In den meisten Fällen konnten die nötigen Aminosäuren kommerziell erworben werden. Teilweise war es nötig, Aminosäuren mit den passenden Gruppen zu schützen. Verwendung fanden enantiomerenreine Aminosäuren.

#### 3.3.1 Synthese von Aminosäurevorstufen

*N*-Boc- $\alpha$ -L-allylprolin **4** wurde in einer vierschriftigen Synthesesequenz aus L-Prolin hergestellt (Schema 2). Dabei wurde L-Prolin zunächst mit Chloralhydrat in Chloroform gekocht. Das entstehende Wasser wurde als Azeotrop mit Chloroform aus dem Reaktionsansatz destilliert und in einem Dean-Stark-Wasserabscheider vom Chloroformtyp gesammelt. Der Reaktionsfortschritt konnte anhand des Wasservolumens verfolgt werden. Durch das Entfernen von Wasser aus dem Reaktionsgemisch ließ sich das Gleichgewicht gut auf die Seite der Produkte verschieben, sodass eine Ausbeute von 75 % erhalten wurde.



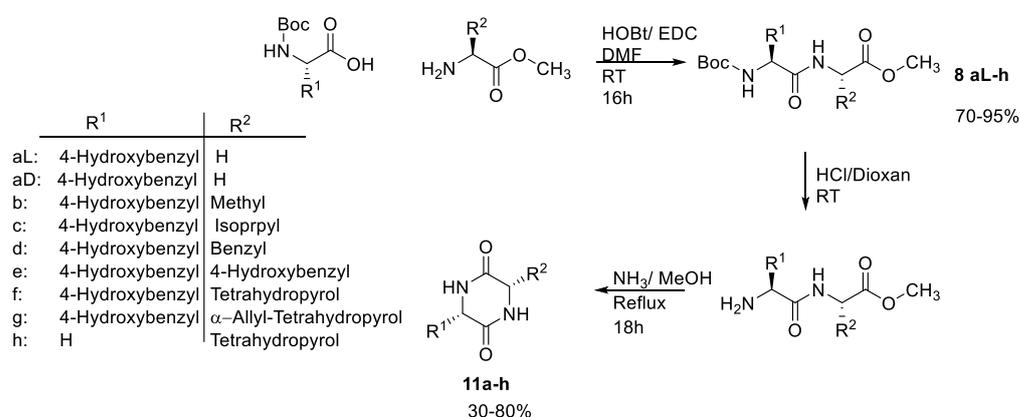
Schema 2: Synthese von *N*-Boc- $\alpha$ -L-allylprolin, Diboc: Di-*tert*-butyldicarbonat, LDA: Lithiumdiisopropylamid

Die Reaktion liefert ein cyclisches System, indem Prolin sterisch fixiert wird und der ehemalige  $\alpha$ -Wasserstoff (7a-Position Verbindung **1**[Schema 2]) deutlich an Acidität gewinnt. Diese reicht in einem zweiten Schritt aus, um das Ringsystem an dieser Stelle mit Lithiumdiisopropylamid (LDA) zu deprotonieren und anschließend mit Allylbromid zu alkylieren.

Aufgrund der hohen Reaktivität von LDA und der Labilität der deprotonierten Verbindung wurde die Reaktion bei tiefer Temperatur durchgeführt. Durch die sterische Fixierung kommt es, trotz der Möglichkeit zur Ausbildung einer planaren Enolform bei der Alkylierung nur in geringem Ausmaß zu einer Isomerisierung. Die Stellung des Wasserstoffs im Edukt und der Alkylgruppe im Produkt sind identisch. Wang und Germanas<sup>225</sup> konnten zeigen, dass sowohl die Abstraktion des Protons als auch die Alkylierung *cis*-ständig zur Trichlormethylgruppe ablaufen. Durch Kochen in saurer wässriger Lösung kommt es zu einer Hydrolyse des Lactons und zu einem Zerfall des Lactamrings. Dabei wird  $\alpha$ -L-Allylprolin freigesetzt. Dieses wurde für anschließende Synthesen mit di-*tert*-Butyloxybicarbonat (Diboc) in eine *N*-Boc geschützte Form umgewandelt.

### 3.3.2 Synthese von 2,5-Diketopiperazinen

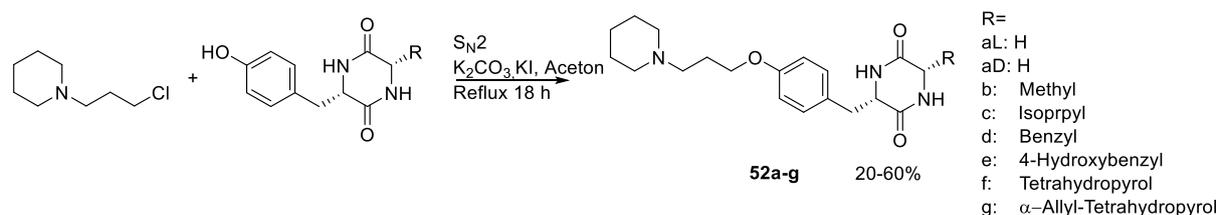
Zur Darstellung von 2,5-Diketopiperazinen aus Aminosäuren bedarf es einer amin- und einer carboxylsäuregeschützten Aminosäure. Die Synthese begann somit mit einer *N*-Boc-L-Aminosäure, und einem L-Aminosäuremethylester (Schema 3). Als reaktive Gruppen bleiben so jeweils ein primäres oder sekundäres Amin, sowie eine Carboxylsäurefunktion erhalten. Die Aktivierung der Carboxylsäure erfolgte über die beiden Kupplungsreagenzien Hydroxybenzotriazol (HOBt) und 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid (EDC). Dieses Paar an Kupplungsreagenzien wurde gewählt, da hierfür eine geringe Isomerisierung der Aminosäuren während der Amidbildung beschrieben ist<sup>226</sup>. Diese Isomerisierung ist bei *N*-terminal aufbauenden Peptidsynthesen mit anderen Aktivierungsreagenzien zu beobachten und wird im Kapitel „Stereochemische Betrachtung“ (3.3.3) weitergehend erklärt.



Schema 3: Synthese von Piperazin-2,5-dion

Die Dipeptidprodukte (**8a-h**) des ersten Reaktionsschrittes wurden durch Zugabe von Salzsäure im stark sauren Milieu entschützt. Die *tert*-Butyloxycarbonat-Schutzgruppe wurde dabei unter Freisetzung einer primären bzw. sekundären Aminofunktionalität entfernt. Basische Bedingungen (pH 9) und Erhitzen unter Rückfluss in verdünnter methanolischer Lösung führten zu einem intramolekularen Angriff desamins an den Carbonsäurester. Getrieben durch die Bildung eines stabilen Sechsrings reicht der leicht aktivierende Effekt des Methylesters, um das Diketopiperazin in sehr guten Ausbeuten von bis zu 80 % zu erhalten (**11a-h**). Die aus der Synthesesequenz entstehenden Piperazin-2,5-dione variieren hauptsächlich im östlichen Teil des Moleküls ( $R^2$  in Schema 3). Am westlichen Ende wurde durch die Wahl des Tyrosinmethylester eine substituierbare, phenolische Gruppe eingeführt. Die phenolische Hydroxygruppe steht in *para*-Position zur 3-Position des 2,5-Diketopiperazins. Dieser *para*-substituierte Aromat stellt dabei einen essenziellen Bestandteil des Pharmakophors für  $H_3R$ -Antagonisten dar. Um das Pharmakophor zu vervollständigen, wurde das Phenol in einer klassischen *Williamson-Ethersynthese* mit 1-(3-Chlorpropyl)piperidin **35** alkyliert.

Durch die Wahl von Aceton und Kaliumiodid kann die Reaktivität des Alkylchlorids erhöht



Schema 4: *Williamson-Ethersynthese* mit Finkelstein-Austausch

werden, indem das Chlor durch Iod ausgetauscht wird. Das in Aceton unlösliche Kaliumchlorid fällt aus, sodass nur katalytische Mengen von Kaliumiodid nötig sind. Durch die schlechte Löslichkeit der Diketopiperazine wurde häufig in stark verdünnten Lösungen gearbeitet. Dies führt zu schlechteren Ausbeuten, als man sie für diesen Reaktionstyp erwarten würde. Die schlechte Löslichkeit ist dabei lösungsmittelunabhängig.

Die schlechte Löslichkeit wird durch eine spezielle Anordnung der Moleküle erzeugt. Die Moleküle lagern sich übereinander (engl.: stacking) und bilden unlösliche Stapel. Fischer beschreibt, dass sich die Diketopiperazine in einer nahezu planaren Konformation befinden und durch die aromatische Substitution eine Dipol-induzierter-Dipol-Wechselwirkung zustande kommt<sup>227</sup>. Die Dipole der Carbonylgruppen induzieren dabei ein Dipol im polarisierbaren  $\pi$ -Elektronensystem des Aromaten. Abbildung 27 zeigt die verschiedenen 2,5-Diketopiperazine und deren räumliche Struktur. Aufgrund von einer Lactam-Lactim-Tautomerie im Glycinanhydrid kommt es zu einer planaren Konformation (vergl. 3.4).

Bei 2,5-Diketopiperazinen, die einen Phenylsubstituenten aufweisen, lagern sich die Strukturteile als Stapel (Abbildung 27) übereinander<sup>228</sup>.

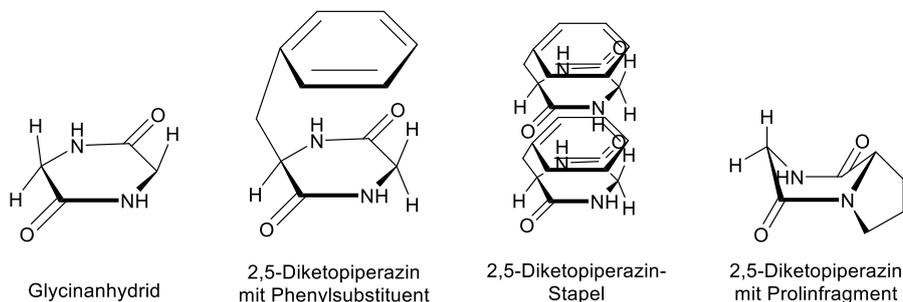


Abbildung 27: Räumliche Struktur verschiedener 2,5-Diketopiperazine nach Borthwick<sup>207</sup>

Diketopiperazine, die mit mindestens einer annilierten Prolinuntereinheit synthetisiert wurden, weisen hingegen eine andere Konformation auf, da der Pyrollidinring durch höhere Ringspannung stärker in eine planare Konformation strebt. Die Amide stehen dadurch stärker gewinkelt zueinander und die Ausbildung der schwerlöslichen Stapel bleibt aus, wodurch sich die Löslichkeit der Verbindung erhöht.

Die Zyklisierung zweier Aminosäuren mit anschließender Alkylierung der Hydroxygruppe des Tyrosins lieferte acht verschiedene 2,5-Diketopiperazine mit H<sub>3</sub>R-Pharmakophor **52a-g** (Abbildung 28). Wie in Abschnitt 3.3.3 beschrieben, konnte die Synthesen stereoselektiv mit Erhaltung der Konformation der Aminosäuren durchgeführt werden.

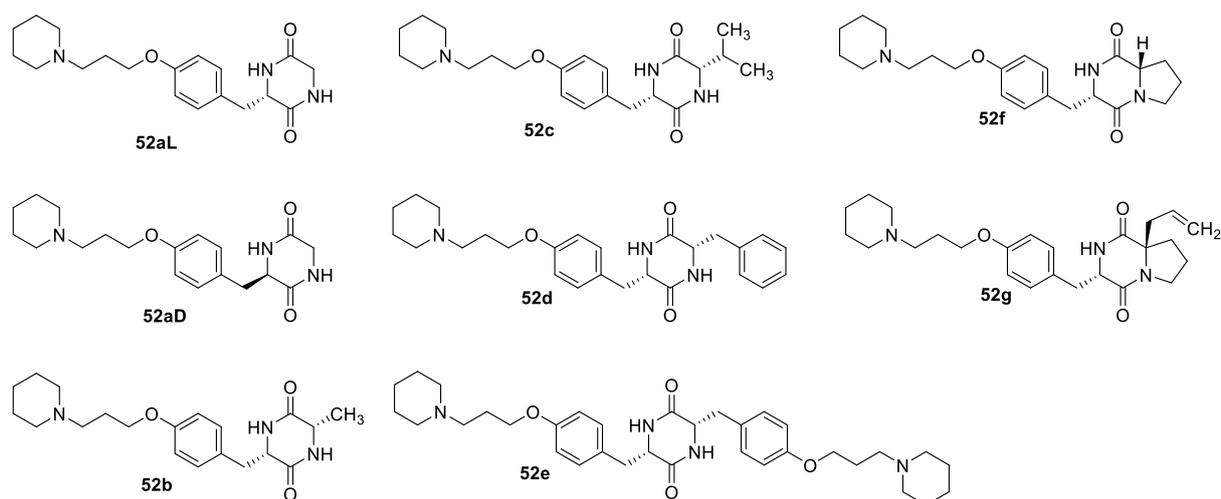


Abbildung 28: 2,5-Diketopiperazine mit H<sub>3</sub>R-Pharmakophorelement

### 3.3.3 Stereochemische Betrachtung der 2,5-Diketopiperazinsynthese

#### Theoretische Betrachtung

2,5-Diketopiperazine sind cyclische Dipeptide, also Verbindungen aus zwei Aminosäuren. Im Spezielleren wurden in der Synthese proteinogene  $\alpha$ -L-Aminosäuren verwendet. Die meisten dieser Verbindungen haben an ihrem  $\alpha$ -Kohlenstoffatom ein Stereozentrum. Ausgenommen davon ist Glycin, das am  $\alpha$ -C zwei Wasserstoffe gebunden hat. Die Stereozentren werden nach Cahn-Ingold-Prelog-Nomenklatur (CIP-Nomenklatur) mit *R* bzw. *S* und nach Fischer-Nomenklatur mit L und D beschrieben. Dabei werden die proteinogenen Aminosäuren nach als L-Form beschrieben, unabhängig davon wie die Nomenklatur nach CIP beschrieben wird. Für die Synthese wurden vorwiegend reine L-Aminosäuren verwendet, außer es wurde anderes beschrieben.

Aminosäuren neigen dazu, in gewissen Reaktionsabläufen zu isomerisieren. Durch Ausbildung von Enolatstrukturen der Carbonylverbindung, wird eine planare Doppelbindung zum  $\alpha$ -Kohlenstoff ausgebildet. Dadurch wird das Stereozentrum aufgehoben. Bei der Rückkehr zur Carbonylstruktur kann dann sowohl die L- oder D-Form ausgebildet werden (Abbildung 29). Das Gleichgewicht liegt unter neutralen Bedingungen überwiegend auf der Seite der Carbonylstruktur, da ein sehr instabiles Hydrat gebildet werden würde. Bei der *N*-aufbauenden Peptidsynthese kann diese Isomerisierung jedoch verstärkt auftreten. Durch die Möglichkeit, eine Enaminstruktur auszubilden und diese über einen Ringschluss zu stabilisieren, wird die Enolisierung bevorteilt.

Montalbetti et al.<sup>226</sup> beschreiben, dass ein 3-Hydroxy-oxazolone-Ring durch den Angriff des Enaminat-Sauerstoffs an der aktivierten Carbonsäurestruktur der „Nachbar-Aminosäure“ entsteht. Getrieben durch die Aromatisierung wird eine Enolstruktur ausgebildet, die zur Isomerisierung führt (Abbildung 29).

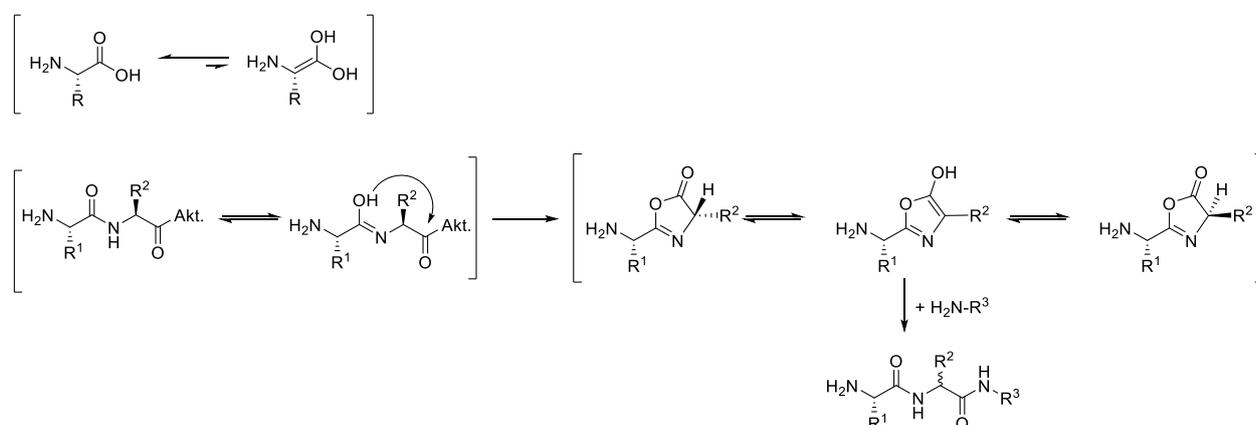
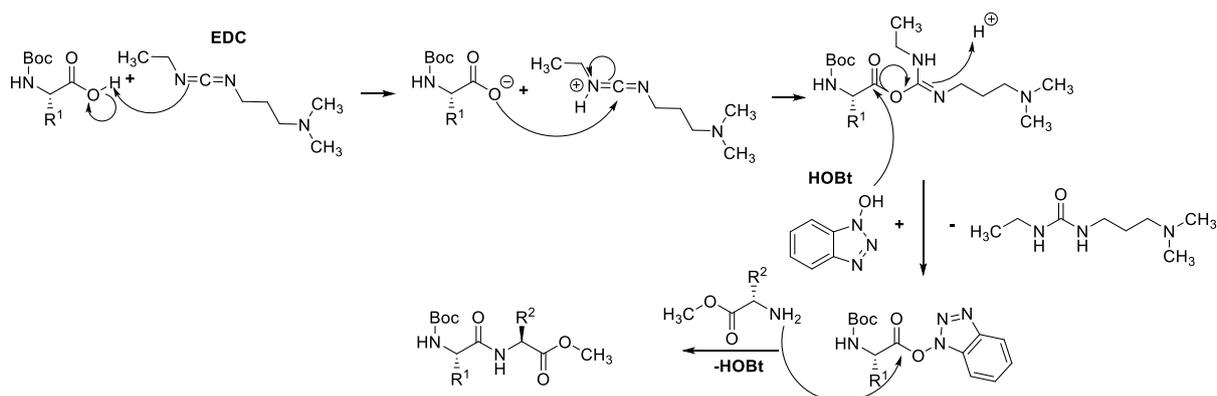


Abbildung 29: Isomerisierungen von Aminosäuren bei Peptidkopplungen

Die Isomersierung würde im Falle der 2,5-Diketopiperazine sowohl zu Enantiomeren als auch zu Diastereomeren führen. Diastereomere zeigen unterschiedliche physikochemische Eigenschaften und gelten als zwei unterschiedliche Verbindungen. Enantiomere sind Bild und Spiegelbild einer Verbindung. In chiraler Umgebung verhalten diese sich wie zwei Verbindungen und es werde biologische und physikochemische Unterschiede festgestellt. Als biologische Strukturen, die ebenfalls aus Aminosäuren aufgebaut sind, stellen Rezeptoren und Enzyme chirale Komponenten dar, durch die eine chirale Umgebung erzeugt wird. Bei Enantiomeren können so zwei unterschiedlich starke Effekte an der Zielstruktur erzeugt werden. Das Enantiomer mit dem stärkeren Effekt wird als Eutomer bezeichnet. Das Diastereomer ist damit die Verbindung mit schwächerem Effekt. Die Stereochemie der Verbindung kann also einen wichtigen Einfluss auf die Wirkstärke haben und ist zu untersuchen und charakterisieren.

### Praktische Durchführung

Durch die Verwendung von enantiomerenreinen Aminosäuren (Enantiomerenüberschuss 98 %), wurde bereits in der Syntheseplanung darauf geachtet, die Ausbildung von stereoisomeren Zielverbindungen zu verhindern. Die Art der Aktivierung der Carbonsäurefunktion kann im ersten Reaktionsschritt den Grad an Isomerisierung geringhalten. Die Kombination von 1-Ethyl-3-(3-diaminopropyl)carbodiimid (EDC) und Hydroxybenztriazol (HOBT) wird in der Literatur als sehr geeignet beschrieben, die Isomerisierung zu begrenzen<sup>226,229</sup> (Schema 5). Durch eine rasche Umsetzung der aktivierten Säure wird die Ausbildung eines Oxazolone-Rings verhindert.



Schema 5: Reaktionsmechanismus der EDC- und HOBT-vermittelten Amidbildung

Generell ist die Synthese des Dipeptids der weniger anfällige Schritt, da noch keine „Nachbaraminosäure“ im Peptid vorhanden ist. Der Ringschluss ist daraufhin betrachtet der Schritt, bei dem ein verstärktes Maß an Isomerisierung zu erwarten wäre. Die Aktivierung der Carbonsäure wurde dabei über einen Methylester realisiert, der durch eine geringe sterische Hinderung zu hohen Reaktionsausbeuten führt<sup>228</sup>.

Für die Ausbildung der intramolekularen Ringstruktur ist eine sterisch fixierte Ausrichtung des Dipeptids notwendig, sodass es in diesem Schritt nicht zur Isomerisierung kommen kann. Die Ausbildung von enantiomerenreinen Produkten ist die Folge und konnte mit Hilfe von Kristallstrukturen nachgewiesen werden<sup>228</sup>. Um die Stereochemie der Reaktionsschritte überprüfen zu können, wurden Verbindungen mit umgekehrten Stereozentren synthetisiert. Im Reaktionsverlauf wurde die spezifische Drehung bestimmt und zur Analyse der Stereochemie herangezogen. Um die Übersichtlichkeit der Reaktion zu erhalten, wurde ein 2,5-Diketopiperazin mit nur einem Stereozentrum synthetisiert.

Hierfür kommt nur die Kombination einer Aminosäure mit Glycin in Frage: gewählt wurden sowohl L- als auch D-Tyrosin, um eine Kombination mit dem H<sub>3</sub>R-Pharmakophor zu ermöglichen. So können auch die unterschiedlichen biologischen Effekte der späteren Verbindungen **52aL** und **52aD** (die Bezeichnung orientiert sich am gewählten Tyrosinenantiomer) untersucht werden.

Tabelle 6: Drehwerte von 2,5-Diketopiperazinen

Verbindung	L-Form $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ [°*ml*g <sup>-1</sup> *dm <sup>-1</sup> ]	D-Form $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ [°*ml*g <sup>-1</sup> *dm <sup>-1</sup> ]
Dipeptid <b>8a</b>	- 9,00	+ 8,67
2,5-Diketopiperazin <b>11a</b>	+60,00	-55,33
H <sub>3</sub> R-2,5-Diketopiperazin <b>52a</b>	+48,67	-49,00

Messbedingungen: Lösungsmittelgemisch: Methanol: 1N wässrige HCl-Lösung (9:1), Konzentration: 0,010 g/ml

Die absoluten Werte korrelieren nicht mit den Stereodeskriptoren, sodass ein negatives Vorzeichen nicht einer L-Form zuzuordnen ist. Im Vergleich der Verbindungen wird deutlich, dass sich die jeweiligen Enantiomere nur im Vorzeichen ihres Drehwerts unterscheiden. Das ist ein Hinweis darauf, dass sich die Stereozentren nicht verändern; ein absoluter Nachweis kann aber nur durch die Aufnahme von Röntgenkristallstrukturen erbracht werden. Eine vollständige Racemisierung kann ausgeschlossen werden, da dabei ein Drehwert von 0° ermittelt worden wäre. Die Untersuchung zeigt, dass eine Isomerisierung nicht oder nur in geringem Ausmaß während der Reaktion abläuft; die Reaktion ist damit stereoselektiv.

### 3.4 Synthese von $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen

Cornacchia et al.<sup>215</sup> beschreibt, dass der neuroprotektive Effekt von 2,5-Diketopiperazinen durch die Einführung ungesättigter Strukturelemente erhöht werden kann. In der Leitstruktur NNZ-2591 und in der Zielverbindung **52g** wird dies durch eine Doppelbindung in  $\gamma, \delta$ -Position eingeführt. Der Effekt lässt sich nach Cornacchia auch durch eine Doppelbindung in  $\alpha, \beta$ -Position erzielen. Um diese Doppelbindung in das 2,5-Diketopiperazin einzubringen, musste eine neue Synthesestrategie gewählt werden.

Glycinanhydrid wurde dafür in Acetanhydrid unter Rückfluss gekocht, um die Amide durch eine Acetylsubstitution in Imide umzuwandeln. Dieser Schritt ist nötig, um die Lactam-Lactim-Tautomerie zu unterdrücken und die Lacton-Lactim-Tautomerie zu verstärken. Wie Abbildung 30 zeigt, steht das Glycinanhydrid als Lactim einer Aldolreaktion nicht zur Verfügung<sup>230</sup>. Die Ausbildung der Lactimstruktur wird durch die Acetylierung der Amide unterbunden<sup>231</sup> (Abbildung 30). Die Ausbildung der Lactimstruktur wird durch Basenzusatz verstärkt.

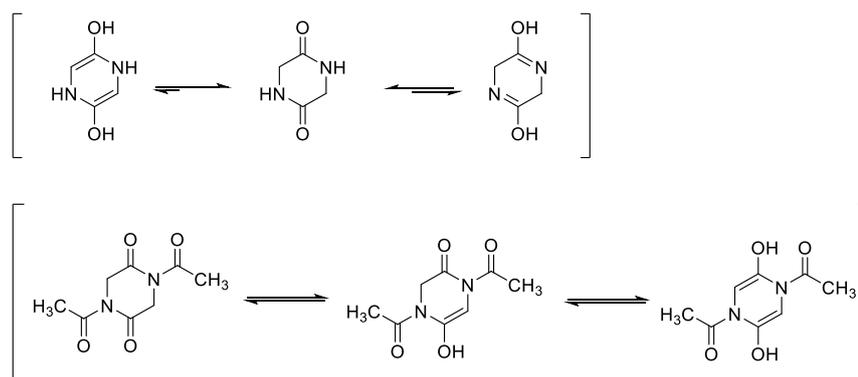
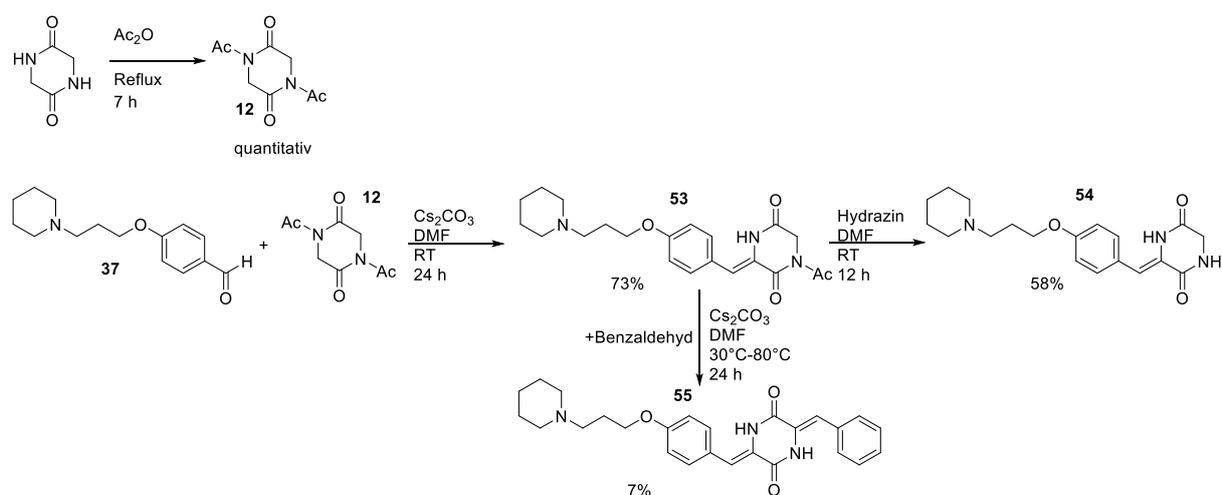


Abbildung 30: Tautomere Formen des Glycinanhydrids und des 1,4-Diacetylglycinanhydrids

Die Lactimstruktur wird an der enolischen Hydroxygruppe durch Cäsiumcarbonat ( $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ) deprotoniert, die hohe Elektronendichte am  $\alpha$ -Kohlenstoff führt zum nukleophilen Angriff an das Aldehyd. 1,4-Diacetylpiperazin-2,5-dion **12** wird in einer *Aldolreaktion* mit Aldehyden zu einer  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Verbindung umgesetzt. Im ersten Schritt wurde Verbindung **12** zusammen mit Cäsiumcarbonat in DMF unter Stickstoff gerührt. Der Ausschluss von Sauerstoff war nötig, um die Oxidation der deprotonierten Verbindung und des Aldehyds in Gegenwart von  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  zu verhindern<sup>232</sup>. Anschließend wurde das entsprechende Aldehyd zum Reaktionsansatz gegeben. Als Aldehyde wurden Benzaldehyd oder 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzaldehyd **47** verwendet. Die Ausbeute der *Aldolkondensation* ist maßgeblich von der Art des verwendeten Aldehyds abhängig. Elektronenziehende Substituenten erhöhen dabei die partielle positive Ladung des Carbonylkohlenstoff des Aldehyds und aktivieren diesen damit für die Kondensationsreaktion.

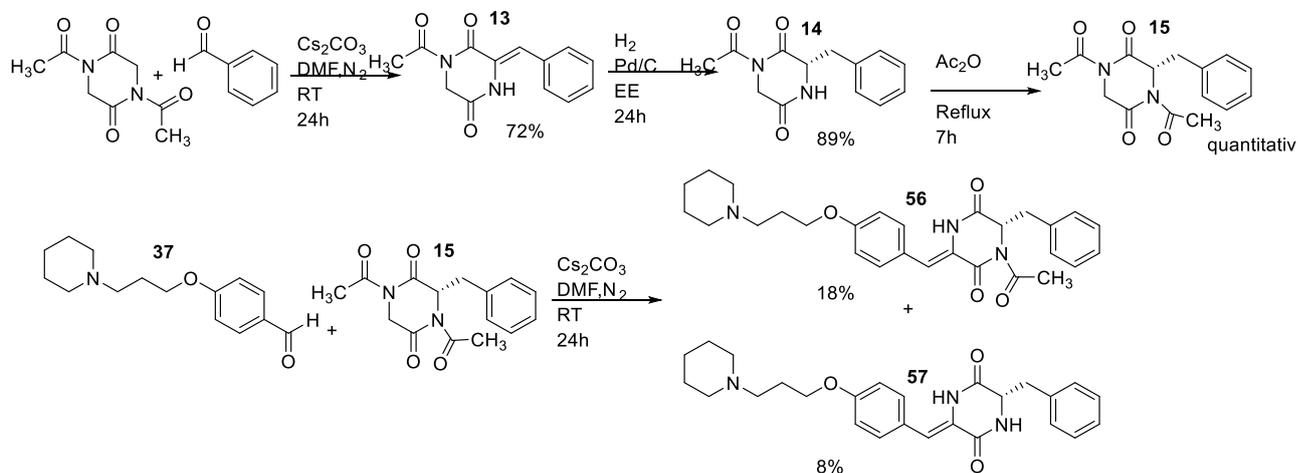
Beim Einsatz von *para*-Oxy-Benzaldehyden wird die Reaktivität des Aldehydfunktion durch einen positiven mesomeren Effekt stark vermindert. Der Versuch, Verbindung **12** zunächst mit 4-Hydroxybenzaldehyd umzusetzen, lieferte keine zufriedenstellende Ausbeute. Um etwaige Nebenreaktionen der sauren Hydroxygruppe zu unterbinden, wurde daher Verbindung **47** für die Reaktion verwendet. Es konnten sehr gute Ausbeuten von 73 % erzielt werden, da das Aldolprodukt aus dem Reaktionsansatz teilweise ausfiel und damit dem Reaktionsgleichgewicht entzogen wurde. Durch Zugabe von Eiswasser zum Reaktionsende wurde das Produkt vollständig gefällt. Das erhaltenen Produkt **53** wurde zum einen deacetyliert, zum anderen wurde es in einer zweiten Aldolkondensation weiter umgesetzt (Schema 6).

Während der Reaktion wird die Acetylgruppe an einem der Amide abgespalten. Dabei handelt es sich nach übereinstimmender Literaturmeinung um die Acetylgruppe des Amids, welche dem  $\alpha$ -C benachbart ist<sup>231-233</sup>. Die Gründe hierfür liegen im Reaktionsmechanismus, der auch verantwortlich für die stereochemische Ausrichtung der Substituenten ist (Schema 8). Die Entfernung der zweiten Acetylgruppe stellt dabei eine unerwartet große Herausforderung dar. Die Acetylgruppe ist isoliert betrachtet ein Amid, welches gepalten werden soll, ohne aber die anderen Amide zu beeinflussen. Durch Rühren der Verbindung bei Raumtemperatur in DMF und Zugabe von drei Äquivalenten Hydrazin konnte diese regioselektive Spaltung erreicht werden. Hydrolytische Bedingungen, wie wässrige basische Lösungen in Kombination mit oder ohne Wärmezufuhr, führten zur Hydrolyse der Verbindung. Die Hydrazinolyse verlief mit moderater Ausbeute von 58 %. Unter Erhaltung der 2,5-Diketopiperazin-Struktur konnte Verbindung **55** als Niederschlag aus dem Reaktionsansatz abfiltriert werden.



Schema 6: Synthese von Verbindung **12** und **53-55**

Neben der Deacetylierung von Verbindung **53** sollte eine weitere *Aldolkondensation* angeschlossen werden (Schema 6). Analog zur Synthese von Verbindung **53**, wurde Verbindung **53** in DMF mit  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre gelöst und Benzaldehyd zugegeben. Der Ansatz wurde über zwei Stunden auf  $85^\circ\text{C}$  erhitzt. Die Erhöhung der Temperatur soll dabei nach Palladino et al.<sup>233</sup> langsam erfolgen, um die Bildung von *E*-Isomeren kontrolliert zu vermeiden. Die Temperaturerhöhung ist notwendig, um die Reaktionsträgheit der Reaktionspartner zu überwinden und Reaktionsprodukt zu erhalten. Die Ausbeute für Verbindung **55** konnte jedoch nicht weiter als auf ca. 6 % erhöht werden. Eine Umkehr der Reaktionsschritte, also einer ersten Aldolkondensation mit Benzaldehyd, gefolgt von einer zweiten Kondensation mit Verbindung **47**, liefert hingegen kein Produkt.



Schema 7: Synthese von Verbindung **14**, **15**, **56** und **57**

Wie auch durch Yamazaki et al.<sup>232</sup> beschrieben, verläuft der erste Reaktionsschritt mit guten Ausbeuten von 70 % (vergl. Verbindung **13** Schema 7). Der zweite Reaktionsschritt liefert dann jedoch mit einem desaktivierten Aldehyd kein isolierbares Produkt. Verbindung **13** wurde genutzt, um ein einfach ungesättigtes Derivat von Verbindungen **54** und **55** darzustellen. Hierfür wurde die C=C-Doppelbindung von Verbindung **13** zunächst mit Wasserstoff und Palladium auf Kohle (Pd/C) als Katalysator reduziert. Durch die Verwendung von Pd/C wurde eine stereoselektive *cis*-Reduktion durchgeführt, wie sie von Oba et al. aufgeklärt werden konnte; andere Reduktionsmittel würden nicht selektiv zu einem Racemat führen<sup>234</sup>. Das erhaltene monoacetylierte Produkt **14** wurde erneut in Essigsäureanhydrid gekocht und die diacetylierte Verbindung **15** erhalten. Analog zur Verbindung **53** wurde diese mit Verbindung **37** in einer *Aldolkondensation* umgesetzt. Aus diesem Reaktionsansatz konnte sowohl das monoacetylierte Produkt **56** als auch das vollständig deacetylierte Produkt **57** isoliert werden (Schema 7).

Die spezifischen Drehwerte der Verbindungen bestätigen die Annahme, dass die Reduktion der Doppelbindung stereoselektiv abläuft (vergl. 7.3.2.2)

Das Produkt der Aldolkondensation kann zudem prinzipiell als *E*- oder *Z*-Isomer vorliegen. Aufgrund der Art der Edukte ist hier jedoch von einer stereoselektiven Reaktion auszugehen, die nur bzw. im großen Überschuss das *Z*-Isomer liefert. In der acetylierten Form wird die Lactimstruktur des Ringssystems durch Wasserstoffbrücken bevorzugt. Die gesamte Struktur liegt damit in einer Ebene (Abbildung 31).

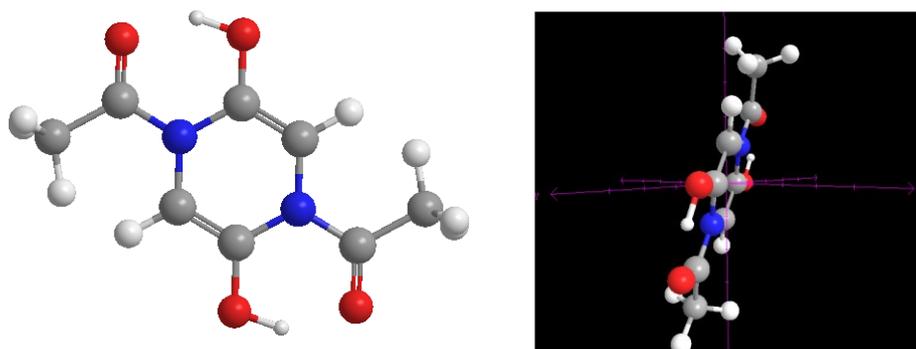
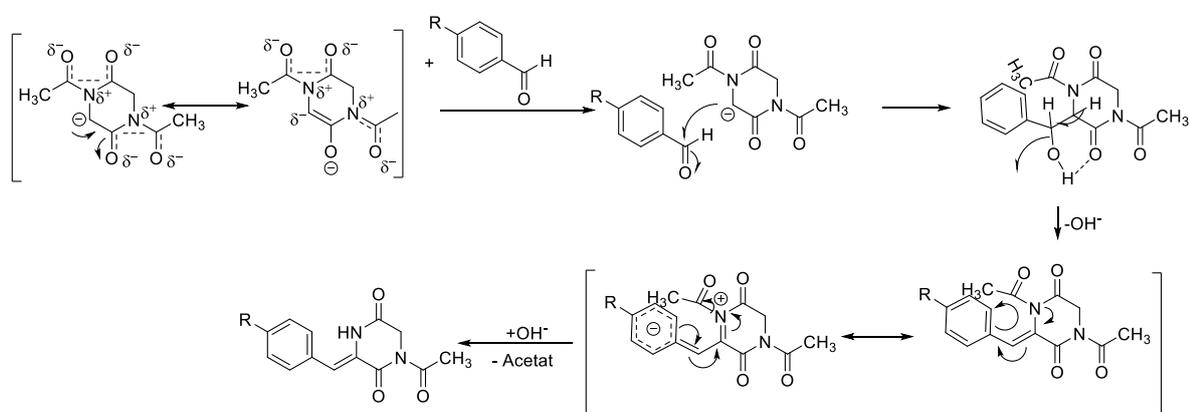


Abbildung 31: *N,N*-Diacetylglycinanhydrid Strukturdarstellung mit Chem3D

Dieser anchimere Effekt (Nachbargruppeneffekt) führt zur Aktivierung der  $\alpha$ -Kohlenstoffe und dirigiert die eintretende Gruppe<sup>228</sup>. Die Methylgruppe des Acetats blockiert sterisch die Region um den Imidstickstoff. Die Carbonylgruppe des Aldehyds muss sich somit auf die andere Seite hin ausrichten. Zudem wird diese Ausrichtung durch eine Wasserstoffbrücke gefördert, die sich beim Angriff an das Aldehyd bildet. Im ersten Schritt der Knoevenagelkondensation erfolgt der Angriff am Carbonylkohlenstoff. Unter Bildung einer neuen C-C-Bindung wird die überschüssige Ladung auf den Carbonylsauerstoff übertragen, der dabei eine Hydroxygruppe ausbildet. Diese bildet dann eine Wasserstoffbrücke zum Carbonyl der zweiten Imidstruktur aus. Durch Elimination von Wasser wird eine *Z*-konfigurierte Doppelbindung ausgebildet (Schema 8).



Schema 8: Vorgeschlagener Reaktionsmechanismus der Aldol-Kondensation

Die *Z*-Konfiguration der Verbindungen konnte durch die Aufnahme eines ROESY (Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy)  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums belegt werden (Abbildung 32). ROESY-Spektren ermöglichen es, Kopplungen von räumlich benachbarten Protonen zu ermitteln.

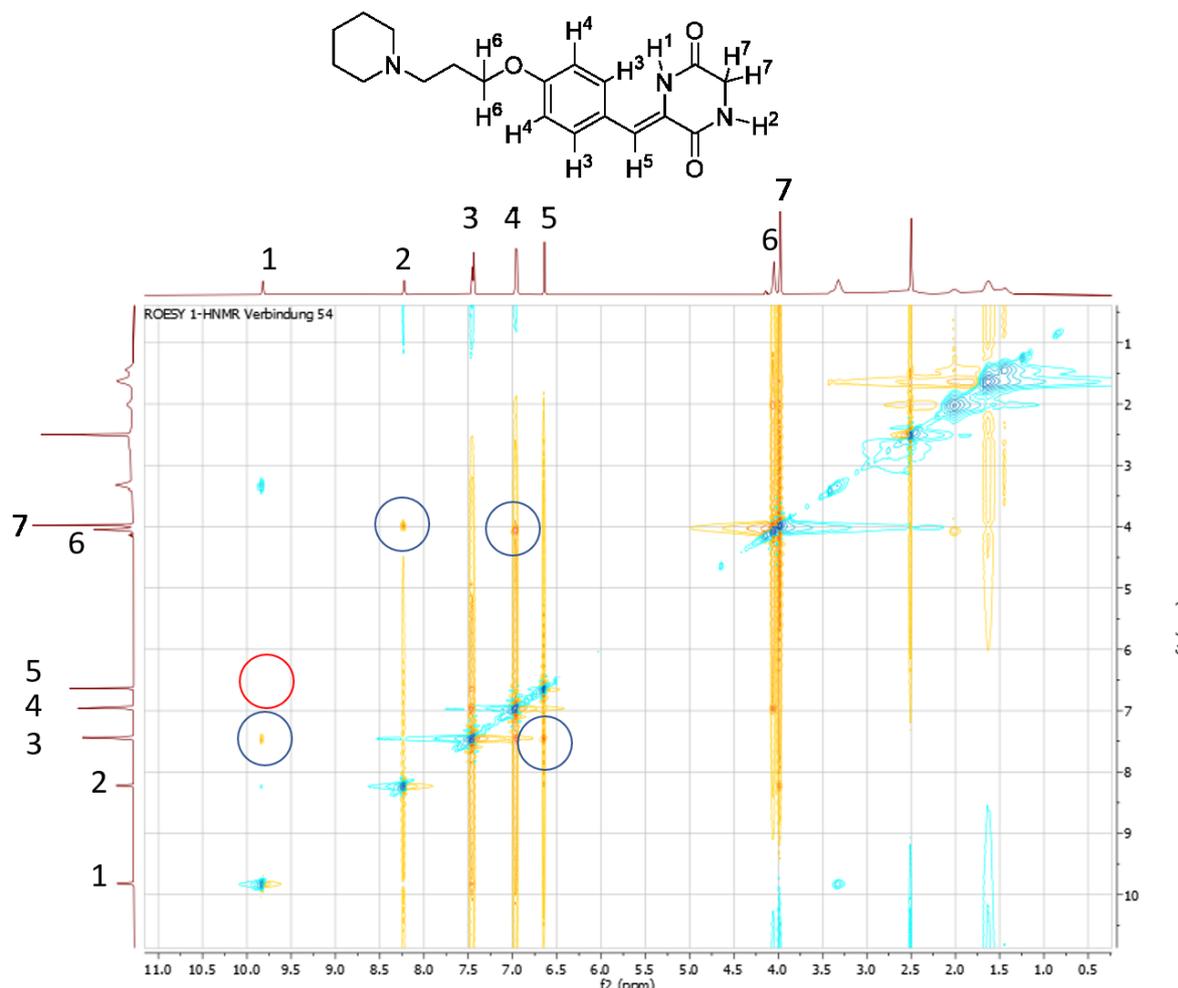


Abbildung 32: ROESY- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung 54, 600MHz,  $\text{DMSO-d}_6$

Wie Abbildung 32 zeigt, kommt es zu einer Kopplung vom Amid-Proton  $\text{H}^1$  mit dem Phenylring-Protonen  $\text{H}^3$ . Eine Kopplung des Alken-Protons  $\text{H}^5$  mit dem Amidproton  $\text{H}^1$  ist nicht zu beobachten (siehe roter Kreis in Abbildung 32). Durch die Aufklärung der räumlichen Nachbarschaft kann gezeigt werden, dass der Phenylring und nicht das Alken-Proton in Richtung des Amids stehen. Hieraus ergibt sich, dass die Reaktion stereospezifisch zur *Z*-Konfiguration führt.

Das Alken-Proton  $\text{H}^5$  koppelt mit den Phenyl-Protonen  $\text{H}^3$  und die  $\text{CH}_2$ -Gruppe ( $\text{H}^6$ ) des Ethers mit den Phenylprotonen  $\text{H}^4$ , sodass die Zuordnung der zwei Signale zu den zwei Phenyl-Protonen-Paaren bestätigt werden kann.

Eine Kopplung des zweiten Amids  $\text{H}^2$  mit der  $\text{CH}_2$ -Gruppe des Diketopiperzainrings  $\text{H}^7$  belegt die Zuordnung der beiden Amid-Proton-Signale.

### 3.5 Synthese von 2-Ketopiperazinen

Die beiden Amide in 2,5-Diketopiperazinen haben einen großen Einfluss auf die stereochemischen und physikochemischen Eigenschaften der Verbindungen. Um diesen Einfluss auf die biologische Aktivität evaluieren zu können, war das Ziel, Verbindungen zu synthetisieren, in denen ein oder beide Amide verändert wurden. Mit dem Wissen, dass eine zweite basische Gruppe die Affinität zum H<sub>3</sub>R erhöht, wurden die Amide zu Aminen reduziert. Das Amin konnte dabei als zusätzlicher Angriffspunkt für Derivatisierungen genutzt werden. Eine regioselektive Reduktion eines Amids mit Erhaltung des anderen ist kaum möglich, sodass der 2-Ketopiperazin Grundkörper über einen separaten Syntheseweg dargestellt wurden. Analog zu den 2,5-Diketopiperazinen wurden dabei zwei verschiedene Grundkörper synthetisiert. Zum einen in Anlehnung an das Glycinanhydrid das Piperazin-2-on Element, zum anderen analog zu **52f, g** und NNZ-2591 das (*S*)-Hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazinon

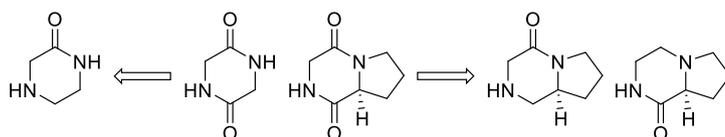
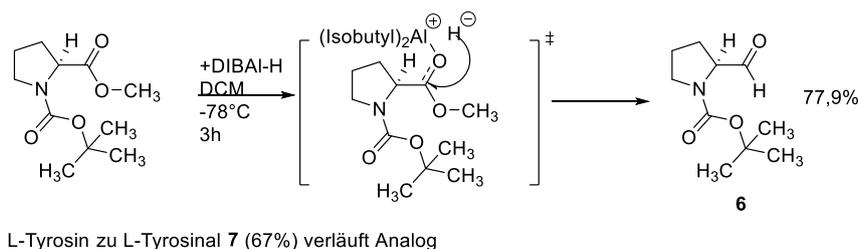


Abbildung 33: Abwandlungen von 2,5-Diketopiperazinen zu 2-Ketopiperazinen

#### 3.5.1 Synthese von (*S*)-Hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazinon-Derivaten

Für die Synthese der Verbindungen mit Prolinfragment wurden Aminoaldehyde benötigt. Diese sind über eine Oxidation von Aminoalkoholen oder die Reduktion von Aminosäuren zugänglich. Die gute Verfügbarkeit von enantiomerenreinen L-Aminosäuren war ausschlaggebend für die Wahl des reduktiven Synthesewegs. Um die Reduktion kontrolliert auf der Stufe der Aldehyde zu stoppen, wurde Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL-H) eingesetzt. Stärkere Reduktionsmittel wie etwa Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH<sub>4</sub>) würden den Ester quantitativ bis auf die Stufe des Alkohols reduzieren. Weitere Vorteile von DIBAL-H sind die Stereo- und Regioselektivität<sup>235,236</sup>. Boc-geschützte Aminosäuremethylester werden regioselektiv am Methylester reduziert und behalten dabei die Konformation ihrer Stereozentrums. Unter sauren Bedingungen wird andernfalls eine verstärkte, unerwünschte Isomerisierung der Produkte beobachtet. Für die Reduktion wurden *N*-Boc-L-Aminosäuremethylester verwendet, die vorteilhaft aus Vorstufen hergestellt werden konnten.

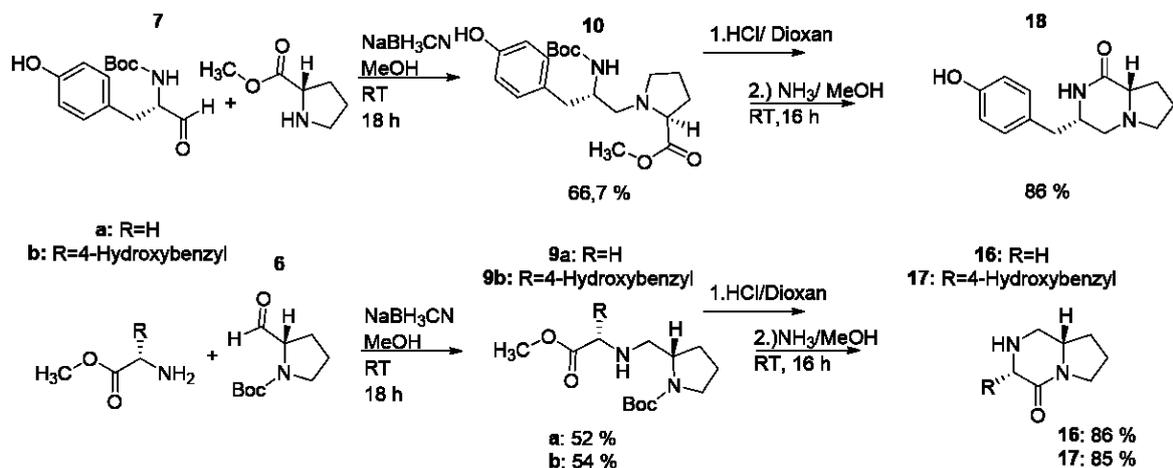
Freie Säuregruppen wurden mittels *Fischer-Veresterung* in Methanol mit Schwefelsäure zu Methylestern umgesetzt. Freie Aminofunktionen wurden mit di-*tert*-Butyloxybiscarbonat geschützt. Da der Hexahydropyrrolo[1,2]pyrazinon-Grundkörper nicht symmetrisch ist, wurden sowohl das L-Prolinal **6** als auch das L-Tyrosinal **7** benötigt, um jeweils eine der Amidfunktionen in Amine umzuwandeln. DIBAL-H diente in der Reaktion sowohl als Hydridquelle als auch als Lewisäure-Katalysator (Schema 9).



Schema 9: Reduktion von Prolin zu Prolinal

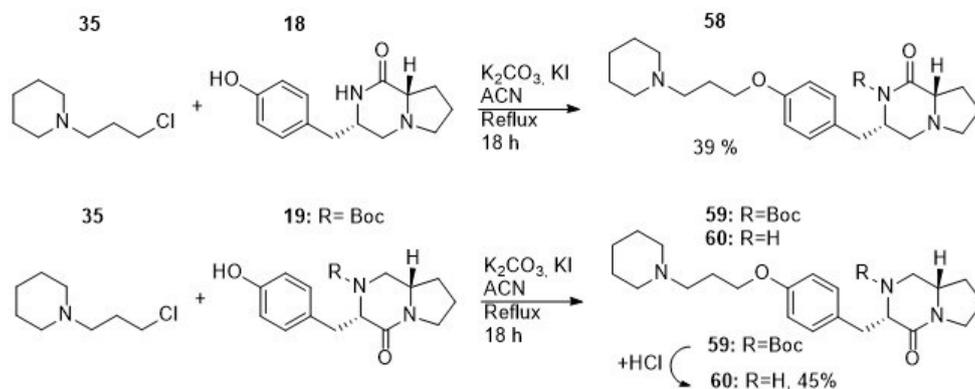
Aufgrund der Isobutylgruppen ist DIBAL-H sterisch anspruchsvoll und kann zur regioselektiven Reduktion eingesetzt werden. Das Carbamat der Schutzgruppe bleibt daher bei der Reaktion unberührt. Die Elektronenpaarakzeptor-Eigenschaften unterdrücken die Ausbildung einer Enolstruktur, die darauf basierende Isomerisierung des Stereozentrums bleibt aus und das Aldehyd behält die Konformation der Aminosäure bei. Die Kühlung des Reaktionsansatzes auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  ist entscheidend für die selektive Reduktion zum Aldehyd. Ducry et. al konnten zeigen, dass mit steigender Temperatur der Anteil an Aldehyd sukzessiv abnimmt und die Menge an Alkohol steigt<sup>237</sup>. Die Aufarbeitung der Reaktion lieferte, bedingt durch die Aluminiumionen, einige Schwierigkeiten. Die Inaktivierung des Reduktionsmittels verlief bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Beim anschließenden Erwärmen der Reaktion, kam es aluminiumionenbedingt zu einer Gelierung der Lösung. Der Zusatz einer 10 %-Lösung von Rochelle Salz (Na-K-Tatrat) diente zum einen zur Pufferung des *pH*-Wertes, zum anderen wurden dadurch die Aluminiumionen komplexiert. Nach 15 Minuten konnte so das Gel vollständig aufgelöst werden. Die Reaktion lieferte gute Ausbeuten von 67-78 %. Der erhaltene L-Aminoaldehyd wurde in einer reduktiven Aminierung mit einem  $\alpha$ -L-Aminosäuremethylester umgesetzt und eine zu den Dipeptiden analoge Verbindung erhalten. Es wurden L-Prolin- und L-Tyrosinmethylester verwendet und jeweils L-Prolinal **6** und L-Tyrosinal **7** gekreuzt eingesetzt, um die Carbonylgruppe sowohl in Position 1 als auch 4 (veränderte Zählweise gegenüber 2,5-Piperazindion, da Pyrazin als Grundkörper betrachtet wird) einzuführen. Durch die Verwendung von L-Tyrosin bzw. L-Tyrosinal wurde der für die weitere Derivatisierung benötigte Phenolbaustein eingebracht.

Neben L-Tyrosin wurde Glycin als Aminosäurekomponente gewählt und das H<sub>3</sub>R-Pharmakophor wurde über eine N-Alkylierung eingebracht, um Unterschiede zwischen C- und N-Substitution feststellen zu können.



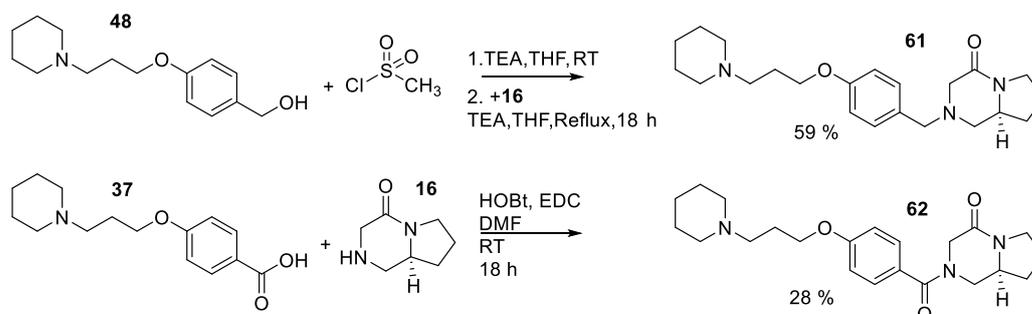
Schema 10: Synthese von Verbindung **9a**, **9b**, **10** und **16-17**

Die „Aminomethylcarbonyl“-Verbindungen **9a**, **9b** und **10** wurden entschützt und in basischer Umgebung zyklisiert, indem das freie Amin intramolekular den Methylester angreift und ein Amid ausbildet (Schema 10). Nur Verbindung **17** konnte ohne weitere Zwischenschritte in eine Verbindung mit H<sub>3</sub>R-Antagonistenpharmakophor überführt werden. Die Umsetzung erfolgte mit 1-(3-Chlorpropyl)piperidin **35** in Aceton als *Williamson-Ethersynthese* mit *Finkestein-Austausch* (vergl. Synthese von 2,5-Diketopiperazine) und lieferte Verbindung **58** (Schema 11). Zur Synthese von Verbindung **60** musste zunächst das Amin in 2-Position durch eine Boc-Gruppe geschützt werden. Die geschützte Verbindung **19** wurde analog zu Verbindung **17** alkyliert. Im Anschluss wurde die Schutzgruppe im Säuren entfernt. Das H<sub>3</sub>R-Pharmakophor ist hier C-C verknüpft, das Amin von Verbindung **60** ist ein sekundäres Amin.



Schema 11: Synthese von Verbindung **58** und **60**

Verbindung **16** (Schema 12) diene als Ausgangspunkt zweier weiterer Verbindungen, die über eine C-N-Bindung, also über das Amin, mit dem H<sub>3</sub>R-Pharmakophor verknüpft sind. Dazu wurden zunächst *para*-Hydroxybenzoesäure und *para*-Hydroxybenzalkohol mit Verbindung **35** alkyliert. Die so erhaltenen Vorstufen **37** und **48** wurden aktiviert und als Elektrophile mit Verbindung **16** als Nukleophil umgesetzt.



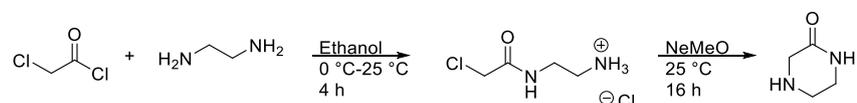
Schema 12: Synthese von Verbindung **61** und **62**

Verbindung **61** und **62** stellen die logische Verknüpfung zwischen den Diketopiperazinen, C-substituierten Monoketopiperazinen und N-substituierten Monoketopiperazinen, sowohl in den Gruppen als auch zwischen den Gruppen dar. Verbindung **62** ist wie Verbindung **52f**, mit Betrachtung der Piperazinstickstoffen, ein Piperazindiamid, Die Basenstärke der Piperazinelemente ist vergleichbar gering bzw. in beiden Fällen nicht vorhanden. Die räumliche Flexibilität unterscheidet sich jedoch deutlich, da das zweite Amid nun exocyclisch liegt, und nicht im Ringsystem eingespannt ist. Durch Verbindung **61** wird in der Reihe vom 2,5-Diketopiperazin **52f** und dem 2-Monoketopiperazin **60** der Einfluss der Basenstärke untersuchbar. Verbindung **61** ist ein tertiäres Amin mit einem  $pK_b$ -Wert, der zwischen dem vom Amid **62** und dem sekundären Amin **60** liegt. Die sterische Flexibilität der Verbindungen **58**, **60** und **61** wird gegenüber Verbindung **62** erneut erhöht. Um die intramolekulare Beweglichkeit weiter erhöhen zu können, wurden 2-Monoketopiperazine ohne anelliertes Cyclopentan synthetisiert. Das so reduzierte Gerüst beschreibt ein Piperazin-2-on.

Die Auswertung der spezifischen Drehwerte von Verbindung **61** und **62** ergibt, dass die Substanzen nicht als Racemat vorliegen; bei nur einem Stereozentrum spricht das für eine stereospezifische Reaktion. Die reduktive Aminierung läuft unter Retention des Stereozentrums ab<sup>238,239</sup>. Der Ringschluss muss daher eine Retention oder Inversion des Stereozentrums liefern. Die spezifischen Drehwerte von Verbindung **58** und **60** legen nahe, dass auch diese mit definierten Stereozentren vorliegen.

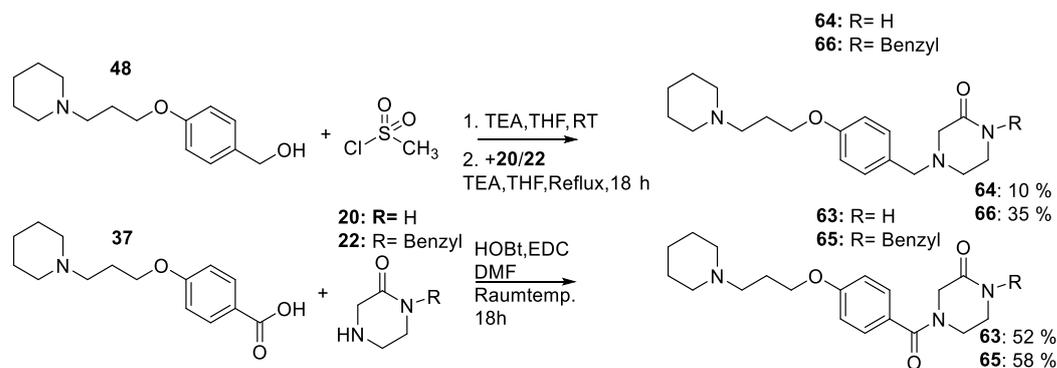
### 3.5.2 Synthese von Piperazin-2-on-Derivaten

Aufgrund der Symmetrie vom Piperazin-2-on gibt es keinen Unterschied bezüglich der 2- und 4-Position, wie sie bei den prolinhaltigen Verbindungen auftritt. Der Grundkörper wurde aus einer Ethylendiamin und Chloracetylchlorid dargestellt.



Schema 13: Synthese von 2-Ketopiperazin

Der zweischrittige Prozess wurde als eine Eintopfsynthese durchgeführt. Zunächst wurde ein Amid aus einem Amin des Ethylendiamins und dem Säurechlorid erzeugt. Die entstehende Salzsäure wurde vom zweiten Amin des Ethylendiamins abgefangen. Das dadurch protonierte Amin steht dadurch für eine Acylierung nicht zur Verfügung. Auf diese Weise wird eine zweiseitige Amidbildung verhindert. Nach Abschluss der Reaktion wird das intermediäre 2-(2-Chloracetamido)-ethylammonium-Chlorid (Schema 13) durch die Zugabe von Natriummethanolat deprotoniert. Das freigesetzte Amin substituiert dann als Nukleophil die Chlor-Abgangsgruppe. Getrieben durch die Bildung eines stabilen Sechsrings wird keine Zufuhr von Wärme benötigt, sodass eine Hydrolyse des Amids durch das Methanolat unterbunden werden kann. 2-Ketopiperazin **20** wurde zur Vergleichbarkeit mit 2,5-Diketopiperazin **52d** am Amid mit einer Benzylgruppe substituiert. Das Amin wurde dafür mit einer basenstabilen Boc-Schutzgruppe versehen. Die so erhaltenen Verbindung **21** wurde in THF gelöst, mit Natriumhydrid deprotoniert und durch Zugabe von Benzylbromid alkyliert. Durch Zugabe von Tetrabutylammoniumbromid als Charge-Transfer-Katalysator konnte eine gute Ausbeute von 62 % erzielt werden, da das deprotonierte Edukt teilweise in THF ausfiel. Unter sauren Bedingungen wurde die Schutzgruppe entfernt und 1-Benzylpiperazin-2-on **22** erhalten. Verbindungen **20** und **22** wurden jeweils mit Verbindung **37** und **48** umgesetzt und vier Zielverbindungen **63-66** dargestellt (Schema 14).



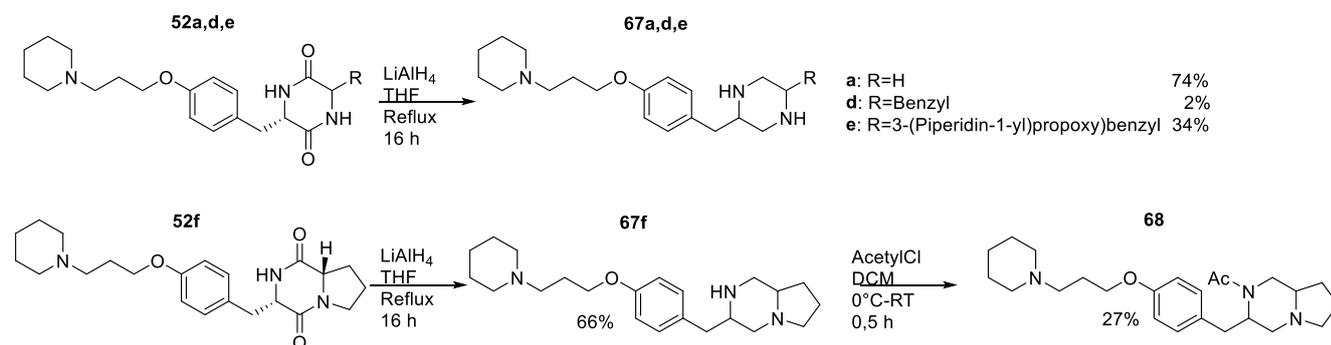
Schema 14: Synthese von Verbindung **63-66**

### 3.6 Synthese von C-substituierten Piperazinen

Ausgehend von den 2,5-Diketopiperazinen, die durch zwei zyklische Amide in ihrer räumlichen Anordnung stark fixiert sind und keine Basizität aufweisen, wurden 2-Ketopiperazine synthetisiert. Die erhaltenen Verbindungen weisen neben der erhaltenen Basizität ein größeres Maß an Flexibilität auf (vergl. 3.5). Formal handelt es sich bei den 2-Ketopiperazinen um einfach reduzierte Verbindungen. Die zweifache Reduktion liefert Piperazinderivate. Im Vergleich weisen diese zwei basische Zentren auf. Bezogen auf die räumliche Anordnung haben diese Verbindungen die größte räumliche Beweglichkeit. Sie können, wie das verwandte Cyclohexan, drei Konformationen einnehmen, zwei Sessel- und eine Boots-Konformation. Das Maß an Flexibilität kann in der Interaktion mit biologischen Targets, wie Proteinen und Rezeptoren wichtig sein. Regide Moleküle müssen strukturgenaue in die Interaktionsstelle passen. Das kann zu einem hohen Maß an Selektivität führen, aber auch zu fehlender Affinität. Flexible Moleküle können sich hingegen in die Interaktionsstelle einpassen wodurch die Selektivität verloren gehen kann. Dementsprechend sind zur Evaluation einer Strukturwirkungsbeziehung beide Varianten sinnvoll.

Ausgehend von den bereits synthetisierten 2,5-Diketopiperazinen wurden durch doppelte Reduktion C-substituierte Piperazinderivate dargestellt. Für die Reduktion wurde das starke Reduktionsmittel Lithiumaluminiumhydrid ( $\text{LiAlH}_4$ ) verwendet. Die Ausbeute der Reaktion variierte sehr stark. So konnte Verbindung **67a** mit 74 %, Verbindung **67d** jedoch nur mit 2 % Ausbeute erhalten werden (

Schema 15).



Schema 15: Synthese von Piperazinderivaten **67a, d, e, f** und **68**

Eine mögliche Begründung hierfür könnte wiederum die räumliche Anordnung der Moleküle sein. Verbindungen mit zwei Benzylsubstituenten bilden bevorzugt die angesprochenen Stapel aus (siehe 3.3). Durch die Interaktion der Amide mit den  $\pi$ -Elektronensystem werden die Amidgruppen gegenüber den Reduktionsmitteln abgeschirmt.

Ein Beleg für diese Annahme können die steigenden Reaktionsausbeuten sein, wenn die Möglichkeit der Stapelbildung durch fehlende bzw. konkurrierende Phenylsubstituenten erschwert wird.

Die Reduktion mit  $\text{LiAlH}_4$  liefert die Möglichkeit der Isomerisierung der Stereozentren. Die spezifischen Drehwerte von 2,5-Diketopiperazinen und den reduzierten Verbindungen können nicht als Vergleichswerte herangezogen werden, da es sich nicht um dieselben Substanzen handelt. Die spezifischen Drehwerte liegen jedoch alle nahe am Nullwert, sodass von einer Racemisierung der Stereozentren ausgegangen werden kann.

Die Konfiguration der Stereozentren wurde nicht absolut bestimmt, sodass die Strukturen mit ungeklärter Stereochemie dargestellt werden.

*Verbindung 67f wurde weiterverwendet, um wiederholt den Einfluss der verschiedenen Basizitäten zu beleuchten. Im Vergleich zu den anderen Verbindungen 67a, d, e steht hier nur ein sekundäres Amin zu Acetylierung zur Verfügung, sodass sich hier nicht erneut eine Diamidverbindung bilden kann (*

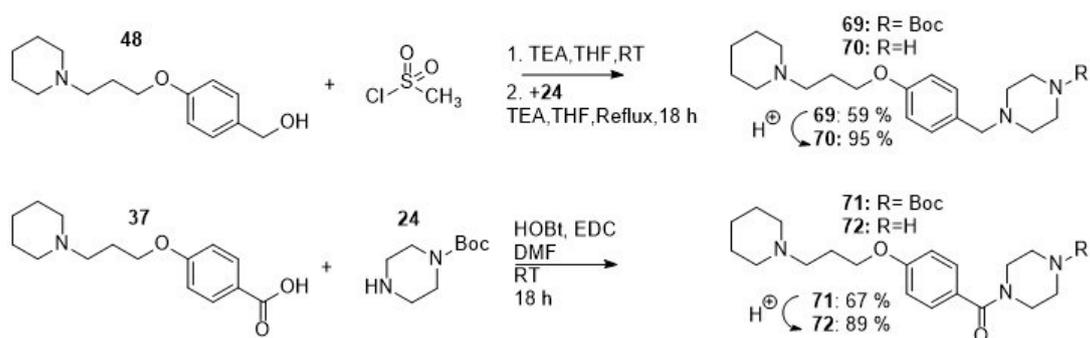
Schema 15).

### 3.7 Synthese von *N*-substituierten Piperazinen

In vergleichbarer Weise zu den Monoketopiperazinen wurden auch die Piperazinderivate sowohl als *C*- als auch als *N*-substituierte Piperazine synthetisiert. Wie bereits in der vorherigen Synthese angesprochen (vergl. 3.5 und 3.6), stellt das Piperazin eine privilegierte Struktur im Hinblick auf die Synthese neuer potenzieller Arzneistoffkandidaten dar<sup>240</sup>. Durch die zwei basischen Stickstoffe lassen sich vorteilhaft viele verschiedene Substituenten einführen. Dabei kann das Piperazin sowohl als Linker als auch als Teil des Pharmakophors dienen. Es trägt somit zur Selektivität wie auch zur Konvergenz der Verbindungen bei. Primär ging es darum, Piperazinderivate darzustellen, welche die Substanzbibliothek um analoge Strukturen ergänzt. Desweiteren wurde der Piperazinkern genutzt, um die Strukturelemente der Zielverbindung in einen neuen Zusammenhang zu bringen. Es wird sich sowohl der divergenten als auch der konvergenten Synthese bedient. Substanzen werden also ausgehend von gemeinsamen Vorstufen zu verschiedenen Strukturen entwickelt, aber auch aus verschiedenen Vorstufen zu vergleichbaren Substanzen verschmolzen.

#### 3.7.1 Synthese von Piperazin *N*-Benzyl- und Benzoylderivaten

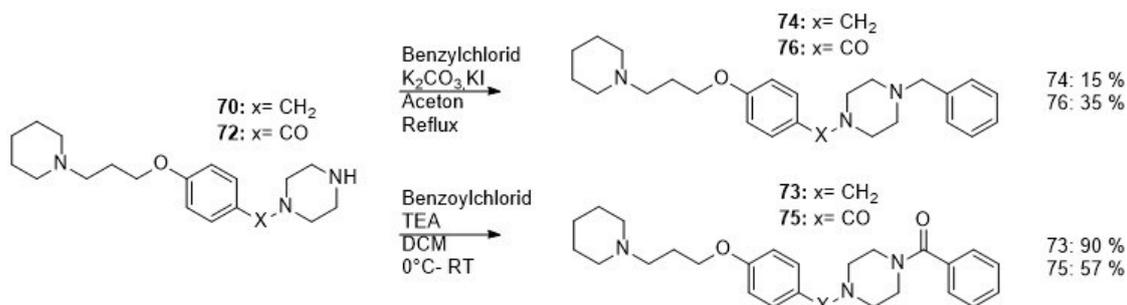
Die *N*-substituierten Derivate können in zwei analogen Reihen beschrieben werden. Der Ausgangspunkt der beiden Reihen ist die Substitution an einem der Piperazinstickstoffe. Für die eine Reihe wird dazu einfach geschütztes *N*-Boc-piperazin **24** mit (4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanol **48** alkyliert.



Schema 16: Synthese von Verbindung **70** und **72**

Für die Acyl-Reihe wird Verbindung **24** mit 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure **37** acyliert (Schema 16). Nach Entfernung der Schutzgruppe wurde das freie Amin weiter substituiert.

Der entscheidende Unterschied der Verbindungen wurde so bereits im ersten Schritt dargestellt. Die weiteren Umsetzungen erfolgten dann mit jeweils beiden Verbindungen. Zur Untersuchung des Einflusses der Basizität von sekundären Aminen und tertiären Aminen, sowie Amiden (ohne basische Eigenschaften) wurden die Verbindungen sowohl mit Benzyl- als auch Benzoylchlorid umgesetzt (Schema 17).



Schema 17: Synthese von Verbindung 74-77

### 3.7.2 Synthese von *N*-L-Prolin-yl-Piperazinderivaten

Weitere Umsetzungen wurden mit *N*-Boc-*L*-Prolin durchgeführt, um die strukturelle Ähnlichkeit zu der Leitsubstanz NNZ-2591 herzustellen.

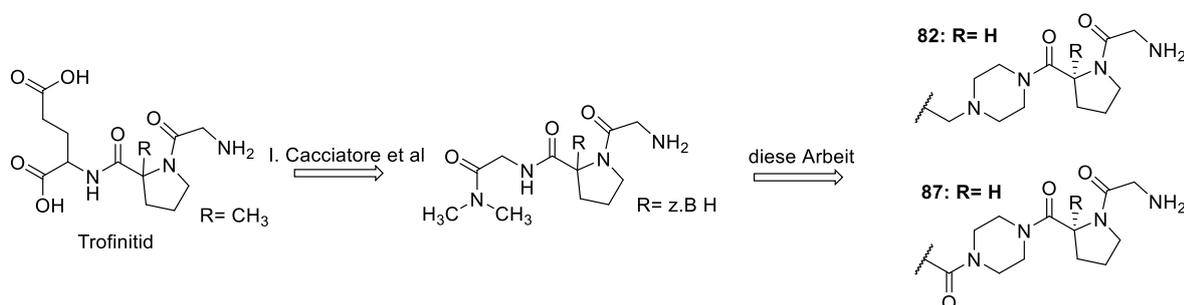
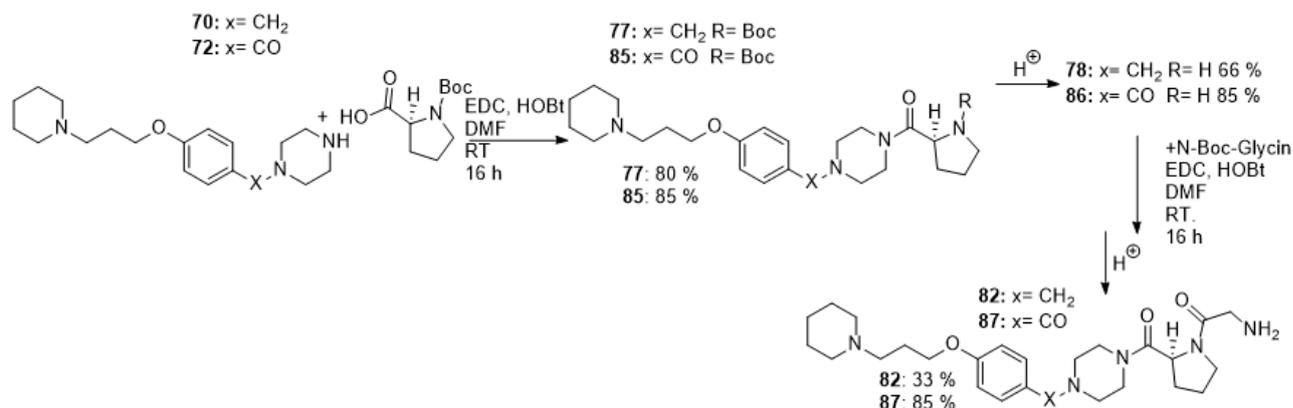


Abbildung 34: Umwandlung von Trofinitid® zu einem Piperazinderivat

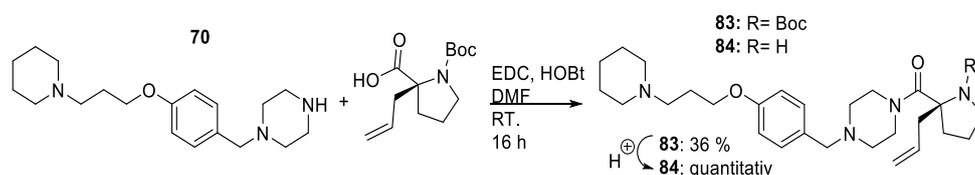
Nach der Entschützung und der anschließenden Derivatisierung mit *N*-Boc-Glycin wurde die offenkettige Form der Leitstruktur dargestellt. Das Piperazin stellt dabei nicht nur einen Linker zwischen dem H<sub>3</sub>R-Pharmakophor und der Dipeptidform der Leitstruktur dar. Wie in 1.1.2.2 beschrieben, ist NNZ-2591 eine Weiterentwicklung von Trofinitid® (NNZ-2256). Cacciatore et al.<sup>241</sup> beschreiben, dass die enthaltene Glutaminsäure durch Glycin ausgetauscht werden kann. Durch den Einsatz von Piperazin wird dieses Strukturelement simuliert. Piperazin stellt das doppelt reduzierte 2,5-Diketopiperazin aus zwei Glycinbausteinen dar. Durch die Kupplung mit der Säurefunktion von Prolin wird die Amidstruktur des Trofinitid®-Tripeptids erhalten (Abbildung 34). Der Austausch der Säuregruppe von Glutaminsäure bzw. Glycin durch tertiäre Amide wird ebenfalls von Cacciatore et al. als mögliche Strukturvariation aufgezeigt.

Diese wird in Verbindung **87** durch die Acylierung des sekundären Piperazinstickstoffes erzeugt (Schema 18).



Schema 18: Synthese von Verbindung **78**, **82**, **86** und **87**

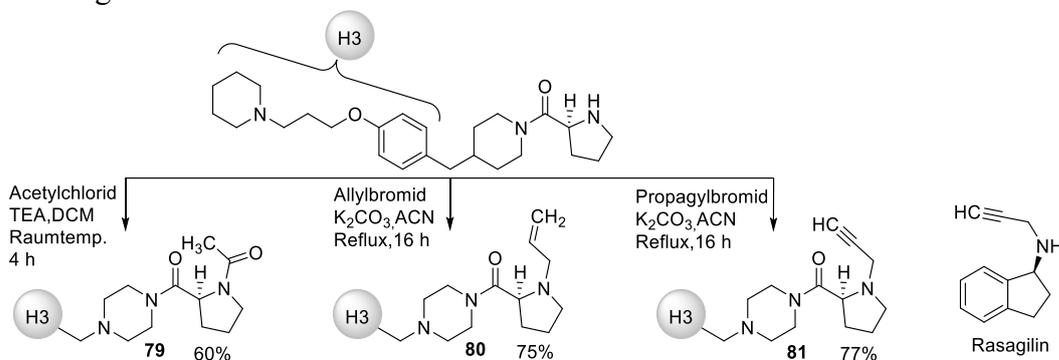
Aufgrund der leichteren Verfügbarkeit wurden die meisten Derivate mit L-Prolin synthetisiert. Der Austausch von Prolin durch  $\alpha$ -L-Allylprolin dient in der Leitsubstanz NNZ-2591 dazu, die metabolische Stabilität zu erhöhen. Als Dipeptidstruktur würde diese sonst leicht von Peptidasen gespalten. Um dennoch mögliche Einflüsse auf die biologische Aktivität an den Targets zu untersuchen, wurden auch Derivate mit  $\alpha$ -Allylprolin dargestellt (Schema 19)



Schema 19: Synthese von Allylprolinerivat **83** und **84**

Anstelle von Glycin (wie in Verbindung **82**) wurde Verbindung **78** mit weiteren Strukturelementen am Stickstoff substituiert. Dabei handelt es sich sowohl um Strukturmerkmale, die in anderen Verbindungen der Substanzbibliothek bereits eingesetzt wurden, als auch um Substituenten, die neu eingeführt wurden. Durch den Austausch von Glycin durch Acetat (Verbindung **79**) konnte der Einfluss der Aminosäure-Substitution stärker beleuchtet werden: Verbindung **79** behält am Prolin den Amidcharakter und der Beitrag der Aminofunktion von Glycin kann im Vergleich der Substanzen erkannt werden (Schema 20). Durch die Alkylierung mit Allylbromid entsteht Verbindung **80**. Die Aminogruppe des Glycins wird hier durch ein C-C-Doppelbindung ersetzt und der Prolinstickstoff als basisches Element behalten.

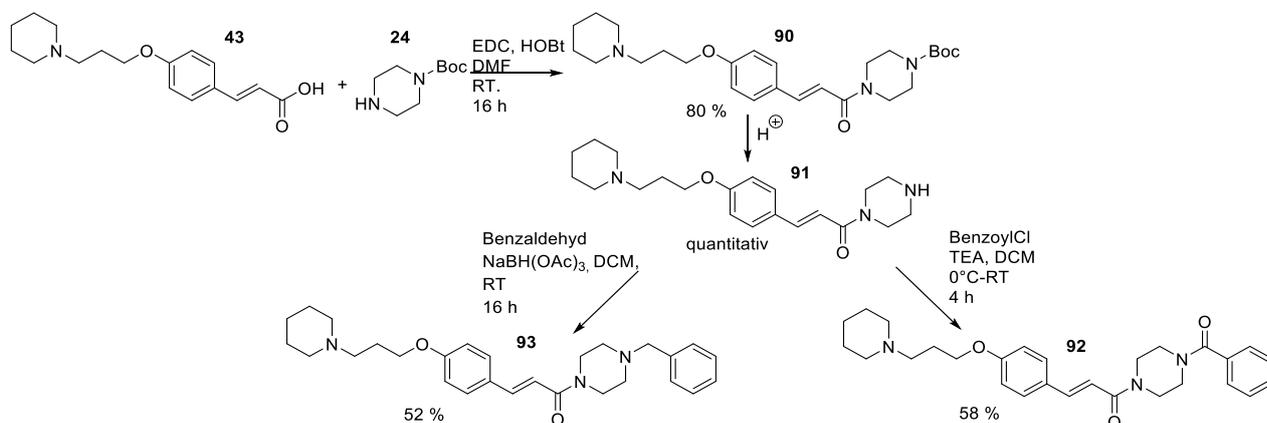
Das neu eingeführte Propargylfragment wurde verwendet, um eine Struktur darzustellen, die eine Ähnlichkeit zu Rasagilin (Azilect®) und Selegelin (Jumexal®) aufweist. Beide Wirkstoffe sind irreversible MAO B-Inhibitoren, welche in der Therapie von Morbus Parkinson Anwendung finden.



Schema 20: Synthese von Verbindung 79- 81; Strukturvergleich mit Rasagilin

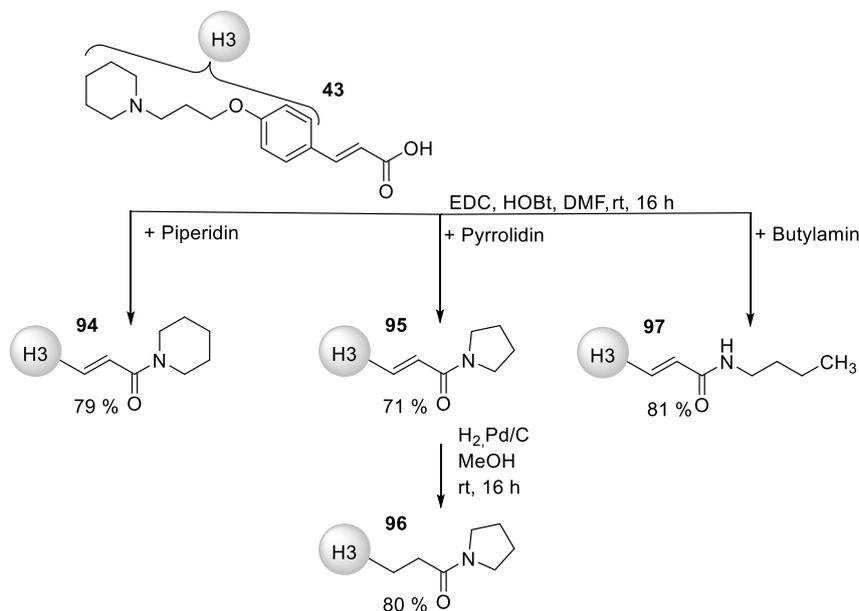
### 3.7.3 Synthese von Zimtsäureamiden

Abgeleitet von den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen wurde Piperazin mit einem 4-Alkoxy-Zimtsäurederivat **43** (Schema 21) umgesetzt. Auf diese Weise wurde zwischen der Amidbindung und dem Phenylring des H<sub>3</sub>R-Pharmakophors eine vergleichbare Doppelbindung in  $\alpha,\beta$ -Position eingeführt. Die Synthese verlief dabei wie die der Piperazin-*N*-Benzoessäurederivate (vergl. 3.7.1). Die Acetylierung von einfach geschütztem *N*-Boc-Piperazin **24** und die darauffolgende Entschützung lieferte eine zur Verbindung **72** vergleichbare Struktur **91**. Die Acylierung mit Benzoylchlorid verlief wie bereits beschrieben (**92** in Schema 21). Die Alkylierung mit Benzylchlorid hingegen führte zu einer quartären Ammonium Verbindung. Der Stickstoff des Piperazins wurde dabei zweifach alkyliert. Die Doppelalkylierung wurde durch die Verwendung von Benzaldehyd unter reduktiven Bedingungen umgangen. Das gebildete tertiäre Amin **93** konnte dabei keine weitere reduktive Aminierung durchlaufen und nicht zu einer Ammoniumverbindung weiter reagieren.



Schema 21: Synthese von Verbindung 91-93

In Analogie zu Verbindung **91** wurden weitere Zimtsäureamide mit verschiedenen Alkylaminen hergestellt (Schema 22). Diese sind das Verbindungsglied zwischen den Substanzgruppen der vorher beschriebenen Strukturen und den folgenden Verbindungen mit Dopamin D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Pharmakophor (vergl. 3.8).



Schema 22: Synthese von Zimtsäureamiden

In sämtlichen Synthesen wurden ausschließlich *E*-Zimtsäuren verwendet. Die Konfiguration blieb auch bei der Umsetzung der Strukturen erhalten. Den Nachweis darüber liefert die Kopplungskonstante der Doppelbindungswasserstoffe im <sup>1</sup>H-NMR. Die Kopplungskonstanten der Verbindungen wurden immer mit einem Wert >15 Hz bestimmt, wie es für *E*-ständig positionierte Wasserstoffprotonen typisch ist.

### 3.7.4 Übersicht der Histamin-H<sub>3</sub>R-Liganden

Insgesamt wurden 51 Verbindungen auf dem Konzept der Zielsetzung und der rationalen Arzneistoffentwicklung erstellt, synthetisiert und charakterisiert. Piperazin ist das zentrale und verbindende Element der Verbindungen. Die Substitutionen und Veränderungen sind in Abbildung 35 dargestellt. Die Variationen betreffen sowohl die Position als auch die Art des Substituenten.

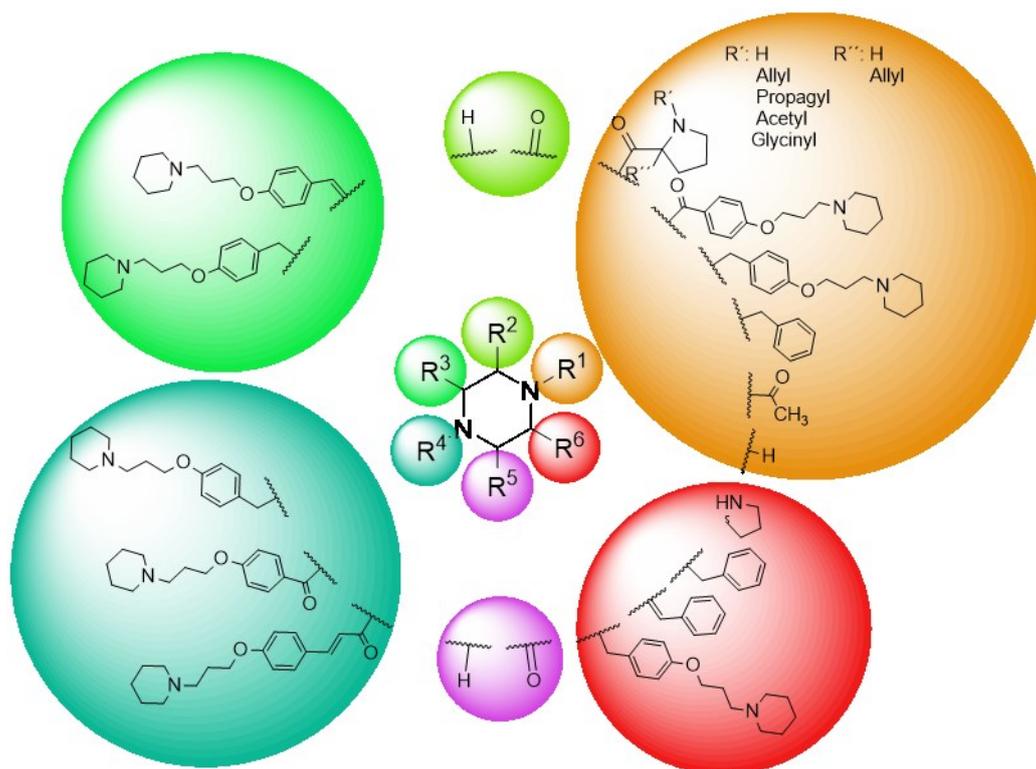


Abbildung 35: Substitutionsmuster am Piperazin

Die in den einzelnen Kapiteln angesprochenen Unterschiede in der Basizität, der räumlichen Struktur und der intramolekularen Beweglichkeit, werden auf ihren Einfluss auf die biologische Aktivität untersucht. Dabei werden sowohl die Unterschiede innerhalb der Strukturgruppen als auch zwischen den Gruppen bewertet.

### 3.8 Synthese von Piperazinderivaten mit Dopamin-D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Pharmakophor

Die Synthese der MTDL zur Therapie von Morbus Alzheimer lieferten vielversprechende Struktur motive im Bereich des H<sub>3</sub>R-Pharmakophors. Die Struktur motive wurden im weiteren Verlauf genutzt, um diese mit Pharmakophoren von D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Liganden zu kombinieren. Dabei wurden sowohl (partial-) agonistische als auch antagonistische Struktur motive verwendet. Allen Struktur motiven ist dabei die Einbettung von Piperazinstrukturen als verbindendes Element gemeinsam.

#### 3.8.1 Synthese von MTDL mit D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Antagonisten-Pharmakophor

Das Ziel, ein Histamin H<sub>3</sub>R-Antagonisten mit einem D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Antagonisten zu kombinieren, wurde durch das zuvor verwendeten Zimtsäure- bzw. Napthoesäurederivat ermöglicht. Dieses, das H<sub>3</sub>R-Antagonist tragende Pharmakophor lässt sich dabei sehr gut in das D<sub>2</sub>/ D<sub>3</sub>-Pharmakophor, wie es von Hackling et. al beschrieben wurde, einfügen<sup>206</sup>.

Als D<sub>2</sub>/ D<sub>3</sub>R-Struktur wurde eine, dem Antipsychotikum Cariprazin und dem D<sub>3</sub>R-Partialagonist BP-897 verwandte Struktur, verwendet. Dies soll zur Aufrechterhaltung des günstigen klinischen Profils mit verbessertem Einfluss auf die kognitive Symptomatik, durch das H<sub>3</sub>R-Fragment führen.

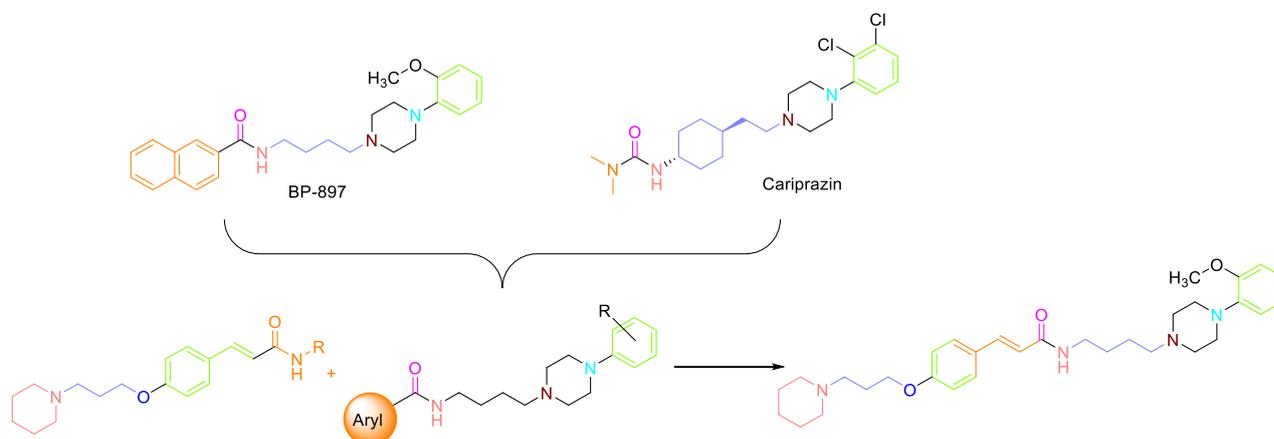
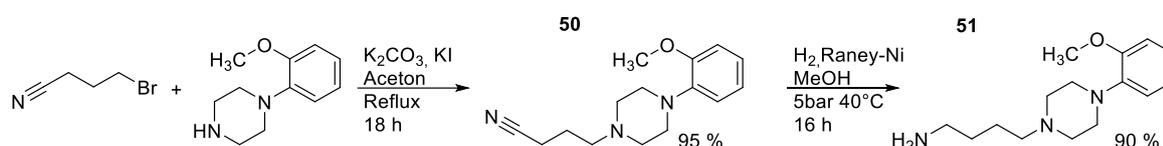


Abbildung 36: Fusion der H<sub>3</sub>R- und D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Strukturelemente

Die Pharmakophore vom H<sub>3</sub>R- und dem D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Typ wurden separat dargestellt. Die Verbindung wurde erst im letzten Syntheseschritt generiert, sodass Vorstufen aus den vorherigen Synthesen verwendet werden konnten. Wie der SAR von D<sub>2</sub>/ D<sub>3</sub>-Antagonisten zu entnehmen ist, bedarf es einer Amidbindung eines Arylsubstituenten. Diese Stelle wurde genutzt, das H<sub>3</sub>R-Pharmakophor zu integrieren. Aus Vorarbeiten ist bekannt, dass sowohl Zimtsäure- als auch 2-Naphtalensäurederivate gut als Arylsubstituenten geeignet sind<sup>206</sup>.

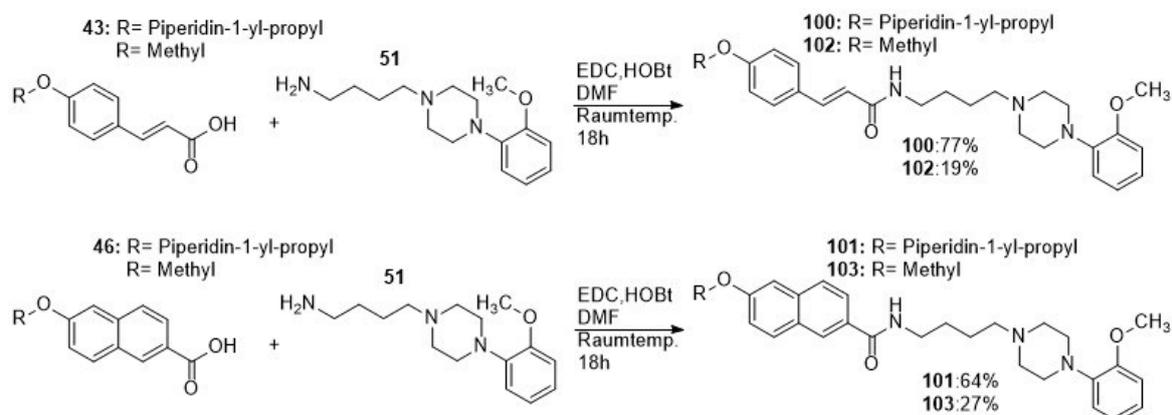
Durch die Wahl der *para*-Hydroxyderivate 4-Hydroxyzimtsäure und 6-Hydroxynaphthoe-2-säure konnten diese zu H<sub>3</sub>R-Pharmakophoren umgesetzt werden. Die Synthese der Verbindungen **43** und **46** ist in Schema 1 dargestellt.

Die Synthese des D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Pharmakophors geht von 1-(2-Methoxyphenyl)piperazin aus, welches in einer Aminalkylierung in einer S<sub>N</sub>2-Reaktion mit dem Linker verbunden wird. Als Linker wurde eine Butylkette gewählt, da diese sich in vielen Verbindungen als potent erwiesen hat. Durch die Wahl von Brombutyronitril konnte im gleichen Schritt eine Vorstufe des benötigtenamins eingebracht werden. Das Nitril **50** wurde in einem nächsten Schritt mit Wasserstoff und unter katalytischen Bedingungen reduziert (Schema 23).



Schema 23: Synthese des D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Pharmakophors

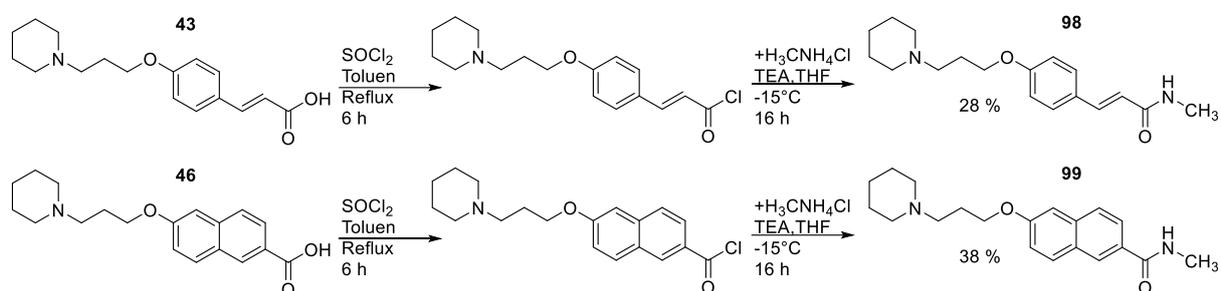
Als Katalysator kam Raney-Nickel zum Einsatz. Dabei handelt es sich um eine Nickel-Aluminium-Legierung, die vor ihrer Verwendung aktiviert werden muss. Die Aktivierung geschieht über Natronlauge, die Aluminium aus der Legierung löst. Durch die Verwendung starker Natronlauge wurde ein Ausfallen von Aluminiumhydroxid verhindert. Nach Herauslösen des Aluminiums entstand eine hochporöse Nickelstruktur<sup>242</sup>, die den Reduktionsprozess ermöglichte<sup>243</sup>. Die Reduktion lieferte unter erhöhtem Druck und erhöhter Temperatur das Amin **51** in einer hohen Ausbeute von 90 %. Die Kopplung der Säurevorstufen **43** und **46** mit dem Amin **51** ergab die finalen Verbindungen **100** und **101**.



Schema 24: Synthese von Verbindung 101-104

Um die Affinitäten der Teilstrukturen zu bestimmen, wurden jeweils Verbindungen mit nur einem Pharmakophor synthetisiert. Die Position des anderen Pharmakophors wurde dabei durch eine Methylgruppe ersetzt (Schema 24). Als monovalente D<sub>2</sub>/ D<sub>3</sub>R-Antagonisten ergaben sich so Verbindung **102** und **103**, welche auf dieselbe Weise wie die MDTL-Strukturen synthetisiert wurden. Die monovalenten H<sub>3</sub>R-Antagonisten wurden durch die Verwendung von Methylamin dargestellt (

Schema 25). Der Siedepunkt des Methylamins liegt bei ca. -8 °C, sodass mit einer Eiswasser/ NaCl-Sole gekühlt werden musste. Die über die Kupplungsreagenzien EDC und HOBt aktivierte Carbonsäure stellte sich unter diesen Bedingungen als zu unreaktiv heraus. Die Aktivierung mit Thionylchlorid lieferte moderate Ausbeuten von 28 % für Verbindung **98** und



38 % für Verbindung **99**.

Schema 25: Synthese von Verbindung **98** und **99**

### 3.8.2 Synthese von MTDL mit D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Agonisten-Pharmakophor

Moritz et. al.<sup>244</sup> erzeugten auf Grundlage eines Piperazinkerns einen D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Agonisten mit deutlicher D<sub>3</sub>R-Präferenz. Durch wechselseitige Modifikation des Pharmakophors soll untersucht werden, inwieweit sich ein H<sub>3</sub>R-Antagonist in das Molekül integrieren lässt. Die grundlegenden Struktur motive sind dabei ein Piperazinkern, der auf der einen Seite mit einem Arylsubstituenten über ein Amid gebunden ist. Auf der anderen Seite steht eine Linkerstruktur, die das Piperazin durch einen Phenoether mit einem *para*-Alkoxyphenylsubstituenten verbindet (Abbildung 37). Damit stehen der Einbringung eines H<sub>3</sub>R-Strukturelements potenziell zwei Ansatzpunkte zur Verfügung.

1. Substitution des westlichen Arylsubstituenten durch einen Aryl-oxy-propyl-piperidin-Baustein
2. Substitution des östlichen Alkoxyethers durch ein Piperidinpropyloxy-Fragment.

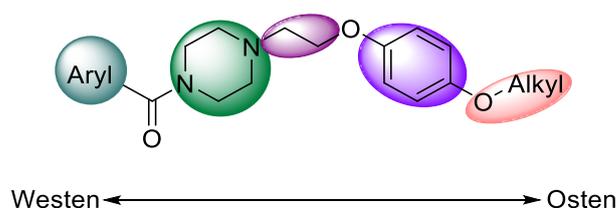


Abbildung 37: SAR nach Moritz et al.<sup>244</sup>

Beide Synthesen beginnen mit dem Aufbau der östlichen Teilstruktur. Der Ethyllinker wurde von Moritz et al. als Optimum erkannt und daher auch in diesen Ansatz eingebracht. In einer *Williamson-Ethersynthese* wurde 1,2-Dibromethan an das jeweilige Phenol gebunden. Durch die Verwendung von 2 Äquivalenten 1,2-Dibromethan konnte die Bildung von Dimeren nur teilweise unterdrückt werden. Die Ausbeuten lagen daher nur bei moderaten 40 %. Als Phenole wurden zum einen *para*-Hydroxyanisole verwendet, wie es in der Leitsubstanz zu finden ist. Um die Position für eine spätere Umsetzung mit dem H<sub>3</sub>R-Pharmakophor zu schützen, wurde zum anderen auch *para*-(Benzyloxy)-phenol eingesetzt; dies ist die benzylgeschützte *para*-Hydroxyphenol-Struktur. Die erhaltenen Verbindungen **28** und **31** wurden genutzt, um Boc-Piperazin **24** zu alkylieren (Schema 26). Verbindung **29** wurde mit HCl zu **30** entschützt.



### 3.9 Zusammenfassung Synthese

Die Synthesen lieferten insgesamt sieben verschiedene Strukturklassen mit 59 Endverbindungen. Es wurden acht 2,5-Diketopiperazine, fünf  $\alpha,\beta$ -ungesättigte 2,5-Diketopiperazine, acht 2-Ketopiperazine, fünf C-substituierte Piperazine, 20 N-substituierte Piperazine, elf Zimtsäurederivate und drei Napthoesäurederivate synthetisiert.

Durch die bausteinbasierte Synthese war es möglich ein großes Spektrum an Variationsmöglichkeiten der Struktur motive zu realisieren. Für viele Reaktionsschritte konnten allgemeine Methoden erarbeitet werden, die effektiv zur Synthese genutzt wurden. Die gezielte Auswahl von Reaktionsbedingungen, Aktivierungs- und Kopplungsreagenzien ermöglichte stereoselektive Synthesen.

Mit Hilfe der Mikrowellensynthese konnten Reaktionen effizienter durchgeführt werden. Durch die Verwendung tiefer Temperaturen (bis  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) war es möglich, Reaktionen kontrolliert zum Produkt und in guter Ausbeute ablaufen zu lassen. Die Verwendung von Wasserabscheidern, Katalysatoren und gezielter Temperaturerhöhung wurde genutzt, um Reaktionsgleichgewichte auf die Seite der Produkte zu verschieben und die Reaktionsausbeute damit zu erhöhen. Die Verwendung verschiedener Schutzgruppentechniken ermöglichte es, auch in Verbindungen mit mehreren reaktiven Positionen gezielt Derivatisierungen durchzuführen.

Die Aufarbeitung der Reaktionsansätze erforderte teilweise die Verwendung von Aufarbeitungsprotokollen, um z.B. die Gelierung von aluminiumhaltigen Reaktionsansätzen zu vermeiden. Die Aufreinigung der Produkte konnte mittels Techniken wie Umkristallisieren und Ausfällen, sowie durch chromatographische Methoden erreicht werden. Neben der klassischen Säulenchromatographie und unbehandelten Kieselgelphasen (Normalphase) kam die Flash-Chromatographie an Normal- und Aminophasen zum Einsatz. Um Restwasser entfernen zu können, wurde sich der Methodik der Gefriertrocknung bedient.

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie, der Massenspektroskopie der NMR-Spektroskopie sowie der Verwendung von einer Massenspektrometrie-gekoppelten-Flüssigkeitschromatographie wurden die Produkte analysiert und charakterisiert.



## 4 Pharmakologische Testung

Die Aktivität der synthetisierten Verbindungen wurde zunächst in In-vitro-Experimenten als Affinität zu Zielstrukturen ermittelt. Die Affinität wird als gut bzw. hoch bewertet, wenn die Testsubstanz eine starke Bindung zur Zielstruktur eingeht. Die Stärke der Bindung wird über die Dissoziationskonstante  $K_i / K_D$  ausgedrückt, die sich aus dem Gleichgewicht zwischen freiem und gebundenem Liganden und Massenwirkungsgesetz ergibt. Je kleiner die Dissoziationskonstante, desto stärker ist die Bindung zum Rezeptor. Daraus ergibt sich, dass die Affinität einer Substanz als gut bzw. hoch beschrieben wird, wenn der  $K_i / K_D$ -Wert klein ist<sup>245,246</sup>.

### 4.1 Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor

Die Affinität zum humanen Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor (hH<sub>3</sub>R) wurde durch eine Radioligand-Verdrängungsstudie ermittelt. Als Radioligand wurde [<sup>3</sup>H]N<sup>α</sup>-Methylhistamin verwendet und die rekombinanten hH<sub>3</sub>R von HEK-293-Zellen gewonnen<sup>247</sup>. Die Affinitäten, die bestimmt wurden, sind als Mittelwerte mit einem 95 %-Konfidenzintervall (CI 95 %) angegeben. Die Verbindungen werden anhand ihrer  $K_i$ -Mittelwerte nachfolgend als moderat ( $K_i$ : 100-1000 nM), gut ( $K_i$ : 10 nM-100 nM) und sehr gut ( $K_i$ : <10 nM) bewertet. Als Grundlage dienen Vergleichswerte von bekannten H<sub>3</sub>R-Antagonisten, die in die Strukturentwicklung eingeflossen sind oder erfolgreich klinische Studien beendet haben<sup>218,248</sup>.

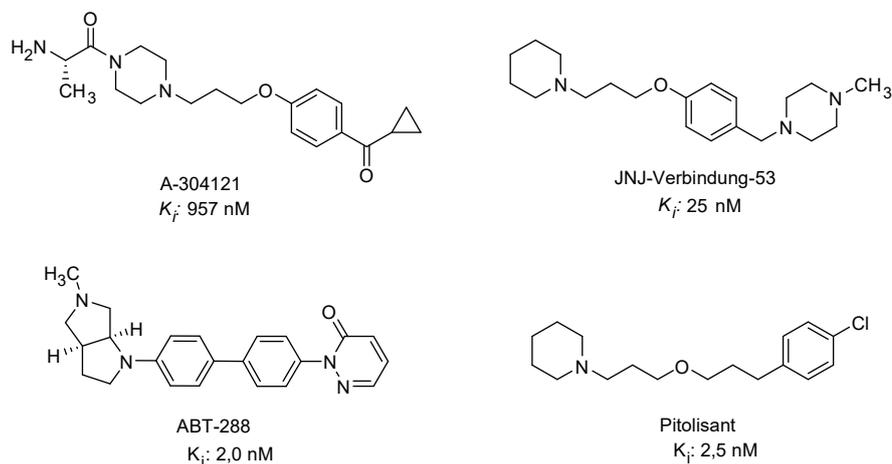


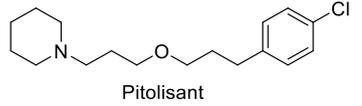
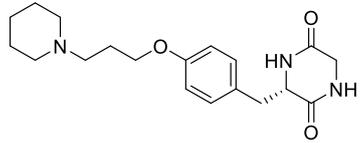
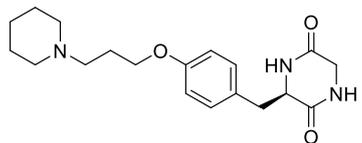
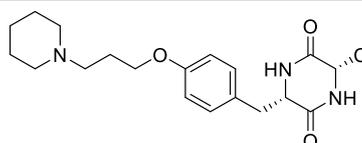
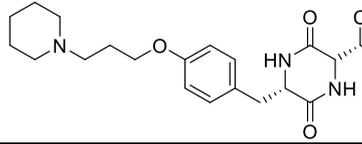
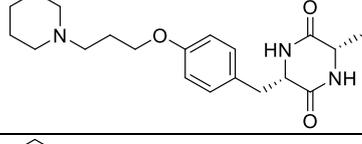
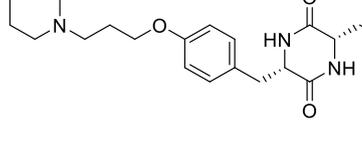
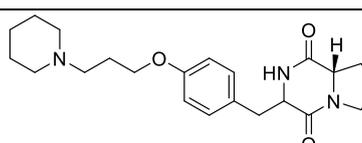
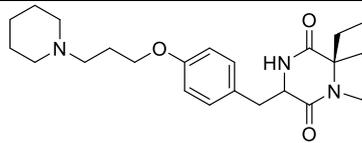
Abbildung 38: Literatur-Referenzwerte für die Affinität zum hH<sub>3</sub>R, angegeben als  $K_i$ -Werte<sup>212-214,239</sup>

Zum Vergleich der Literaturwerte mit den in den Experimenten bestimmten  $K_i$ -Werten, wurde Pitolisant als Referenzsubstanz vermessen und in Tabelle 7 mit aufgeführt.

4.1.1 H<sub>3</sub>R-Affinität von 2,5-Diketopiperazinen

Tabelle 7 zeigt die Affinität der 2,5-Diketopiperazine **52a-g** zum hH<sub>3</sub>R, sowie deren physikochemischen Eigenschaften wie Molekulargewicht (MG) und die spezifische Drehung (spez. Drehung,  $[\alpha]_{D^{25}}$ ).

Tabelle 7: Affinität von 2,5-Diketopiperazinen am hH<sub>3</sub>R

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	hH <sub>3</sub> R- K <sub>i</sub> [nM] (CI 95%)	Spez. Drehung $[\alpha]_{D^{25}}$
	 Pitolisant	295,9	11,3 (8,4-15,1)	/
<b>52aL</b>		345,4	74 (22-251)	+48,67
<b>52aD</b>		345,4	158 (51-495)	-49,00
<b>52b</b>		359,5	159 (48-529)	+23,67
<b>52c</b>		387,5	219 (61-781)	-14,00
<b>52d</b>		435,6	39 (15-97)	+4,33
<b>52e</b>		576,8	12,5 (3,7-42,2)	-58,00
<b>52f</b>		385,5	40,8 (17,2-96,7)	-48,00
<b>52g</b>		425,6	53,9 (24,6-117)	+11,00

K<sub>i</sub> als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze)  $n \geq 3$ ],  $[\alpha]_{D^{25}}$  in  $\frac{^{\circ} \cdot \text{ml}}{\text{dm} \cdot \text{g}}$  mit 0,01 g/ml in MeOH

Alle 2,5- Diketopiperazine **52a-g** zeigen eine moderate bis gute Affinität zum hH<sub>3</sub>R, eine sehr gute Affinität konnte nicht festgestellt werden. Verbindung **52e** zeigt dabei die höchste Affinität mit 12,5 nM. Die schlechteren Affinitäten lassen sich aus der räumlichen Struktur (vergl. 3.3.2) der Liganden ableiten. Durch die Ausbildung einer gestapelten Konformation wird eine raumnehmende Gruppe gebildet, die schlecht in die Bindetasche des H<sub>3</sub>R passt. Die für eine starke Bindung nötigen Interaktionen können so nur bedingt ausgebildet werden. Im Gegensatz dazu beinhaltet die dimere Verbindung **52e** das für die Bindung am hH<sub>3</sub>R nötige Strukturelement auf beiden Seiten der Verbindung, sodass eine Seite der Verbindung für die Interaktion in der Bindetasche zur Verfügung steht und eine gute Bindung zum Rezeptor erzeugt.

Im Vergleich der beiden Enantiomere **52aL** und **52aD** lassen sich bezüglich ihrer Affinität zum H<sub>3</sub>R keine signifikanten Unterschiede feststellen. Auch wenn sich die Mittelwerte deutlich voneinander unterscheiden, überschneiden sich die Vertrauensbereiche. Die Stereochemie der Verbindung scheint damit keinen nachweisbaren Einfluss auf das Bindungsverhalten zu haben. Eine Unterteilung in Eutomer und Distomer kann und sollte daher nicht erfolgen.

#### 4.1.2 H<sub>3</sub>R-Affinität von $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen

Wie Tabelle 8 zusammenfasst, zeigen die  $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazine **53-57** eine gute bis sehr gute hH<sub>3</sub>R-Affinität. Gegenüber den gesättigten Strukturen weisen die Verbindungen eine erhöhte Affinität auf (Tabelle 7). In diesem Vergleich ausgenommen ist Verbindung **52e**, die bereits innerhalb der Gruppe der 2,5-Diketopiperazine eine deutlich höhere Affinität zeigt. Durch die Doppelbindung zum H<sub>3</sub>R-Pharmakophor wird dieses in einem planaren Zustand fixiert; die Ausbildung einer gestapelten Anordnung ist nicht mehr möglich. Die schlechtere Affinität von Verbindung **55** verglichen mit Verbindung **53** und **57** zeigt, dass sich  $\pi$ -Elektronensysteme im rechten Teil der Verbindungen stärkend auf die Bindung zum Rezeptor auswirken. Dabei ist die Art des  $\pi$ -Elektronendonors nicht entscheidend, da sowohl Phenylsubstituenten wie in Verbindung **54** und **57** als auch Carbonylstrukturen wie in Verbindung **53** diesen Effekt zeigen. Eine Kombination der  $\pi$ -Elektronensysteme führt nicht zu einer weiteren Erhöhung der Affinität, wie man im Vergleich von Verbindung **56** mit **57** erkennt. Eine verminderte Affinität lässt sich hingegen ebenso wenig feststellen (Tabelle 8). Beide Verbindungen zeigen sehr gute Affinitäten und darüber hinaus belegen sie, dass nur die sterische Fixierung des H<sub>3</sub>R-Pharmakophors für die erhöhte Affinität gegenüber den 2,5-Diketopiperazinen verantwortlich ist.

Die freie Drehbarkeit des Phenylsubstituenten in Verbindung **56** und **57** vermindert die sehr gute Affinität von Verbindung **54** nicht und behält diese bei.

Tabelle 8: Affinität von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen am  $hH_3R$

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	$hH_3R$ $K_i$ [nM] (CI 95 %)	Spez. Drehung [ $\alpha$ ] $_D^{25}$
<b>53</b>		385,4	3,8 (1,6-9,0)	/
<b>54</b>		431,5	3,8 (1,1-13,6)	/
<b>55</b>		343,4	22,3 (9,7-63,1)	/
<b>56</b>		475,6	4,4 (2,3-8,6)	+59,33
<b>57</b>		433,6	2,0 (0,7-6,0)	+10,67

$K_i$  als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze)  $n \geq 3$ ], [ $\alpha$ ] $_D^{25}$  in [ $\frac{^\circ \cdot ml}{dm \cdot g}$ ] mit 0,01 g/ml in MeOH

#### 4.1.3 $H_3R$ -Affinität von 2-Ketopiperazinen

Als weitere Strukturvariationen im Bereich des Piperazin-Elements wurden 2-Ketopiperazine dargestellt. Die 2-Ketopiperazine **58** und **60** können als einfach reduzierte Derivate von Verbindung **52f** betrachtet werden. Die weiteren Verbindungen **61-66** sind einfach reduzierte Variationen des Glycinanhydrids, die über ihre Aminogruppe mit dem  $H_3R$ -Pharmakophor verknüpft sind. Die Affinitäten der Verbindungen sind in Tabelle 9 zusammengefasst und als gut bis sehr gut zu bewerten, mit  $K_i$  Werten zwischen 0,5 nM (**58**) und 11,3 nM (**66**).

Die gegenüber den 2,5-Diketopiperazinen (Tabelle 7) deutlich erhöhte Bindungsstärke lässt sich nicht nur mit der Einführung eines zweiten basischen Zentrums erklären. Auch Verbindungen **62**, **63** und **65**, die zwei Amide am Piperazinkörper enthalten, zeigen eine verbesserte Affinität, mit vergleichbar sehr guten Werten, wie die ungesättigten Verbindungen aus Tabelle 8.



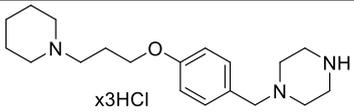
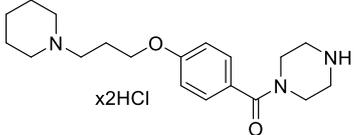
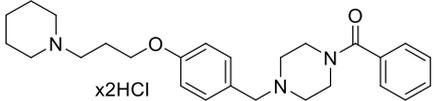
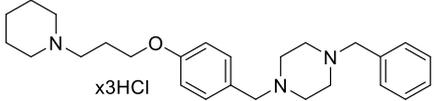
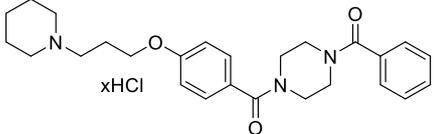
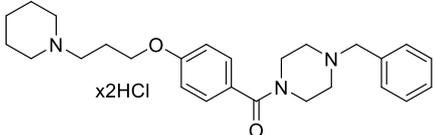


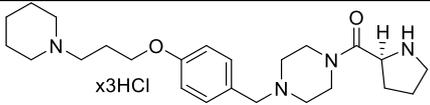
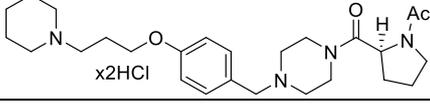
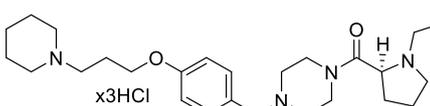
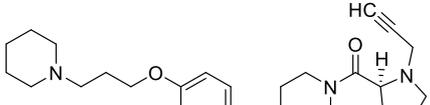
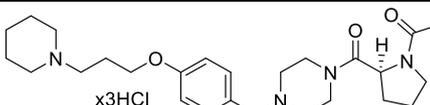
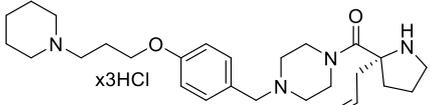
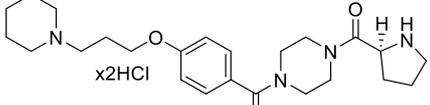
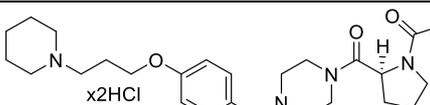
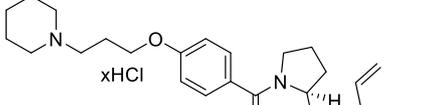
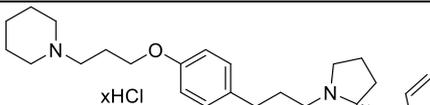
Die vollständige Reduktion der Amide von Verbindung **52aL**, **d** und **f** führt zu Verbindungen mit Piperazin als Grundgerüst. Die Verbindungen **67a**, **d** und **f** zeigen mit 1,1-2,0 nM sehr gute Affinitäten zum hH<sub>3</sub>R. Die durch Acetylierung der Verbindung **67f** erhaltene Verbindung **68** zeigt eine gute Affinität. Eine weitere Verbesserung im Vergleich mit den einfach reduzierten Verbindungen (Tabelle 9) ist nicht sichtbar festzustellen. Durch die Aufhebung der sterisch unvorteilhaften 2,5-Diketopiperazin-Struktur lässt sich auch beim Dimer **67e** (Tabelle 7) im Vergleich mit den anderen Verbindungen keine erhöhte Affinität feststellen. Mit  $K_i$ -Werten im einstelligen nanomolaren Konzentrationsbereich zeigen die Verbindungen der **67er**-Reihe neben sehr guten Affinitätswerten auch eine geringe Streuung der Werte.

#### 4.1.5 H<sub>3</sub>R-Affinität von *N*-substituierten Piperazinen

Die Gruppe der *N*-substituierten Piperazinderivate umfasst insgesamt 14 Verbindungen, die sich homogen hinsichtlich ihrer Affinität zum hH<sub>3</sub>R zeigen (Tabelle 11). Sechs Verbindungen **70** und **72-76** sind Vergleichssubstanzen zu den Derivaten ohne Prolinpartialstruktur. Verbindungen **78-82** und **84-87** sind Piperazinderivate mit Prolinanteil. Verbindungen **88** und **89** sind, ohne Piperazin als Kernstruktur, direkt an Prolin gekoppelt

Tabelle 11: Affinität von *N*-substituierte Piperazinen am hH<sub>3</sub>R

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	hH <sub>3</sub> R $K_i$ [nM] (CI 95 %)	Spez. Drehung [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>25</sup>
<b>70</b>		426,9	10,1 (7,2-14,1)	/
<b>72</b>		404,4	5,1 (1,5-17,6)	/
<b>73</b>		494,5	1,9 (0,8-4,9)	/
<b>74</b>		517,0	1,5 (1,2-2,0)	/
<b>75</b>		472,0	2,2 (0,9-5,3)	/
<b>76</b>		494,5	7,5 (3,6-15,4)	/

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	hH <sub>3</sub> R K <sub>i</sub> [nM] (CI 95 %)	Spez. Drehung [α] <sub>D</sub> <sup>25</sup>
78		524,0	13,7 (1,5-127,7)	+54,67
79		529,6	3,6 (0,7-17,4)	+35,67
80		564,0	5,6 (2,5-12,5)	+23,00
81		562,0	6,0 (2,8-12,9)	+30,67
82		581,0	9,6 (3,4-26,9)	+41,90
84		564,0	29,0 (7,8-108,0)	+31,43
86		501,5	5,4 (2,0-14,8)	+30,00
87		558,6	12,1 (5,1-28,8)	+56,00
88		436,0	28,5 (9,7-84,2)	-25,67
89		464,0	112,4 (44,4-285)	-27,33

K<sub>i</sub> als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze) n≥3], [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> in  $\left[\frac{^{\circ}\text{ml}}{\text{dm}\cdot\text{g}}\right]$  mit 0,01 g/ml in MeOH

Alle Substanzen mit Piperazin-Grundkörper zeigen eine gute bis sehr gute Affinität zum hH<sub>3</sub>R. Innerhalb dieser Gruppe gibt es kaum Unterschiede in der Bindungsstärke, die K<sub>i</sub>-Werte variieren zwischen 1,5 nM (**74**) und 29,0 nM (**84**).

Die Verbindungen mit Prolinelement **78-82** und **84-87** zeigen, dass Aminosäurestrukturen mit H<sub>3</sub>R-Pharmakophoren mit guter Bindungsstärke zum H<sub>3</sub>R kombinierbar sind. Auch Dipeptide wie Verbindung **82** und **87** liefern gute bis sehr gute Affinitätswerte.

Verbindungen **88** und **89** zeigen gegenüber den Derivaten ohne Prolin eine signifikant schlechtere Affinität, nicht jedoch gegenüber den Piperazinen mit Prolinelement. Allgemein lässt sich eine sehr starke Robustheit des Piperidin-propyl-oxy-aryl-Piperazins bezogen auf hohe Affinitäten zum hH<sub>3</sub>R erkennen.

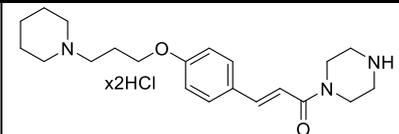
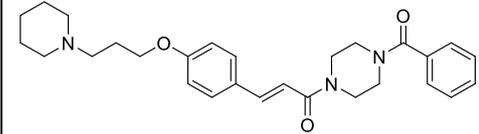
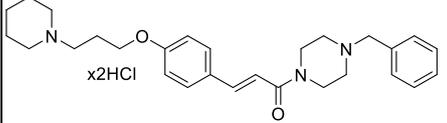
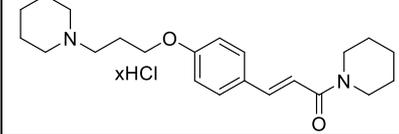
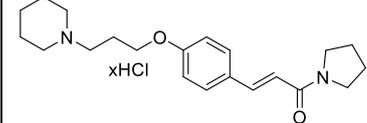
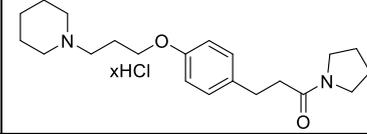
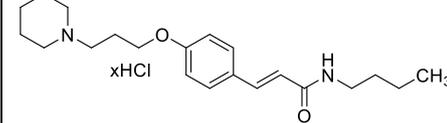
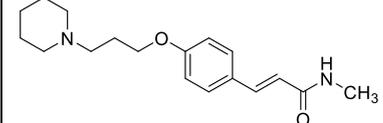
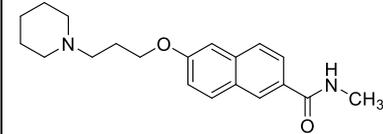
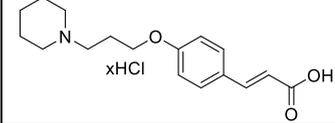
Die teilweise sehr unterschiedlichen Substitutionsmuster im östlichen Teil der Moleküle haben meist keinen nennenswerten Einfluss auf die Bindungsstärke zum hH<sub>3</sub>R. Die Art der Stickstoffe innerhalb der Piperazins, als zweite Heteroatomgruppe beeinflusst die Affinität ebenfalls nicht; sowohl Amine (**70** und **74**), Amin-Amid Mischungen (**72**, **73**, **76**, **78-82**, **84**) als auch Amide (**86** und **87**) zeigen vergleichbar gute K<sub>i</sub>-Werte.

Verglichen mit den vorherigen Strukturklassen lassen sich lediglich Unterschiede zu den 2,5-Diketopiperazinen (Tabelle 7) erkennen. Anders als bei den 2-Ketopiperazinen (Tabelle 9) hat die Substitutionsposition („C“ oder „N“) einen unerheblichen Einfluss bezogen auf die Affinität, wenn man diese mit den C-substituierten Derivaten vergleicht (Tabelle 10).

#### 4.1.6 H<sub>3</sub>R-Affinität von Zimtsäureamiden und Analoga

Die Zimtsäureamide **91-99** sind Analoga zu den Benzoessäureamiden der N-substituierten Piperazine ohne Prolinfragment (vergl. 4.1.5). Der Vergleich der direkten homologen Verbindungen **91-93** zeigt, dass durch die Kettenverlängerung von Benzoe- zur Zimtsäure kein Affinitätsverlust erfolgt (Tabelle 12). Die Substanzen zeigen vergleichbar sehr gute Bindungsstärken. Auch hier scheint die Art der Piperazinstickstoffe bedeutungslos für die Affinität zum hH<sub>3</sub>R zu sein. Darüber hinaus zeigen Verbindungen **94-99**, dass auch die Art der Aminkomponente, sowie die Konjugation von Säure zum Aromaten unterschiedlich sein darf. Die freie Säure **34** zeigt, dass Amide vorteilhaft in Bezug auf die hH<sub>3</sub>R-Affinität sind. Mit der guten Affinität bestätigt Verbindung **34** aber auch die bereits erkennbare, hohe Robustheit des H<sub>3</sub>R-Pharmakophors.

Tabelle 12: Affinität von Zimtsäureamiden und Analoga am hH<sub>3</sub>R

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	hH <sub>3</sub> R K <sub>i</sub> [nM] (CI 95 %)	Spez.Drehung [α] <sub>D</sub> <sup>25</sup>
91		430,4	7,4 (5,4-10,1)	/
92		461,6	1,1 (0,5-2,2)	/
93		520,5	4,9 (2,3-10,4)	/
94		393,0	6,2 (2,6-15,0)	/
95		379,0	4,3 (2,2-8,6)	/
96		381,0	3,6 (1,0-13,1)	/
97		381,0	6,1 (3,8-10,0)	/
98		302,4	5,3 (2,1-13,7)	/
99		326,4	10,8 (2,7-43,1)	/
34		325,8	30,0 (20-46)	

K<sub>i</sub> als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze) n≥3], [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> in  $[\frac{^{\circ}ml}{dm \cdot g}]$  mit 0,01 g/ml in MeOH

## 4.2 Amyloid-Beta-Interaktion

Die Kombination eines H<sub>3</sub>R-Antagonismus mit einer A $\beta$ -Polymerisations-Inhibition kann zur einer DMT führen. Kürzlich konnten Zhang et al.<sup>249</sup> zeigen, dass kleine Moleküle mit H<sub>3</sub>R-Affinität an A $\beta$ -Monomere binden und ihre Aggregation verhindern können. Eine zu starke Bindung an die Monomere könnte aggregationsfördernd wirken, eine zu schwache Bindung hingegen kann zur Ineffektivität führen. D-Peptide wie D3, ANK3 und ANK6 wurden hinsichtlich ihrer Affinität zu A $\beta$ -Monomeren untersucht und ihre Affinität zu den Monomeren ermittelt<sup>250-252</sup>. Tabelle 13 stellt die inhibitorische Potenz und die Affinität der Substanzen dar und ermöglicht es Zielwerte für die Affinität zu A $\beta$ -Monomeren zu definieren.

Tabelle 13: Referenzwerte für A $\beta$ -Aggregations-Inhibitoren

Substanzbezeichnung	Aggregations-Inhibition [%] IC <sub>50</sub> [ $\mu$ M]	A $\beta$ <sub>1-42</sub> K <sub>D</sub> [ $\mu$ M]
D3	80 7,2	14
ANK3	100 Keine Angaben	7
ANK6	100 3,6	3
Zhang et al. 7i	68 Keine Angaben	Keine Angaben

*Aggregationsinhibition ermittelt in einen Thioflavin-T-Assay, Affinität zu A $\beta$ <sub>1-42</sub> ermittelt durch SPR-Spektroskopie<sup>249-252</sup>*

Affinitätswerte im niedrigen  $\mu$ M-Konzentrationsbereich führen zu einer effizienten Inhibition der A $\beta$ -Polymerbildung. Eine Bewertung der Affinitäten erfolgt aufgrund dieser Daten als sehr gut bei K<sub>D</sub>-Werten < 10  $\mu$ M, als gut bei K<sub>D</sub>-Werten 10-100  $\mu$ M und als moderat bei K<sub>D</sub>-Werten <100  $\mu$ M.

Zur Messung der Affinität zu A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Monomeren wurde eine Surface Plasmon Resonance (SPR)-Messung durchgeführt. A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Monomere wurden auf einem Cytiva Series S CM-5 Chip immobilisiert und verschiedene Konzentrationen (200  $\mu$ M-12,5  $\mu$ M) der Testsubstanzen vermessen. Als Ergebnis der Messungen wird ein Sensorgram erhalten. Die Werte aus dem Steady-State werden in ein Response-log(Konzentration)-Diagramm übertragen, und der K<sub>D</sub>-Wert ermittelt. Beispielhaft sind die Sensorgramme der Verbindungen **64** und **66** in Abbildung 39 dargestellt, daneben ist ein Sensorgram einer nicht bindenden Substanz (**52e**) gezeigt. Es wurden alle Verbindungen der Tabellen 7-13 auf Ihre Affinität zu A $\beta$ <sub>1-42</sub> getestet.

Die nachfolgende Darstellung erfolgt auszugswise anhand von Substanzen, die eine Affinität zu den  $A\beta_{1-42}$ -Monomeren zeigten und vergleichbaren Verbindungen ohne bestimmbare Affinität. Alle nicht dargestellten Verbindungen weisen keine bestimmbare Interaktion auf.

Tabelle 14 zeigt die Affinität zum  $hH_3R$  und zu  $A\beta_{1-42}$ -Monomeren von 2,5-Diketopiperazinen und C-substituierten Piperazinen. Es sind Substanzen mit und ohne Affinität zu  $A\beta_{1-42}$ -Monomeren dargestellt, um strukturelle Gemeinsamkeiten und Unterschiede erkennen zu können.

Tabelle 14: Affinität von 2,5-Diketopiperazinen und C-substituierten Piperazinen am  $hH_3R$  und  $A\beta_{1-42}$

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	$A\beta_{1-42}$ $K_D$ [ $\mu$ M]	$hH_3R$ $K_i$ [nM] (CI 95 %)
<b>52aL</b>		345,4	n.b.	74 (22-251)
<b>52d</b>		435,6	12600000,0	39 (15-97)
<b>52e</b>		576,8	n.b.	12,5 (3,7-42,2)
<b>67a</b>		317,5	n.b.	2,0 (0,4-8,9)
<b>67d</b>		407,6	n.b.	1,1 (0,4-3,4)
<b>67e</b>		548,8	17,6	1,1 (0,2-5,0)

$K_i$   $hH_3R$ :  $K_i$  als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze)  $n \geq 3$ ], [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>, n.b.: nicht bestimmbar

Die 2,5-Diketopiperazine zeigen nahezu keine Affinität zu  $A\beta_{1-42}$ . Verbindung **52d** deutet an, dass gewisse Strukturelemente, wie Phenylringe und Carbonylfunktionen, für die Interaktion hilfreich sein können. Mit 12,6 M Affinität kann hier jedoch nur eine sehr geringe Affinität bestimmt werden. Ungesättigte 2,5-Diketopiperazine **53-57** (Tabelle 8) zeigen keinerlei Interaktion mit den Monomeren.

Unter den zweifach reduzierten Verbindungen kann **67e** eine gute Affinität von 17,6  $\mu\text{M}$  aufweisen. Als Unterschiede zu **67a** und **67d** lässt sich ein weiteres basisches Zentrum und eine verlängerte Molekülstruktur herausarbeiten. **67e** kann dadurch mehr basische Amine, über eine größere Fläche für eine Interaktion aufweisen.

Tabelle 15:  $K_D$ -Werte z.  $A\beta$  (1-42),  $K_i$ -Werte z.  $hH3R$  von 2-Ketopiperazinen und  $N$ -substituierten Piperazinen

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	$A\beta$ (1-42) $K_D$ [M]	$hH3R$ $K_i$ [nM] (CI 95 %)
63		345,4	n.b.	2,8 (0,9-8,5)
65		435,6	n.b.	4,9 (2,6-9,0)
64		331,5	1570,0	4,9 (0,9-16,5)
66		421,6	51,6	11,3 (5,7-22,4)
70		426,9	n.b.	10,1 (7,2-14,1)
74		517,0	n.b.	1,5 (1,2-2,0)
73		494,5	n.b.	1,9 (0,8-4,9)
72		404,4	17,2	5,1 (1,5-17,6)
75		472,0	n.b.	2,2 (0,9-5,3)
76		494,5	n.b.	7,5 (3,6-15,4)

$K_i$   $hH3R$ :  $K_i$  als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-oberer Grenze)  $n \geq 3$ ],  $[\alpha]_D^{25}$ , n.b.: nicht bestimmbar

Sowohl in der Klasse der 2-Ketopiperazine als auch der *N*-substituierten Piperazine lassen sich moderate bis gute Affinitäten zu A $\beta$ <sub>1-42</sub> Monomeren messen. Anders als bei Verbindung **67e** zeigen die Verbindungen **64**, **66** und **72** sowohl Amin- als auch Amid-Strukturen. Reine Amid- (**63**, **65** und **75**) oder Amin- (**70** und **74**) Verbindungen zeigen keine Affinität. Amide als Wasserstoffbrückenbildner scheinen vorteilhaft für eine Interaktion mit den Monomeren zu sein. Die Benzylsubstitution von Verbindung **66** erhöht die Affinität um den Faktor 100 und gibt Anzeichen dafür, dass auch  $\pi$ -Elektronen Interaktionen wichtig für die Bindung zu A $\beta$ <sub>1-42</sub> ist.

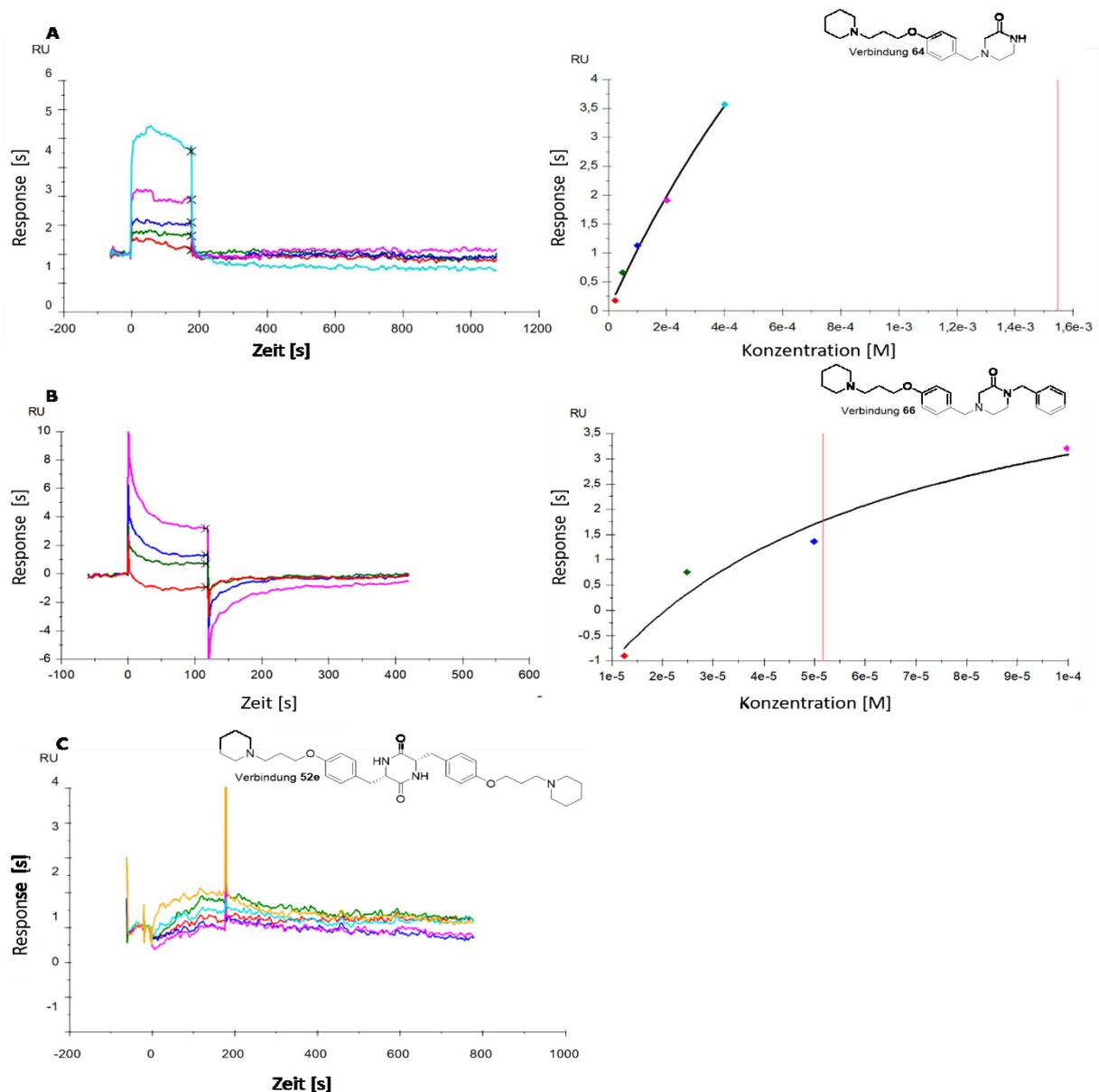


Abbildung 39: SPR-Sensorgramme und  $K_D$ -Plot von **A**: Verbindung **64**, **B**: Verbindung **66** und **C**: Verbindung **52e** ohne messbare A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Affinität

### 4.3 In-vivo-Testung von Verbindung 52e

Das 2,5-Diketopiperazin **52e** weist innerhalb der Gruppe der 2,5-Diketopiperazine (Verbindung der **52er**-Reihe) die höchste Affinität zum H<sub>3</sub>R auf. Um die unter Kapitel 3.1 postulierte, gute ZNS-Gängigkeit zu überprüfen, wurden In-vivo-Versuche mit männlichen Wistar-Ratten zum Futterverbrauch durchgeführt. Ein verminderter Futterverbrauch wird dabei einem Überschreiten der Blut-Hirnschranke und einer Antagonisierung des H<sub>3</sub>R zugeschrieben. Dabei haben Ratten an vier aufeinander folgenden Tagen 3 mg/kg Körpergewicht von Verbindung **52e** subkutan injiziert bekommen. Die Nahrungsaufnahme wurde dabei beobachtet. Als Vergleich dienten drei Tage vor der ersten Injektion. Am fünften Tag wurde eine letzte Dosis verabreicht und anschließend die Enzymaktivität bestimmt<sup>248</sup>. Die verminderte Nahrungsaufnahme ist auf eine Histamin-Freisetzung im ZNS zurückzuführen, die durch den H<sub>3</sub>-Antagonismus erzeugt wird. Durch Aktivierung des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors kommt es zu einer verminderten Nahrungsaufnahme. Verbindung **52e** konnte durch eine verminderte Futtermittelaufnahme zeigen, dass Verbindungen der Klasse der 2,5-Diketopiperazine die Blut-Hirnschranke überwinden können. Darüber hinaus wurde in einer post-mortem-Analyse der Enzymaktivität eine um 20 % geringere Aktivität der Histamin-N-Methyltransferase festgestellt (Abbildung 40)<sup>248</sup>.

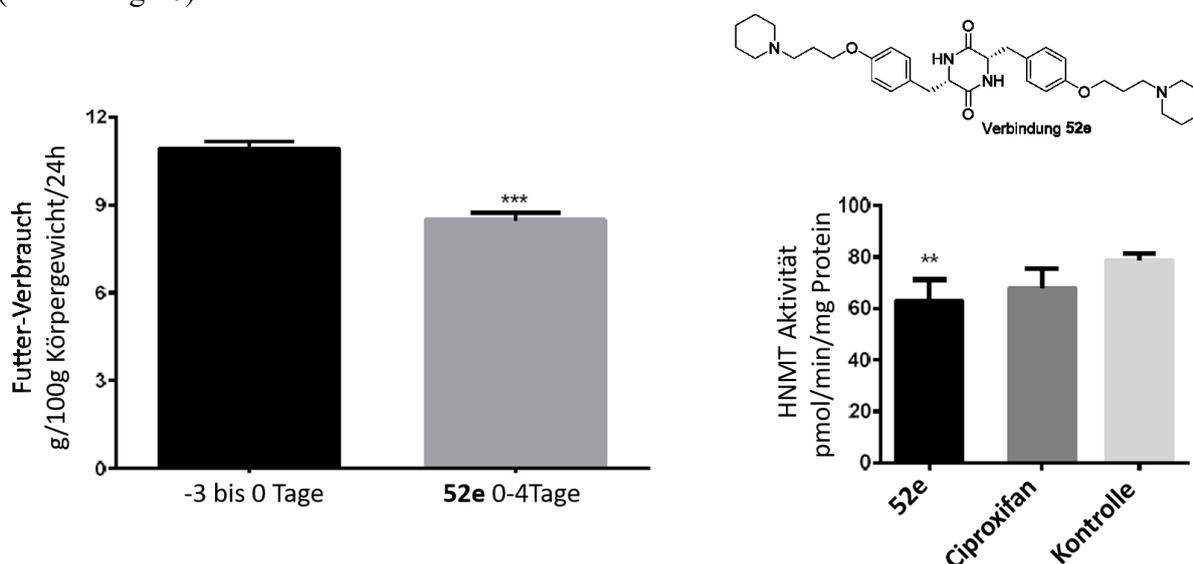


Abbildung 40: In-vivo-Ergebnisse von **52e**, \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ , Rattengewicht 180-250 g

(Die Untersuchungen wurden durchgeführt in der Arbeitsgruppe von Prof. Agnieszka Fogel, Lodz, Polen)

### 4.4 Testung der IGF<sub>1</sub>-Freisetzung

Zum Zeitpunkt der Dissertation lagen keine Ergebnisse über die Freisetzung von IGF<sub>1</sub> aus seinem Bindungsprotein IGF<sub>1</sub>BP<sub>3</sub> vor. Die Testungen sind noch ausstehend.

## 4.5 Dopamin-D<sub>2</sub>/ D<sub>3</sub>-Rezeptor

Die Affinität zum humanen D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R (hD<sub>2</sub>R/ hD<sub>3</sub>R) wurde durch ein Radioligand-Verdrängungsassay ermittelt. Als Radioligand wurde [<sup>3</sup>H] Spiperon verwendet und die rekombinanten hD<sub>2</sub>R und hD<sub>3</sub>R von CHO K1 Zellen gewonnen<sup>1,253</sup>. Die bestimmten Affinitäten sind als Mittelwerte mit einem 95 %-Konfidenzintervall (CI 95 %) angegeben. Die Verbindungen werden anhand ihrer K<sub>i</sub>-Mittelwerte als moderat (K<sub>i</sub>: 100-1000 nM), gut (K<sub>i</sub>: 10 nM-100 nM) und sehr gut (K<sub>i</sub>: <10 nM) bewertet. Als Grundlage dienen Vergleichswerte von bekannten D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Antagonisten, die in die Strukturentwicklung eingeflossen oder zur Therapie der Schizophrenie zugelassen sind<sup>187,209,253</sup>.

Zum Vergleich der Literaturwerte mit den in den Experimenten bestimmten K<sub>i</sub>-Werten, wurde Haloperidol als Referenzsubstanz vermessen und in Tabelle 16 und Tabelle 18 mit aufgeführt.

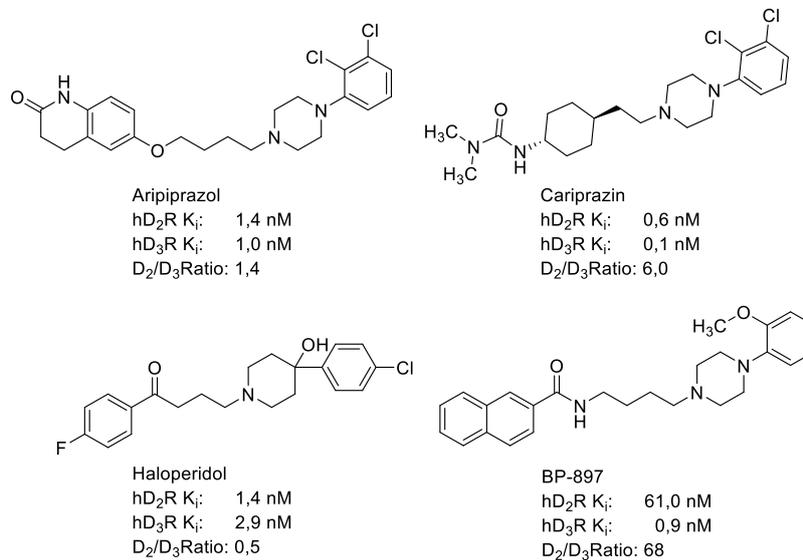


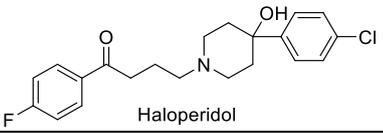
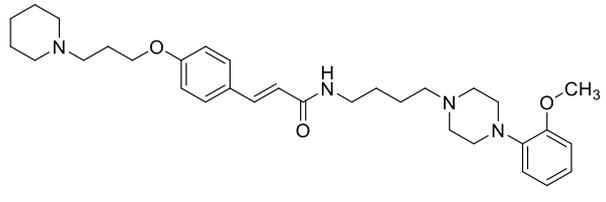
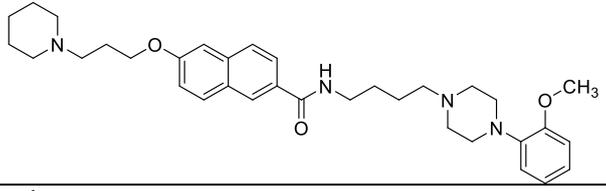
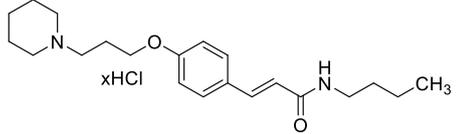
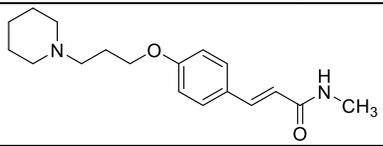
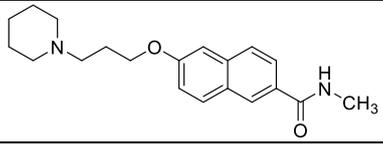
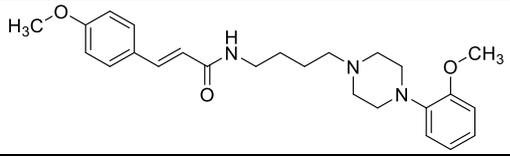
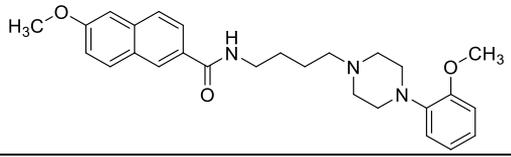
Abbildung 41: Literatur-Referenzwerte für die Affinität zum hD<sub>2</sub>R/ hD<sub>3</sub>R, angegeben als K<sub>i</sub>-Werte<sup>180,202,244</sup>

### 4.5.1 D<sub>2</sub>R- und D<sub>3</sub>R-Affinität von Methoxyphenyl-piperazinen

In Verbindung **100** und **101** wurden antagonistische Partialstrukturen von H<sub>3</sub>R und D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R kombiniert. Verbindung **102** und **103** stellen das reine Dopaminfragment und Verbindung **97-99** das reine Histaminfragment dar. Die monovalenten H<sub>3</sub>R-Antagonisten weisen, wie beschrieben, eine sehr gute Affinität zum Rezeptor auf. Auch die MTDL zeigen eine vergleichbar sehr gute Affinität; die Kombination konnte damit ohne einen Verlust an H<sub>3</sub>R-Affinität durchgeführt werden. Die D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Liganden **102** und **103** weisen eine hohe Bindungsstärke zu ihren Rezeptoren auf. Dabei zeigt Verbindung **102** mit einem D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>-Verhältnis (D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>-Ratio) von 84 eine höhere Präferenz zum D<sub>3</sub>R als Verbindung **103** mit einem D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>-Ratio von 40.

Die MTDL-Verbindungen **100** und **101** zeigen eine vergleichbar sehr gute D<sub>3</sub>R-Affinität. Die Affinität zum D<sub>2</sub>R nimmt dagegen zu, sodass sich die Präferenzen für den D<sub>3</sub>R verschlechtern. Verbindung **100** weist ein D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>-Ratio von 7,3 auf, Verbindung **101** eins von 9,9. In beiden Fällen konnten die Affinität zu den Rezeptoren erhalten werden, was zeigt, dass eine Verschmelzung der Pharmakophore gut gelungen ist.

Tabelle 16:  $K_i$  zum hH<sub>3</sub>R sowie  $K_i$  zum hD<sub>2</sub>R/ hD<sub>3</sub>R von hD<sub>2</sub>R/ hD<sub>3</sub>R-Antagonisten

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	hH <sub>3</sub> R $K_i$ [nM] (CI 95 %)	hD <sub>2</sub> R  hD <sub>3</sub> R $K_i$ [nM] (CI 95 %)	
	 Haloperidol	375,9		2,6 (2,0-3,4)	13,5 (10,4-17,4)
<b>100</b>		534,8	1,4 (0,8-2,4)	15,3 (8,7-26,8)	2,1 (1,1-4,0)
<b>101</b>		558,8	4,6 (2,1-10,2)	19,8 (8,5-46,1)	2,0 (0,7-6,1)
<b>97</b>	 xHCl	381,0	6,1 (3,8-10,0)	> 1000*	> 1000*
<b>98</b>		302,4	5,3 (2,1-13,7)	> 1000*	> 1000*
<b>99</b>		326,4	10,8 (2,7-43,1)	> 1000*	> 1000*
<b>102</b>		423,6	> 10000	63,0 (34,2-116)	0,75 (0,57-1,0)
<b>103</b>		447,6	> 10000	75,0 (35,8-157)	1,86 (0,73-4,71)

$K_i$  als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze)  $n \geq 3$  ], \*: Einpunktbestimmung 10  $\mu$ M Inhibition < 50 %

Verbindung **101** wurde auf die Selektivität zum hH<sub>1</sub>R, hD<sub>1</sub>R und hD<sub>5</sub>R, sowie die inhibitorischen Effekte auf AChE und BuChE getestet.

Tabelle 17: Rezeptor-Selektivität und Cholinesterase-Inhibition von Verbindung **101**

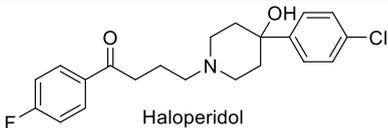
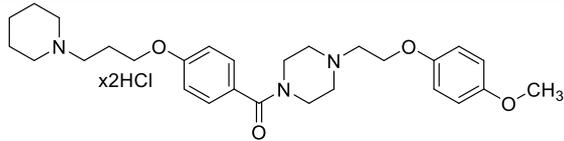
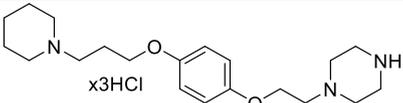
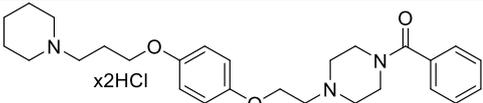
Nr.	hH <sub>1</sub> R K <sub>i</sub> [nM] (CI 95 %)	hD <sub>1</sub> R K <sub>i</sub> [nM] (CI 95 %)	hD <sub>5</sub> R K <sub>i</sub> [nM] (CI 95 %)	AChE- Inhibition [%]	BuChE- Inhibition [%]
<b>101</b>	85,2 (32,0-227)	564 (294-1084)	> 1000	≤ 60 [1 μM]	≤ 35 [1 μM]

K<sub>i</sub> als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze)]

Verbindung **101** weist ein gutes Selektivitätsprofil auf. Eine Inhibition von AChE und BuChE konnte hingegen nur teilweise festgestellt werden. Die Inhibition ist bei einer hohen **101**-Konzentration zu gering, um weitergehende Experimente durchzuführen.

#### 4.5.2 D<sub>2</sub>R- und D<sub>3</sub>R-Affinität von *para*-Alkoxy-phenoxy-ethyl-piperazinen

Tabelle 18: K<sub>i</sub> zum hH<sub>3</sub>R sowie K<sub>i</sub> zum hD<sub>2</sub>R/ hD<sub>3</sub>R von hD<sub>2</sub>R/ hD<sub>3</sub>R-Agonisten

Nr.	Struktur	MG [g/mol]	hH <sub>3</sub> R K <sub>i</sub> [nM] (CI 95 %)	hD <sub>2</sub> R  hD <sub>3</sub> R K <sub>i</sub> [nM] (CI 95 %)
	 Haloperidol	375,9		2,6 (2,0-3,4)   13,5 (10,4-17,4)
<b>104</b>	 x2HCl	379,0	7,7 (2,2-27,5)	> 1000*   > 1000*
<b>105</b>	 x3HCl	456,9	4,8 (0,8-27,6)	> 1000*   > 1000*
<b>106</b>	 x2HCl	524,5	8,2 (2,9-23,0)	> 1000*   > 1000*

K<sub>i</sub> als  $\bar{x}$  mit 95 %-Konfidenzintervall [(untere Grenze-obere Grenze)], \*: Einpunktbestimmung bei 10 μM Inhibition < 50 %

Die Verbindungen **104**, **105** und **106** zeigen eine sehr hohe H<sub>3</sub>R-Affinität. Zum D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R konnte hingegen nur eine sehr schlechte Affinität bestimmt werden, sodass keine weiteren Verbindungen dieser Klasse synthetisiert wurden.

### 4.5.3 In-vivo-Testung von Verbindung 101

In In-vivo-Versuchen mit Mäusen sollte der Einfluss der Verbindung **101** auf verschiedene schizophrenie-assoziierten Symptomatiken getestet werden. Als Testmäuse wurden hierzu BTRB- und B6-Mäuse ausgewählt. BTRB-(BTBR T+ tf/J Stamm)-Mäuse stellen ein genmodifiziertes Testmodell für autismus-assoziiertes Verhalten dar. Die Mäuse zeigen eingeschränkte Sozialinteraktion und autistische Verhaltensmuster. Daneben können kognitive Einschränkungen und ein erhöhtes Level an oxidativem Stress genutzt werden, externe Einflüsse zu untersuchen. Ergebnisse der Tests können aber auch auf schizophrenie-bedingte Symptomatiken übertragen werden. Als Kontrolle werden uneingeschränkte B6-Mäuse (B6C57BL/6 Stamm) untersucht<sup>254</sup>. (Die Untersuchungen wurden in der Arbeitsgruppe von Dr. Bassam Sadek, UAE durchgeführt)<sup>255</sup>.

#### 4.5.3.1 Y-Maze Test

Unter dem Y-Maze Test (engl. maze=Labyrinth) versteht man einen Test, der auf die kognitiven Fähigkeiten von Mäusen abzielt. Dabei wird die Maus in die Mitte eines dreiarmigen Labyrinths gesetzt und untersucht, in welchen der drei Gänge (A, B oder C) sie läuft. Gesunde Mäuse (B6) neigen dazu, alle Arme zu erkunden. Ein hohes Maß an spontaner Variation steht dabei für ein gutes Vermögen sich merken zu können, in welchem Arm die Maus gewesen ist und die Fähigkeit zu verarbeiten, dass sie einen anderen Arm untersuchen muss. Dies wird als ein Maß für eine gute bzw. intakte kognitive Leistung gewertet. Der Variationsindex wird als Quotient aus der Anzahl spontaner Variationen und der möglichen Variationen errechnet. Da eine Variation mindestens drei Eingänge bedarf, wird die Anzahl der Eintritte um zwei verringert und so die Zahl möglicher Variationen bestimmt<sup>256</sup>.

$$\text{Variationsindex} = \frac{\text{Zahl spontaner Variationen}}{(\text{Zahl der Eintritte} - 2)} * 100$$

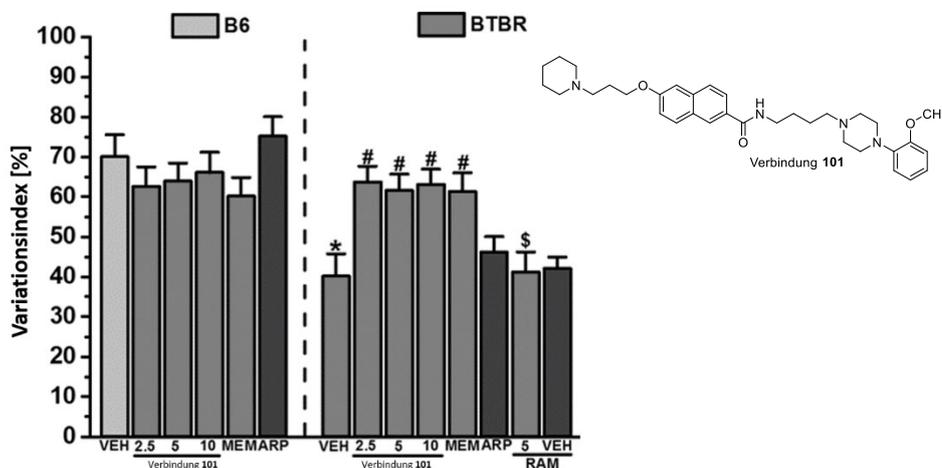


Abbildung 42: Variationsindex des Y-Maze-Test, VEH: Kontrolle MEM: Memantin, ARP: Aripiprazol, RAM: R- $\alpha$ -Methylhistamin, \*: signifikant zu B6 Mäusen, #: signifikant zur Kontrolle, \$: signifikant zu 101 mod. nach Sadek et. al<sup>247</sup>

Der Y-Maze-Test zeigt, dass Verbindung **101** einen prokognitiven Effekt hat. BTBR-Mäuse zeigen im Vergleich zu den gesunden B6-Mäusen einen signifikant verschlechterten Variationsindex. Durch die Behandlung von BTBR-Mäusen mit Verbindung **101** (ST-2223) konnte dieser signifikant verbessert werden. Auch das Antipsychotikum Aripiprazol und der NMDAR-Antagonist Memantin zeigen diesen Effekt. Die Gabe von R- $\alpha$ -Methylhistamin, einem H<sub>3</sub>R-Agonisten, verschlechtert den Index nach der Vorbehandlung durch Verbindung **101** wieder. Das zeigt, dass im Falle von Verbindung **101** der pro kognitive Effekt dem H<sub>3</sub>R-Antagonismus zuzuordnen ist.

#### 4.5.3.2 Open Field Test

Der Open Field Test (engl.: „Offenes Feld Test“) wird genutzt, um ängstliches Verhalten zu testen. Dabei werden Mäuse in ein unbekanntes offenes Testfeld gesetzt. Bewegungsmuster am Rand des Feldes werden mit Angst assoziiert, da die Mäuse hier Schutz suchen. Je größer die Zeit ist, die im Zentrum verbracht wird, desto weniger ängstlich ist das Tier. BTBR-Mäuse zeigen ein ängstliches Verhalten, sodass die Zeit innerhalb des Zentrums gegenüber den gesunden B6-Mäusen signifikant geringer ist<sup>257</sup>.

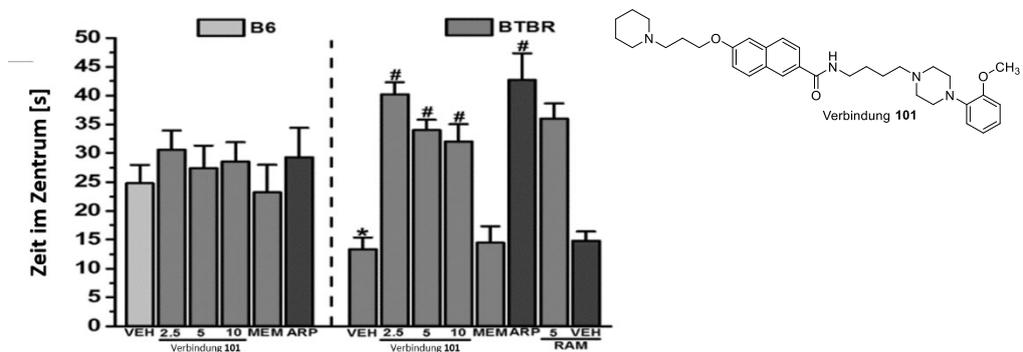


Abbildung 43: Zeit im Zentrum eines Open Field Tests, VEH: Kontrolle, MEM: Memantin, ARP: Aripiprazol, RAM: R- $\alpha$ -Methylhistamin, \*: signifikant zu B6 Mäusen, #: signifikant zur Kontrolle mod. nach Sadek et. al<sup>247</sup>

Die Zeit im Zentrum der BTBR-Mäuse ist gegenüber der Zeit von B6-Mäusen signifikant reduziert. Die Injektion von Verbindung **101** führt zu einer signifikant erhöhten Zeit im Zentrum und demnach zu einer verminderten Ängstlichkeit. Die Zugabe des Histamin-H<sub>3</sub>R-Agonisten N- $\alpha$ -Methylhistamin verändert diesen Zustand nicht. Daher scheint das weniger ängstliche Verhalten nicht durch die Antagonisierung des H<sub>3</sub>R erklärbar zu sein. Da auch Aripiprazol eine signifikant erhöhte Zeit im Zentrum aufweist, kann vermutet werden, dass die Interaktion mit dem D<sub>2</sub>R und D<sub>3</sub>R für die Unterschiede verantwortlich ist. Dieser Ansatz wird durch das Ausbleiben eines Effektes durch Memantin unterstrichen, da Memantin keine direkte D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Beeinflussung zeigt.

### 4.5.3.3 Level an oxidativem Stress

Neben Verhaltensversuchen wurde das Level von Malondialdehyd (MDA) als Marker für oxidativen Stress, sowie die Level an GSH, SOD und CAT als pro-antioxidative Spezies ermittelt. Ein erhöhtes Level an MDA und verminderte Level von GSH, SOD und CAT werden als Anzeichen für oxidativen Stress gewertet. Die Werte für die jeweiligen Level wurden in biochemischen Tests ermittelt. Dabei wurden vier ZNS-Areale separat ausgewertet: 1. das Zerebellum, 2. der Hippocampus, 3. der präfrontale Cortex und 4. das Striatum. Tabelle 19 fasst die ermittelten Werte der verschiedenen Marker in den ZNS-Arealen zusammen. Unterschiede werden zwischen B6-Mäusen und BTBR-Mäusen sowie zwischen den jeweiligen Interventionen bewertet.

Tabelle 19: Level an oxidativen und antioxidativen Spezies

	B6 (VEH)	BTBR				MEM (5 mg/kg)
		(VEH)	101 (5 mg/kg)	101 (5 mg/kg) + RAM (10 mg/kg)	ARP (1 mg/kg)	
<b>MDA</b>						
<i>Zerebellum</i>	29.94 ± 3.26	53.98 ± 6.41 <sup>##</sup>	35.18 ± 1.84 <sup>**</sup>	45.01 ± 0.63 <sup>SS</sup>	36.75 ± 1.79 <sup>***</sup>	26.68 ± 3.64 <sup>***</sup>
<i>Hippocampus</i>	35.05 ± 2.89	53.75 ± 2.86 <sup>##</sup>	38.14 ± 3.11 <sup>**</sup>	40.65 ± 3.28	32.93 ± 4.14 <sup>***</sup>	32.80 ± 3.42 <sup>***</sup>
<i>Präfrontal C.</i>	41.09 ± 6.95	58.31 ± 1.84 <sup>#</sup>	39.09 ± 3.15 <sup>***</sup>	53.58 ± 1.19 <sup>SS</sup>	42.97 ± 2.51 <sup>**</sup>	39.96 ± 5.65 <sup>**</sup>
<i>Striatum</i>	30.75 ± 4.14	52.68 ± 3.41 <sup>##</sup>	34.49 ± 5.51 <sup>*</sup>	51.42 ± 4.83 <sup>S</sup>	41.21 ± 1.42 <sup>*</sup>	32.55 ± 4.09 <sup>**</sup>
<b>GSH</b>						
<i>Zerebellum</i>	1560 ± 103.52	827 ± 93.32 <sup>##</sup>	1108 ± 41.06 <sup>*</sup>	1266 ± 70.16	1030 ± 36.18 <sup>*</sup>	877 ± 55.72
<i>Hippocampus</i>	2119 ± 425.08	1096 ± 16.66 <sup>#</sup>	916 ± 4.22	643.6 ± 49.92	611.5 ± 62.57 <sup>***</sup>	642.6 ± 66.01 <sup>***</sup>
<i>Präfrontal C.</i>	1776 ± 266.62	835 ± 97.43 <sup>#</sup>	1212 ± 302.55 <sup>*</sup>	1070.4 ± 64.80 <sup>S</sup>	935 ± 97.98	719.3 ± 49.98
<i>Striatum</i>	1128 ± 199.45	583 ± 68.81 <sup>#</sup>	1007 ± 93.05 <sup>*</sup>	735.5 ± 59.94 <sup>S</sup>	1139 ± 74.62 <sup>*</sup>	915.5 ± 97.33 <sup>*</sup>
<b>SOD</b>						
<i>Zerebellum</i>	60.56 ± 3.13	49.70 ± 1.32 <sup>#</sup>	64.28 ± 1.00 <sup>***</sup>	49.19 ± 1.96 <sup>SS</sup>	56.43 ± 1.05 <sup>**</sup>	64.38 ± 3.10 <sup>**</sup>
<i>Hippocampus</i>	66.35 ± 5.40	49.47 ± 0.54 <sup>#</sup>	48.12 ± 4.20	39.50 ± 0.47 <sup>SS</sup>	51.79 ± 2.04	41.44 ± 3.42
<i>Präfrontal C.</i>	53.75 ± 2.19	45.09 ± 2.77 <sup>#</sup>	43.23 ± 3.41	42.87 ± 4.23	54.02 ± 5.20 <sup>**</sup>	44.91 ± 2.23
<i>Striatum</i>	68.53 ± 4.70	51.79 ± 1.19 <sup>#</sup>	51.16 ± 7.68	45.04 ± 1.04	65.68 ± 7.69 <sup>**</sup>	66.47 ± 4.43 <sup>**</sup>
<b>CAT</b>						
<i>Zerebellum</i>	156.74 ± 7.29	130.67 ± 3.28 <sup>#</sup>	120.63 ± 8.81	153.29 ± 5.36	159.16 ± 5.11 <sup>**</sup>	132.27 ± 4.52
<i>Hippocampus</i>	131.67 ± 3.36	111.40 ± 4.76 <sup>#</sup>	173.04 ± 1.91 <sup>*</sup>	100.57 ± 3.61 <sup>SS</sup>	118.31 ± 6.46	114.26 ± 11.18
<i>Präfrontal C.</i>	130.34 ± 9.35	80.12 ± 14.90 <sup>#</sup>	116.84 ± 5.27 <sup>*</sup>	70.89 ± 3.91 <sup>S</sup>	96.15 ± 1.28	94.14 ± 4.76
<i>Striatum</i>	117.74 ± 2.49	104.60 ± 2.28 <sup>#</sup>	119.14 ± 3.73 <sup>*</sup>	75.95 ± 9.34 <sup>SS</sup>	120.51 ± 10.07 <sup>*</sup>	108.13 ± 3.42

*n*=3-6  $\bar{X} \pm SEM$  VEH: Kontrolle, MEM: Memantin, ARP: Aripiprazol, RAM: R- $\alpha$ -Methylhistamin, MDA: Malondialdehyd [ $\mu M/mg$ ], GSH: Glutathion [ $\mu M/mg$ ], SOD: Superoxid-Dismutase [ $\mu M/min/mg$ ], CAT: Katalase [ $\mu M/min/mg$ ], <sup>#</sup>: signifikant zu B6 Mäusen, <sup>\*</sup>: signifikant zu BTBR Mäusen <sup>S</sup>: signifikant zur 101 Behandlung nach Sadek et al<sup>247</sup>

BTBR-Mäuse zeigen gegenüber B6-Mäusen ein erhöhtes Maß an oxidativem Stress, was durch ein erhöhtes Level an MDA und ein vermindertes Level von GSH, SOD und CAT deutlich wird. Durch die Behandlung mit Verbindung 101, Memantin und Aripiprazol konnten jeweils die MDA-Level gesenkt und die GSH-, SOD- und CAT-Level erhöht werden. Dies ist ein Anzeichen für den Ausgleich der oxidativen Stressbedingungen durch die drei Substanzen. Diese lassen sich demnach als pro-antioxidativ bewerten, da sie die Konzentration antioxidativer Spezies erhöhen.



## 5 Diskussion

### 5.1 MTDL für die Therapie von Morbus Alzheimer

Die von der Leitstruktur ausgehenden 2,5-Diketopiperazine zeigen mäßige bis gute Affinitäten zum H<sub>3</sub>R. Verbindungen **52d** und **52e** zeigen, dass ein weiterer Phenylsubstituent bessere Affinitäten liefert als rein aliphatische Gruppen wie bei Verbindung **52b, c**. Die als Leitstruktur definierten Verbindungen **52f** und **52g** liefern gute Affinitäten (Abbildung 44).

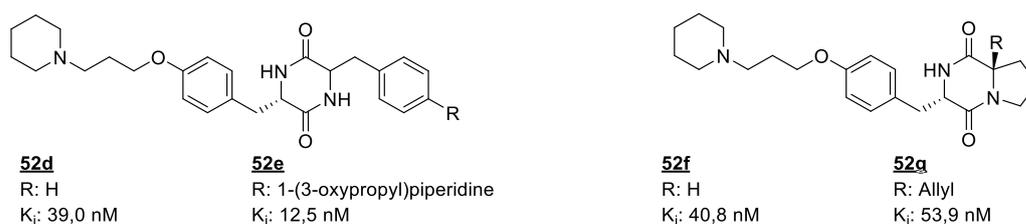


Abbildung 44: Ausgewählte 2,5-Diketopiperazine und K<sub>i</sub>-Werte am hH<sub>3</sub>R

Auch wenn zwischen den einzelnen Verbindungen nicht immer signifikante Unterschiede messbar sind, zeigt sich, dass die unvorteilhafte gestapelte Konformation einen Einfluss auf die Affinität hat. Im Vergleich von Verbindung **52e** mit Verbindung **52b** und **52c** kann der Vorteil der Dimerstruktur auf die Rezeptoraffinität gut beleuchtet werden. In der Ausbildung einer gestapelten Konformation, in der der Phenylring über den Diketopiperazinring gelagert ist, ergeben sich bei Verbindung **52b** und **52c** große raumfüllende Strukturen (Abbildung 45). Auch in Verbindung **52e** wird diese vermutlich durch einen Teil der Struktur ausgebildet. Für die Rezeptorinteraktion steht jedoch noch ein zweites H<sub>3</sub>R-Pharmakophor zur Verfügung, sodass eine gute Bindung erfolgen kann. Innerhalb der H<sub>3</sub>R-Bindetasche wird vermutlich eine Interaktion mit E5.46 (GLU206) über eine ionische Bindung mit der Aminkomponente des Liganden erfolgen (vergl. 1.2.4)<sup>160,258</sup>. Diese Voraussetzung scheinen auch die weniger affinen Substanzen zu liefern, da sonst deutlich schlechtere Affinitäten gemessen worden wären. Stabilisierende Effekte wie Kation- $\pi$ - oder  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen mit dem Phenylring, wie sie für eine Reihe an gut bindenden Substanzen beschrieben sind<sup>158</sup>, können durch die intramolekulare Interaktion jedoch nicht ausgebildet werden. Die Induzierte-Dipol-Dipol-Wechselwirkung<sup>259</sup> (vergl. 3.3.2) stellt damit eine Konkurrenz zur Rezeptorbindung dar und vermindert die Affinität. Zusätzlich verschlechtert die angesprochene raumfüllende Struktur die Bindung in den Rezeptor. Wie genau die Bindungsmodalitäten der Verbindung sind, kann aufgrund der Affinität nicht endgültig beschrieben werden; hierzu müssten weitergehende Molecular-Modelling oder Kristallisationsstudien erfolgen.

Die deutlich verbesserte Affinität der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazine **52-57** unterstützt die formulierte Hypothese. Durch die Doppelbindung zwischen Phenyl- und 2,5-Diketopiperazinring wird beides in derselben Ebene fixiert (Abbildung 45). Eine intramolekulare Interaktion der Ringsysteme wird dadurch unterbunden und die Konkurrenz zur Rezeptorbindung erlischt.

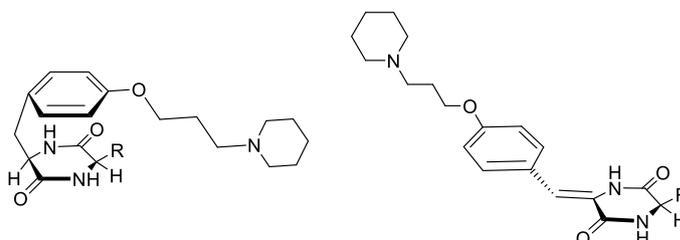


Abbildung 45: Gestapelte Struktur von 2,5-Diketopiperazinen und die planar fixierte Struktur ungesättigter 2,5-Diketopiperazine

Der Einfluss der  $\pi$ -Elektronen-Wechselwirkungen zwischen Rezeptor und Ligand zeigt sich auch innerhalb der Gruppe. Verbindung **55** zeigt mit 22,3 nM die geringste Affinität (Abbildung 46), in der Gruppe der ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen, da die weiteren Analoga eine Affinität von  $< 5,0$  nM zeigen. Die geringere Affinität von Verbindung **55** ist auf das Fehlen eines  $\pi$ -Elektronensystems im rechten Teil des Moleküls zurückzuführen. Sowohl Verbindung **53** mit einer Carbonylfunktionalität als auch Verbindung **57** mit einem Phenylsubstituenten und Verbindung **56** mit beiden Strukturelementen, zeigen erhöhte Affinitäten.

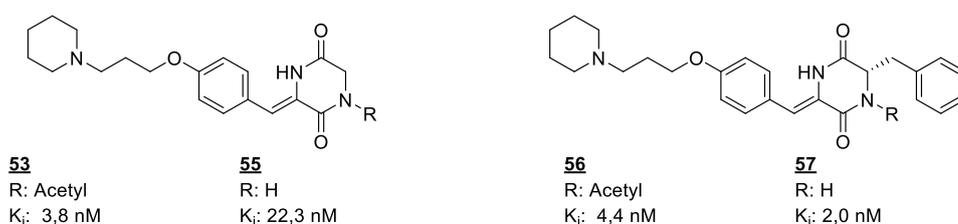


Abbildung 46: Ausgewählte  $\alpha,\beta$ -ungesättigte 2,5-Diketopiperazine und deren Affinität zum  $hH_3R$

Die Verbindungen **58** und **60** (Abbildung 47) sind formal gesehen die einfach, selektiv reduzierten Derivate von Verbindung **52f**. Die selektive Reduktion war ausgehend von Verbindung **52f** nicht möglich, sodass, wie beschrieben, ein anderer Syntheseweg gewählt wurde (vergl. 3.5.1). Strukturell lässt sich anhand dieser Substanzen gut der Einfluss des Einbringens eines zweiten basischen Zentrums untersuchen. Verbindungen wie JNJ-520752 (vergl. 1.2.4.2) und weitere Substanzen konnten zeigen, dass ein zweites basisches Zentrum die Affinität zum  $H_3R$  deutlich erhöhen kann (vergl. 1.2.4.2). Diskutiert wird hierfür eine weitere ionische Wechselwirkung mit D3.32 (Asp114) wie sie auch der physiologische Ligand Histamin zeigt<sup>177,260</sup>.

Die tendenziell stärkere Affinität von Verbindung **60** und die signifikant stärkere Affinität von Verbindung **58** gegenüber den 2,5-Diketopiperazinen bestätigen die Annahme, dass ein zweites Amin die hH<sub>3</sub>R-Affinität erhöht. Im Vergleich innerhalb der Gruppe der 2-Ketopiperazinen kann diese Annahme jedoch nicht bestätigt werden. So zeigt Verbindung **60** verglichen mit Verbindung **63** keine höhere Affinität, obwohl sie keine zweite basische Gruppe beinhaltet.

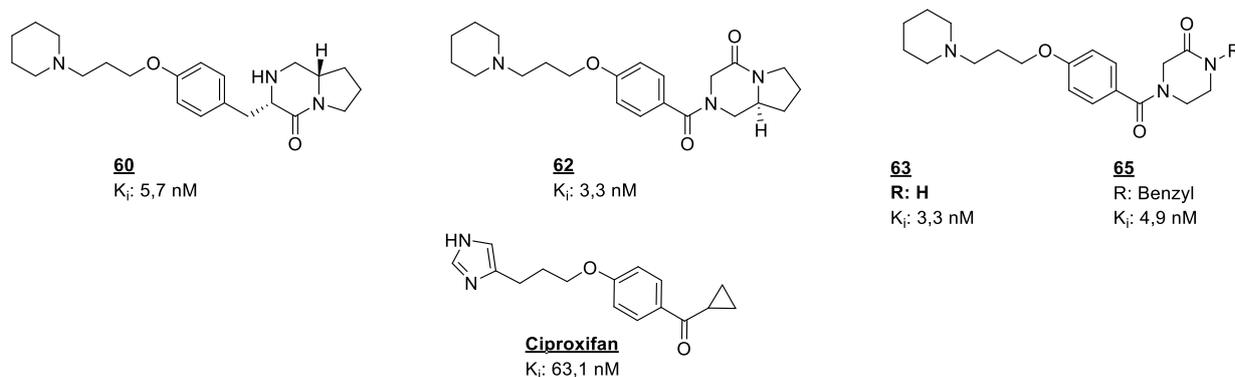


Abbildung 47: Ausgewählte 2-Ketopiperazine und Ciproxifan mit  $K_i$ -Wert zum hH<sub>3</sub>R

Ein Grund hierfür ist, dass Carbonylverbindungen wie z.B. Ciproxifan in der Lage sind, die fehlende ionische Interaktion mit einer Wasserstoffbrückenbindung zu kompensieren. Die Wasserstoffbrücke kann dabei in Verbindung **63** sowohl vom tertiären als auch vom sekundären Amid ausgebildet werden. Im Fall des sekundären Amids kann sowohl eine Akzeptor- als auch eine Donorfunktion ausgeübt werden. Verglichen mit Verbindung **65** scheint die Donorfunktion jedoch einen weniger starken Einfluss auf die Bindungsstärke zu haben, da keine Affinitätsunterschiede zwischen den Verbindungen **63** und **65** bestimmbar sind. In der H<sub>3</sub>R-Liganden-Bindetasche wurde als vermutliche H-Brücken-Donorstruktur, für Ciproxifan und vergleichbare Strukturen Y6.51 (Tyr189) identifiziert<sup>158,159,261</sup>.

Die subnanomolare Affinität von Verbindung **58** mit 0,5 nM ( $pK_i$ : 9,23) zeigt, dass die Kombination beider Interaktionen eine erhöhte Affinität liefern kann. Die Positionierung der jeweiligen Gruppen im Molekül ist dabei nicht zu vernachlässigen, wenn man Verbindung **68** (Abbildung 49) mit einbezieht, die eine schlechtere Affinität aufweist, obwohl die strukturellen Gegebenheiten sehr ähnlich sind. Zwei hypothetische Bindungsposen sind in Abbildung 48 gezeigt. Dabei kann Verbindung **58** in zwei spiegelbildlichen Positionen in der Bindetasche stabilisiert werden.

Abbildung 48 zeigt Verbindung **58** als eine Heterodimeren- $H_3R$ -Liganden-Struktur, wobei beide Enden des Moleküls sowohl als 1. Basisches Zentrum, als auch als 2. Heteroatom-Gruppe agieren können (vergl. 1.2.4.2).

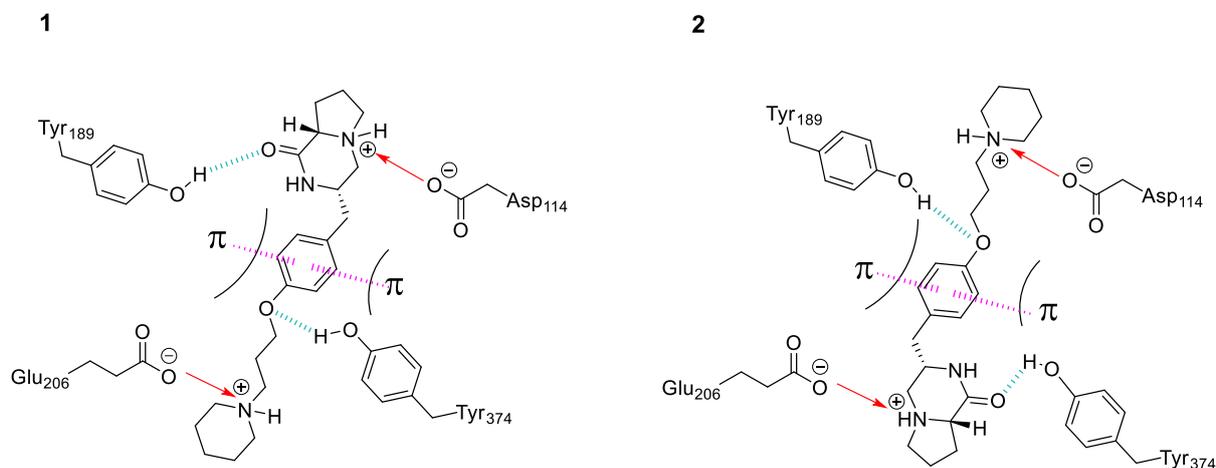


Abbildung 48: Vorgeschlagene Interaktion in der  $H_3R$ -Bindetasche von Verbindung **58**, cyan: H-Brücke, rot: ionische Wechselwirkung, pink:  $\pi$ - $\pi$ -Interaktion. (aus Vorarbeiten abgeleitet; nicht durch Docking-Studien ermittelt<sup>143,159,262</sup>)

Die weiteren 2-Monoketopiperazine **60-66** (Tabelle 9 in Kapitel 4.1.3) zeigen sehr gute Affinitäten, da entweder Carbonylstrukturen für Wasserstoffbrücken oder Amine für ionische Bindungen zur Verfügung stehen.

Auf die Affinität zum  $H_3R$  zeigen sich C-substituierte Piperazine (Verbindung **67a, d, e, f** und **68**; Abbildung 49) als eine homogene Strukturklasse, mit sehr hohen Affinitäten zum  $H_3R$  durch  $K_i$  Werte  $\leq 2,0$  nM. Die Einführung einer weiteren protonierbaren Funktion zeigt, verglichen mit den 2-Ketopiperazinen, keinen Einfluss auf die Affinität zum Rezeptor. Die Affinitäten bleiben vergleichbar hoch. Auch die C-substituierten Piperazine, wie Verbindung **58** zeigen, eine Heterodimere-Struktur.

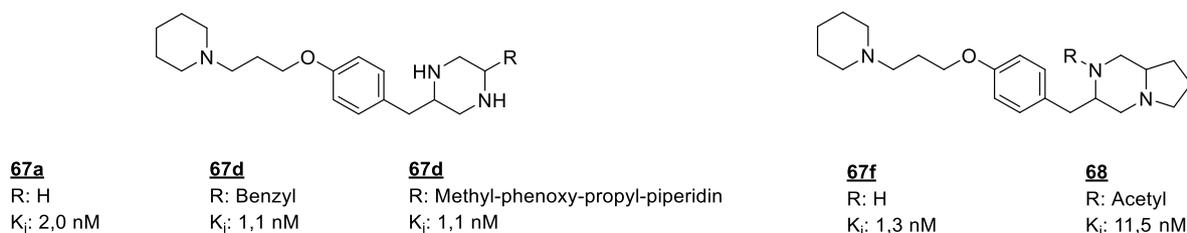


Abbildung 49: C-substituierte Piperazine mit  $K_i$ -Wert zum  $hH_3R$

Die Möglichkeit, in verschiedener Weise in der Liganden-Bindetasche des H<sub>3</sub>R stabilisiert zu werden, ermöglicht eine starke Bindung zum Rezeptor. Verbindung **68** ist, wie beschrieben, strukturell sehr stark mit Verbindung **58** verwandt. Die Bindungsstärke ist mit 11,5 nM zwar als gut zu bewerten, im Vergleich zu **58** und der **57er-Reihe** ist sie jedoch schwächer.

Die große Gruppe der *N*-substituierten Piperazine lässt sich aufgrund ihrer Strukturen in zwei Untergruppen aufteilen. Die erste Gruppe umfasst die Verbindungen **70**, **72-76**, **78** und **79**. Diese Verbindungen tragen im östlichen Teil der Moleküle einen Benzyl- oder Benzoylsubstituenten. Die zweite Gruppe ist mit der Aminosäure L-Prolin substituierte Verbindungen **78-82**, **86** und **87**. Diese Strukturen sollen offenkettige Varianten von NNZ-2591 darstellen und sind von Vorläufern wie Trofinitid® (NNZ-2256) und Glypromat® abgeleitet (vergl. 1.1.2.2). Der Vergleich der Gruppen untereinander und innerhalb der Gruppe zeigt keine Unterschiede hinsichtlich der Affinität zum H<sub>3</sub>R. Alle Verbindungen liefern gute bis sehr gute Bindungsstärken. Das gemeinsame Strukturelement ist in Abbildung 50 dargestellt.

	X:	CH <sub>2</sub>	C=O
R:		K <sub>i</sub> [nM]	K <sub>i</sub> [nM]
H		10,1	5,1
Benzyl		1,5	1,9
Benzoyl		1,9	2,2
L-Prolyl		13,7	5,4
<i>N</i> -Glycyl-L-prolyl		9,6	12,1
<i>N</i> -Acetyl-L-prolyl		3,6	
<i>N</i> -Allyl-L-prolyl		5,6	
<i>N</i> -Propagyl-L-prolyl		6,0	

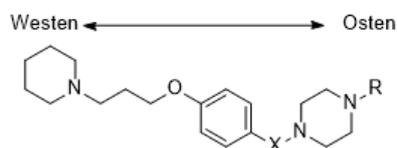


Abbildung 50: Gemeinsames Strukturmerkmal der *N*-substituierten Piperazine

Durch die oben bereits beschriebenen Interaktionen in der H<sub>3</sub>R-Bindetasche, kommt es zu einer Bindung, die durch die Substituenten im östlichen Teil weder verstärkt noch abgeschwächt wird. Damit eignet sich das Element hervorragend für MTDL-Ansätze, da über das freie Amin des Piperazin eine Vielzahl anderer Pharmakophore gebunden werden kann. Die verminderte Affinität der direkten Verknüpfung vom H<sub>3</sub>R-Element mit Prolin führt indes zu einer Verschlechterung der Affinität wie in Verbindung **88** und **89** (Tabelle 11, Kapitel 4.1.5) zu sehen.

Die Robustheit des beschriebenen Pharmakophors kann auf die Ergebnisse der Verbindungen **91-99** auf Zimtsäure- und Napthoesäurederivate übertragen werden. Amide sind pharmakologisch den Aminen vorzuziehen. Studien zeigen, dass basische bzw. kationische Verbindungen mit einem starken lipophilen Charakter unerwünschte Nebenwirkungen durch Phospholipidose erzeugen. Folgen können unter anderem eine pulmonale Dysfunktion sein<sup>263</sup>. Hinsichtlich der Drug-Likeness lässt sich so ein erweitertes Pharmakophor für MTDL mit robuster H<sub>3</sub>R-Affinität formulieren, wie es in Abbildung 51 gezeigt ist.

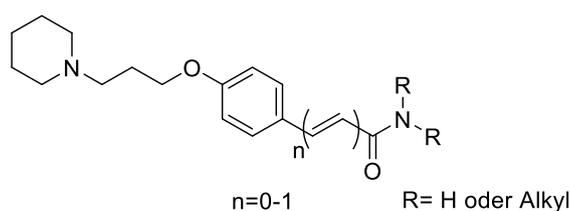
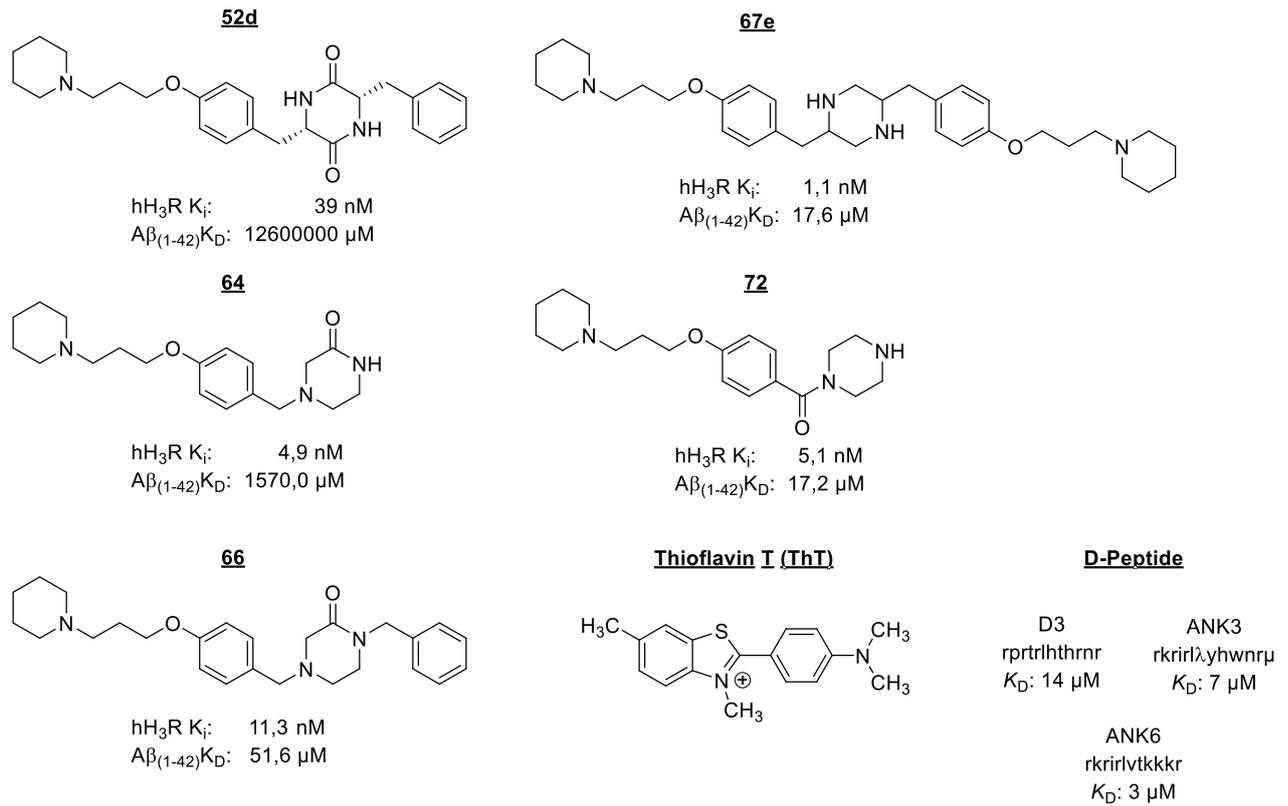


Abbildung 51: Erweitertes H<sub>3</sub>R-Pharmakophor für MTDL

Die Liganden sind zunächst nur auf ihre Affinität zum H<sub>3</sub>R untersucht worden. Funktionelle Studien wurden noch nicht durchgeführt. Aufgrund der Vergleichbarkeit der Pharmakophore mit den Leitsubstanzen Pitolisant und JNJ-520752 kann aber davon ausgegangen werden, dass sich die Substanzen als Antagonisten verhalten werden. Diese Annahme kann durch eine Vielzahl weiterer vergleichbarer Substanzen unterstützt werden<sup>140,143,220</sup>.

Die Bestimmung der Affinität zu den  $\beta$ -Amyloid-Monomeren lieferte eine Verminderung an möglichen MTDL. Aus den getesteten Verbindungen konnten nur fünf eine messbare Interaktion zeigen (Abbildung 52). Verbindung **52d** zeigte mit einer Affinität im molaren Bereich eine vernachlässigbar geringe Affinität.

Die Verbindungen **64**, **66**, **67e** und **72** zeigen moderate und gute Affinitäten zu den A $\beta$ <sub>1-42</sub>-Monomeren und weisen dabei strukturelle Gemeinsamkeiten auf. Allegemein sind mindestens zwei protonierbare Amine, sowie  $\pi$ -Elektronensysteme in Form von Carbonylstrukturen und/oder Phenylringen. Dass lipophile Verbindungen mit kationischen Elementen die Fähigkeit besitzen, mit A $\beta$ -Strukturen interagieren zu können, wurde durch Studien an Thioflavin T (ThT) und den D-Peptid Strukturen D3, ANK3 und ANK6 gezeigt<sup>210,264</sup>. Amine weisen gegenüber permanenten Ammonium-Verbindungen den Vorteil auf, dass sie die Blut-Hirn-Schranke als nicht geladene Struktur überwinden und im ZNS durch Protonierung als Kationen agieren können.



**Aminosäuresequenz von Aβ<sub>(1-42)</sub>**



Abbildung 52: Struktur und Affinitäten der Aβ<sub>(1-42)</sub>-interagierenden Strukturen, Thioflavin T und die Aminosäuresequenz von Aβ<sub>(1-42)</sub> rot: Säure, blau: Base, pink: Aromat, cyan: H-Brückendonator

Die Interaktionen, die zwischen Ligand und Aβ<sub>(1-42)</sub> stattfinden können, sind in Tabelle 20 dargestellt. Neben den gezeigten Interaktionen finden im Bereich der aliphatischen, unpolaren Aminosäuren (schwarz in Abbildung 52) unspezifische lipophile Wechselwirkungen über Van-der-Waals-Kräfte statt.

Tabelle 20: Mögliche Interaktionen zwischen Ligand und Aβ<sub>(1-42)</sub>

Ligand-Strukturelement	Aβ <sub>(1-42)</sub> -Strukturelement	Interaktionsart
Protoniertes Amin/ Kation	Glutaminsäure (D) Asparaginsäure (E)	Salzbrücke
π-Elektronen	Phenylalanin (F) Tyrosin (Y)	π-π
π-Elektronen	Lysin (K) Arginin (R)	Kationen-π
Freie Elektronenpaare (Carbonyl)	Tyrosin (Y) Serin (S)	H-Brücke

Die meisten der synthetisierten Verbindungen beinhalten die gefundenen, strukturellen Gemeinsamkeiten. Es stellt sich die Frage, warum die meisten Verbindungen jedoch keinerlei Affinität zu den A $\beta$ <sub>(1-40)</sub>-Monomeren aufweisen. Basische Gruppen und Phenylringe können als alleinige Interaktionspartner diese Datenlage nicht erklären. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte darin liegen, dass eine Bindung an distinkten Positionen stattfindet. Alle drei verschiedenen Substanzklassen (Verbindung **64** und **66** sind Substanzen derselben Klasse) hätten demnach eine eigene Bindungsregion, sodass Effekte der einen nicht auf die andere Klasse übertragen werden kann. So ließe sich erklären, dass die Affinität von Verbindung **66** gegenüber der Verbindung **64** durch die Einführung eines Phenylrings um den Faktor 100 steigt. Verbindung **72** zeigt hingegen einen gegenläufigen Effekt, da eine Benzylsubstitution zu einem Affinitätsverlust führt (Verbindung **75** und **76** zeigen keine Affinität, vergl. Tabelle 15). Verbindung **67e** zeigt ein weiteres abweichendes Bindungsverhalten. Räumlich weitgetrennte Amine führen zu ionische Interaktionsmöglichkeiten über eine breitere Fläche entlang des A $\beta$ -Peptids und stabilisieren darüber die Bindung von **67e** an A $\beta$ <sub>1-42</sub>.

Strukturanalytisch lässt sich am besten auf den Verbindungen **64** und **66** aufbauen, da hier Strukturänderung und Affinitätsänderung nachvollziehbar sind. Die Bindung über ionische Wechselwirkungen der Amine von **64** und **66** mit Glutamin- und Asparaginsäuren des A $\beta$ -Peptids, wird durch  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen und Kationen- $\pi$ -Interaktionen verstärkt. Der N-terminale Teil des A $\beta$ <sub>1-42</sub>Monomers weist hierfür nötige Strukturelemente auf, da sowohl saure und aromatische als auch basische Aminosäuren vorkommen (Abbildung 52). Durch das Einbringen eines weiteren Phenylrings (Verbindung **66**) werden vermehrt  $\pi$ -Wechselwirkungen möglich und die Bindung wird stabilisiert.

Die Verbindungen zeigen, dass sich das H<sub>3</sub>R-Pharmakophor in einen Liganden mit Affinität zu A $\beta$ -Strukturen einbringen lässt. Eine Targetkombination aus H<sub>3</sub>R und A $\beta$ , wie sie in der Zielsetzung beschrieben ist, konnte erfolgreich umgesetzt werden.

Ob die gewünschte Integration des dritten Targets, der IGF<sub>1</sub>-Homöostase möglich ist, kann nicht abschließend erklärt werden, da nötige Testergebnisse hierfür noch ausstehen. Die Liganden, die mit NNZ-2591 die größte Übereinstimmung haben, zeigen jedoch keine Affinität zu den A $\beta$ -Strukturen. Auch ohne Testergebnisse bleibt so bereits ein begründeter Zweifel, ob die Kombination aller drei gewünschter Zielstrukturen möglich ist.

Die H<sub>3</sub>R-Affinitäten der prolinbasierten Substanzen sind mehr als vielversprechend und zeigen mit Verbindung **58** die höchste Affinität aller hier synthetisierten Verbindungen. Eine Untersuchung des Einflusses auf die IGF<sub>1</sub>-Konzentration und damit einen potenziell kurativen Effekt auf Morbus Alzheimer sollte in jedem Fall erfolgen.

## 5.2 MTDL für die Therapie der Schizophrenie

Die Analyse der „Morbus-Alzheimer-Substanzen“ (vergl. 5.1) lieferte, wie oben beschrieben, ein belastbares H<sub>3</sub>R-Antagonisten-Pharmakophor für MTDL. Die Kombination mit dem cariprazin- und aripiprazolverwandten Strukturelement „*N*-Butyl-Phenoxymethylpiperazin“ (vergl. 1.3.4) liefert MTDL für H<sub>3</sub>R-Antagonisten und D<sub>2</sub>/ D<sub>3</sub>R-Antagonisten bzw. partielle Agonisten. Der Vergleich der Einzelstrukturen **97-99** (H<sub>3</sub>R) und **102** und **103** (D<sub>2</sub>/ D<sub>3</sub>R) mit den MTDL **100** und **101** zeigt, dass eine Kombination der Pharmakophore möglich ist. Die D<sub>3</sub>R-Präferenz, die für Cariprazin als Grund vorteilhafter klinischer Effekte diskutiert wird (1.1.3.2), wurde durch die Verschmelzung vermindert, liegt aber im Bereich der Leitstrukturen (Abbildung 53)<sup>1</sup>. Die Präferenz für den D<sub>3</sub>R wird durch die Adressierung der zweiten Bindetasche (SBP vergl. 1.3.4) erzeugt<sup>207</sup>. Das Piperazinfragment bindet sowohl im D<sub>2</sub>R als auch im D<sub>3</sub>R in die orthosterische Bindetasche, wie auch der physiologische Ligand, ohne Piperazin-Motiv, Dopamin.

Hier kommt es zur ionischen Wechselwirkung mit D3.32 (Asp114/ Asp110), die maßgeblich für die Bindung ist. Eine Selektivität lässt sich über die OBS nicht erreichen, da diese in beiden Rezeptorsubtypen nahezu identisch ist<sup>265,266</sup>. Über eine Verknüpfung von vier Kohlenstoffatomen wird die SBP des D<sub>3</sub>R erreicht. Diese lipophile Bindetasche erhöht die Rezeptoraffinität durch stabilisierende Interaktionen mit aromatischen Gruppen des Liganden<sup>267</sup>.

Zimtsäure- und Napthoesäurederivate konnten als aromatisches Element bereits sehr gute Affinitäten und Selektivitäten liefern<sup>206</sup>. Verbindungen **102** und **103** bestätigen die Tauglichkeit der aromatischen Komponente. Die verminderte Selektivität der Substanzen wird durch eine erhöhte D<sub>2</sub>R-Affinität erzeugt. Warum sich die Affinität zum D<sub>2</sub>R verbessert und die D<sub>3</sub>R-Affinität unverändert bleibt, kann noch nicht abschließend geklärt werden. Verminderte stabilisierende Effekte in der SBP müssten die D<sub>3</sub>R-Affinität beeinflussen. Zusätzliche Interaktionen des Piperidins sowohl im D<sub>2</sub>R als auch im D<sub>3</sub>R könnten als Erklärungsansatz dienen. Eine andere Erklärung könnte die Interaktion mit einer neuen SBP sein, die durch das Piperidin, in beiden Dopaminrezeptoren adressiert werden kann. Die Notwendigkeit der aromatischen Substitution ist sowohl für D<sub>3</sub>R als auch für H<sub>3</sub>R (vergl. 5.1) gezeigt worden.

Die Zimt- bzw. Naphtoesäure ist damit nicht ein reines Verbindungsglied zwischen den Pharmakophoren, sondern ein Element in beiden Pharmakophoren.

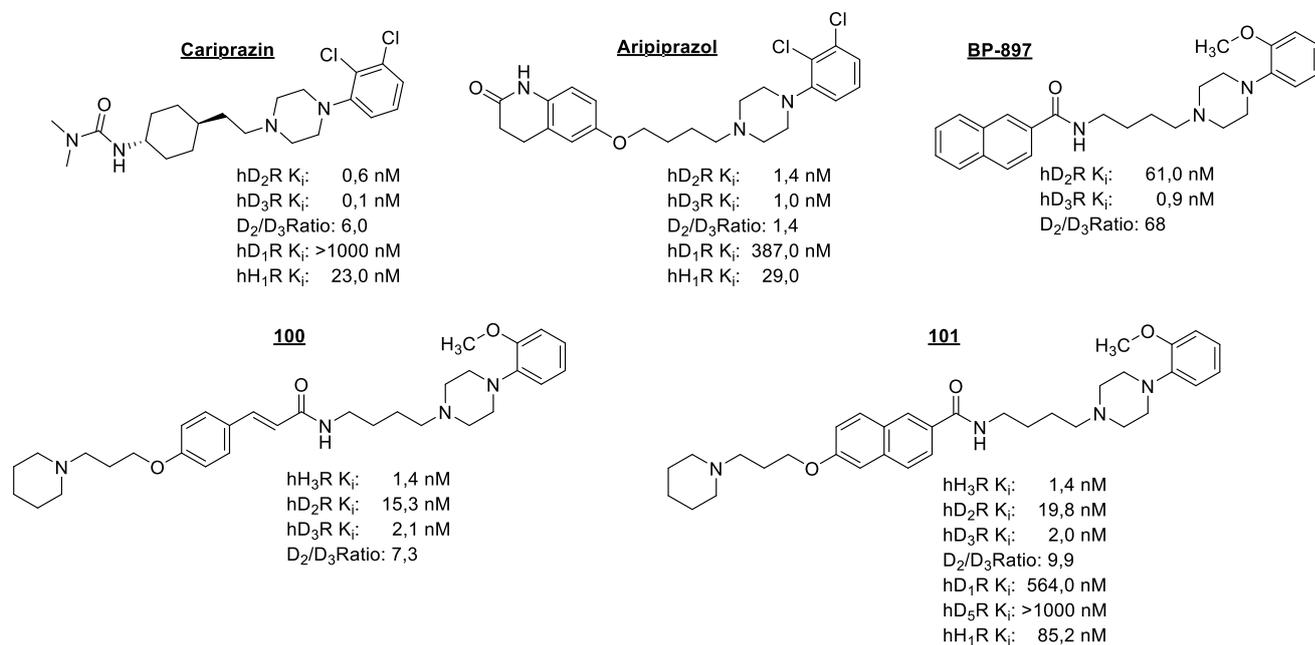


Abbildung 53: Struktur und Rezeptorprofil von Aripiprazol, Cariprazin, Verbindung **100** und **101**

Die vielversprechenden In-vitro-Ergebnisse von **101** konnten in In-vivo-Versuchen bestätigt werden. Verbindung **101** zeigt Effekte auf die negative und kognitive Symptomatik. Verminderte Angstzustände und Lern- bzw. Gedächtnisverbesserungen konnten durch Open Field- und Y-Maze-Tests gezeigt werden<sup>255</sup>. Die pro-antioxidativen Effekte durch die Erhöhung antioxidativer Enzyme wie GSH, SOD und CAT sind als großer Vorteil der Substanzen zu bewerten. Fortschritte in der Erforschung der Pathogenese der Schizophrenie zeigen den Bedarf an neuen Ansatzpunkten in der Therapie (vergl. 1.1.3.2).

Besonders interessant ist, dass Verbindung **101** nicht nur direkt antioxidativ wirkt, sondern eine Erhöhung der pro-antioxidativen Enzyme erzeugt. Welchen Effekt dabei dem H<sub>3</sub>R, den D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>R oder anderen Zielstrukturen zukommt, muss weiter untersucht werden. Verbindung **101** konnte die vorteilhaften Effekte von Aripiprazol als D<sub>2</sub>R/D<sub>3</sub>R-Partialagonist und Memantin als NMDA-Antagonist kombinieren. Der vergleichbare Effekt mit Memantin lässt sich in Testergebnissen aus dem H<sub>3</sub>R-Antagonismus ableiten (vergl. 4.5.3). Die mit Cariprazin vergleichbaren In-vitro-Daten, wie D<sub>2</sub>R- und D<sub>3</sub>R-Affinität und -Präferenz legen nahe, dass ähnlich gute Effekte wie bei Cariprazin auf die positive Symptomatik zu erwarten sind. Das für einen Antagonismus oder Partialagonismus entscheidende Strukturfragment ist das phenylsubstituierte Piperazin.

In Vergleichsarbeiten konnte eine Äquivalenz von (2,3-Dichlorophenyl)-piperazin mit (2-Methoxyphenyl)-piperazin in Bezug auf die intrinsische Aktivität gezeigt werden<sup>265 267</sup>. Weitere Tests bezüglich der Symptomaten sollten weitergehend erfolgen, um das Potential der Substanzen zu bestimmen.

Das ermittelte Selektivitätsprofil gegenüber den D<sub>1</sub>R, D<sub>5</sub>R und H<sub>1</sub>R ist als gut zu bewerten. Die Affinitäten zu den Rezeptoren sind mit dem der Referenzsubstanzen Cariprazin und Aripiprazol vergleichbar. Die H<sub>1</sub>R-Affinität ist gegenüber diesen Verbindungen verringert worden, wodurch unerwünschte Effekte durch die H<sub>1</sub>R-Blockade in geringerem Ausmaß zu erwarten sind. Die nicht vorhandene Inhibition der Cholinesterasen konnte aufgrund der Strukturmerkmale erwartet werden. Durch diese Daten lassen sich die Effekte des MTDL auf die Interaktion mit den gewünschten Zielstrukturen zurückführen.

Die Drug-Likeness der Verbindungen ist aufgrund des hohen Molekulargewichts (558,8 g/mol) eingeschränkt (vergl. 7.4.10). Inwieweit sich die Pharmakophore stärker ineinander integrieren lassen, muss durch weiterführende Arbeiten bestimmt werden.

Die Verbindungen **104-106** zeigen eine sehr hohe Affinität zum hH<sub>3</sub>R, konnten aber die postulierte Affinität zum D<sub>2</sub>R oder D<sub>3</sub>R nicht aufweisen. Die Substitution der von Moritz et al. (vergl. 3.8.2) vorgeschlagene Leitstruktur führte in beiden Substitutionspositionen zum Affinitätsverlust. Weitere Derivate der Verbindungen wurden aufgrund fehlender D<sub>2</sub>R-/ D<sub>3</sub>R-Affinität nicht synthetisiert.



## 6 Zusammenfassung

Das Ziel der Arbeit war die Synthese neuer Arzneistoffkandidaten für die Therapie von Morbus Alzheimer (AD) und Schizophrenie. Die Erkrankungen sind in ihrer Pathogenese multifaktoriell und bedürfen einer Therapie, die mehr als eine Zielstruktur adressiert<sup>51,86,268</sup>. Solche sogenannten (MTDL) sollen ein Pharmakophor von H<sub>3</sub>R-Antagonisten mit weiteren Strukturgruppen kombinieren. Im Hinblick auf AD wurden Strukturgruppen gewählt, die 1.  $\beta$ -Amyloidmonomere an ihrer Oligomerisierung hindern und 2. die Freisetzung von Wachstumsfaktoren (IGF<sub>1</sub>) fördern sollen. MTDL für die Therapie der Schizophrenie kombinieren das H<sub>3</sub>R-Pharmakophor mit D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Antagonisten.

Es wurden 58 neue Liganden für die Indikation Morbus Alzheimer synthetisiert. Als H<sub>3</sub>R-Antagonisten zeigten 13 eine gute ( $K_i$  10-100 nM) und 36 eine sehr gute Affinität ( $K_i$  <10 nM) zum H<sub>3</sub>R. Die Strukturen basieren auf einem Piperazinelement, das durch verschiedene Substitutionen variiert wurde. Ausgehend von natürlichen L-Aminosäuren wurden 2,5-Diketopiperazine (cyclische Dipeptide) synthetisiert. Durch die Auswahl an Reagenzien und Reaktionsparametern ist es gelungen, die stereochemische Ausrichtung der Aminosäuredukte beizubehalten. Den Substanzen der Gruppe der 2,5-Diketopiperazinen wird eine sehr gut ZNS-Gängigkeit zugesprochen<sup>228</sup>, die durch Verbindung **52e** (Abbildung 54) nachgewiesen werden konnte (vergl. 4.3). Darüber hinaus konnte eine HNMT-inhibitorische Aktivität festgestellt werden.

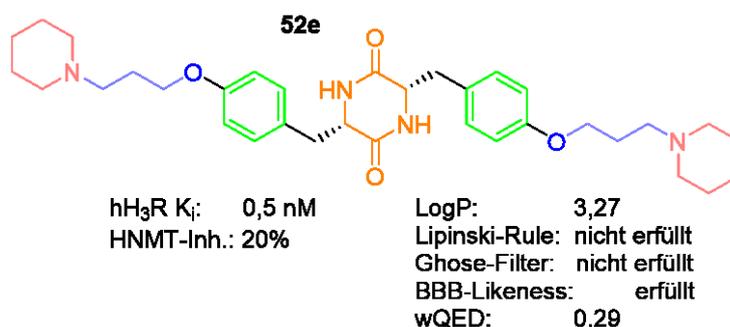


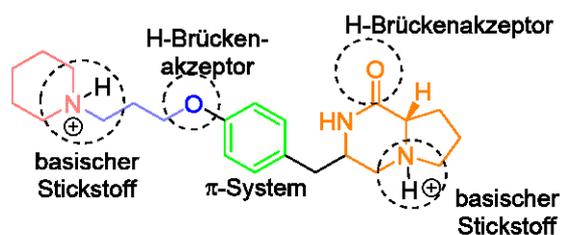
Abbildung 54: H<sub>3</sub>R-Antagonist **52e**, Drug-Likeness-Regeln ermittelt mit DruLiTo<sup>261</sup>, Werte und Berechnung siehe 7.4.10. wQED: 0 (unvorteilhaft)- 1 (sehr vorteilhaft) zugelassene Arzneistoffe  $\bar{x}$  = 0,49<sup>313</sup>

In Bezug auf die neuronale Histamintransmission stellt **52e** daher eine sehr interessante Verbindung dar, da die Antagonisierung des H<sub>3</sub>R die Histaminkonzentration erhöht und die HNMT-Inhibition den Abbau vermindert. Verbindung **52e** eignet sich daher gut als pharmazeutische Testsubstanz, um den Einfluss erhöhter Histaminkonzentration im ZNS zu untersuchen<sup>269</sup>.

Durch Reduktion einer Aminosäure lassen sich Aminoaldehyde herstellen. Die zur 2,5-Diketopiperazinen analoge Umsetzung dieser Verbindungen führt zu 2-Ketopiperazinen. Auch in dieser Synthese ist es gelungen, stereoselektiv zu den Zielverbindungen zu gelangen.

Verbindung **58** zeigt mit einer subnanomolaren Affinität ( $K_i$ : 0,5 nM), und einer hohen Drug-Likeness ein großes Arzneistoffpotential (Abbildung 55). Als reiner  $H_3R$ -Antagonist könnte sich die Substanz für die symptomatische Therapie von zahlreichen neurodegenerativen und neuropathophysiologischen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, Parkinson und Schizophrenie eignen. Darüber hinaus weist die Verbindung ein hohes Maß an Übereinstimmung mit der Leitstruktur NNZ-2591 auf. Pharmakologische Test müssen hier noch erfolgen, um das Potential der Verbindung vollständig evaluieren zu können.

### SAR: $H_3R$ -Antagonist **58**



$hH_3R K_i$ :	0,5 nM	LogP:	1,60
		Lipinski-Rule:	erfüllt
		Ghose-Filter:	erfüllt
		BBB-Likeness:	erfüllt
		wQED:	0,736

Abbildung 55: SAR von Verbindung **58**, Drug-Likeness-Regeln ermittelt mit DruLiTo<sup>261</sup>, Werte und Berechnung siehe 7.4.10. wQED: 0 (unvorteilhaft)- 1 (sehr vorteilhaft) zugelassene Arzneistoffe  $\bar{x}$ =0,49<sup>313</sup>

Die Inhibition der  $A\beta$ -Oligomerbildung setzt eine Affinität der MTDL zu den  $A\beta$ -Monomeren voraus. Die Verbindungen **64**, **66**, **67e** und **72** zeigen die gewünschte gute Affinität zu  $A\beta$ -Monomeren in Kombination mit einer sehr guten Affinität zum  $H_3R$ . Aus Verbindung **64** und **66** lässt sich eine Struktur-Wirkungs-Beziehung (SAR), wie in Abbildung 56 gezeigt, ableiten. Auch Verbindung **64** und **66** erfüllen die „Lipinski Rule of 5“ und verschiedene Drug-Likeness-Regeln (vergl. 7.4.10.)

Mit Verbindungen **66** kann gezeigt werden, dass eine Targetkombination von H<sub>3</sub>R und Aβ-inhibitorischen-Strukturen in einem small molecule umsetzbar ist.

### SAR: H<sub>3</sub>R-Antagonist & PPI-Inhibitor **66**

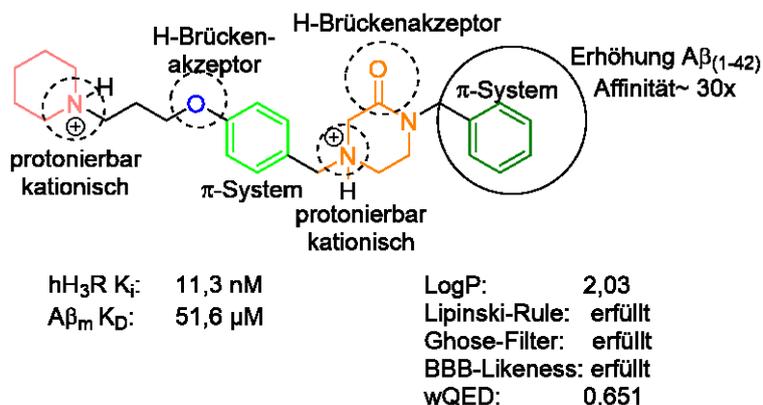


Abbildung 56: SAR von Verbindung **66**, Druke-Likeness-Regeln ermittelt mit DruLiTo<sup>261</sup>, Werte und Berechnung siehe 7.4.10. wQED: 0 (unvorteilhaft)- 1 (sehr vorteilhaft) zugelassene Arzneistoffe  $\bar{x}$ =0,49<sup>313</sup>

Durch die große Anzahl an sehr guten H<sub>3</sub>R-antagonistischen Strukturen konnte ein sehr robustes H<sub>3</sub>R-Pharmakophor identifiziert werden.

Dieses Pharmakophor wurde mit einer D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Antagonisten-/ Partialagonisten-Struktur fusioniert (Abbildung 57). Die synthetisierten Strukturen konnte in In-vivo und In-vivo das große Potenzial in der Kombination dieser Elemente zeigen. Die Ergebnisse zeigen, dass H<sub>3</sub>R-D<sub>2</sub>R/ D<sub>3</sub>R-Liganden vielversprechende neue Ansätze für die pharmakologische Intervention der Schizophrenie sind.

### SAR: H<sub>3</sub>R-D<sub>2</sub>R-D<sub>3</sub>R-Antagonist **101**

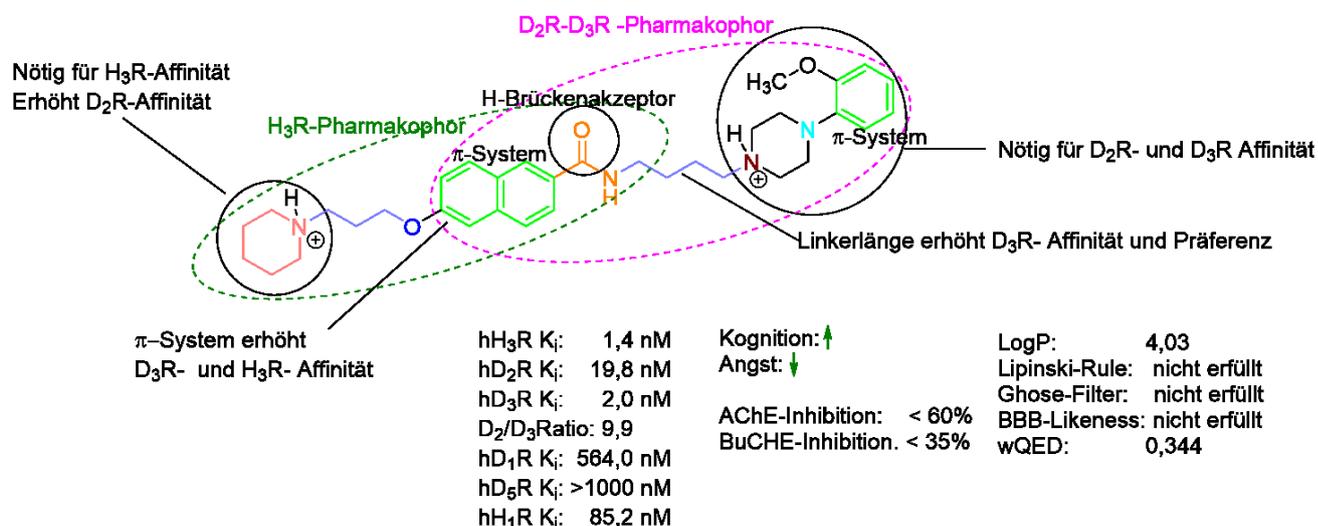


Abbildung 57: SAR von Verbindung **101** Drug-Likeness-Regeln ermittelt mit DruLiTo<sup>261</sup>, Werte und Berechnung siehe 7.4.10. wQED: 0 (unvorteilhaft)- 1 (sehr vorteilhaft) zugelassene Arzneistoffe  $\bar{x}$ =0,49<sup>313</sup>

Die in der Zielsetzung geforderte Synthese, Charakterisierung und Beschreibung der SAR von neuen MTDL als Arzneistoffkandidaten in der Therapie von Morbus Alzheimer und Schizophrenie konnte erfolgreich umgesetzt werden. Neben drei Struktur-Wirkungsbeziehungen konnte ein sehr robustes H<sub>3</sub>R-Pharmakophor aus den Daten extrahiert werden. Aus einer großen Anzahl an Verbindungen wurden Verbindung **58** und **66** als taugliche Arzneistoffkandidaten gewonnen. Des Weiteren wurde mit Verbindung **101** ein ideales pharmazeutisches Werkzeug bzw. Testsubstanz für In-vitro- und In-vivo-Studien dargestellt.

In weiterführenden Arbeiten sollte ermittelt werden, wie aus Verbindung **101** ein Arzneistoff für die Therapie der Schizophrenie entwickelt werden kann. Wie die Vorhersage durch verschiedener Drug-Likeness-Regeln (Abbildung 57) zeigt, eignet sich die Verbindung durch das hohe Molekulargewicht noch nicht als Wirkstoffkandidat. Durch stärkere Verschmelzungen der Pharmakophore kann das Molekulargewicht verringert und damit die Drug-Likeness erhöht werden. Funktionelle Studien sollten erfolgen, um zu prüfen, welche Art von intrinsischem Effekt durch Verbindung **100** und **101** erzeugt wird.

Die A $\beta$ -Inhibitoren sollten auf ihren inhibitorischen Effekt auf die Oligomerisierung untersucht werden. Hierzu können die Verbindungen mit A $\beta$ -Monomeren inkubiert werden und die verminderte Oligomerisierung durch ThT-Tests quantifiziert werden. Weitere Derivatisierungen der Verbindung **64** und **66**, z.B. mit Heteroaromaten sollten erfolgen, um eine differenziertere SAR erstellen zu können. Hierzu wäre eine In-silico-Untersuchung der Bindepositionen hilfreich, auch, um die Hypothese von verschiedenen Bindungsepitopen untersuchen zu können.

## 7 Material und Methoden

---

### 7.1 Chemikalien und Geräte

#### *Chemikalien und Lösungsmittel*

Alle kommerziell verfügbaren Reagenzien und Lösemittel wurden von Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland), VWR Chemicals (Darmstadt, Deutschland), Fisher Scientific (Hampton, USA), Alfa Aesar (Haverhill, USA) and Chemsolute (Renningen, Deutschland), Perkin Elmer Life, Analytical Sciences (Rodgau, Deutschland) bezogen.

Die Lösungsmittel und Reagenzien wurden ohne vorherige Aufreinigung verwendet.

#### *Kernresonanz-Spektroskopie (NMR)*

$^1\text{H}$ -NMR und  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektren wurden gemessen mit einem Bruker Avance III 300 bzw. 600 Spektrometer (Rheinstetten, Germany) Die Messung erfolgen in deuteriertem Lösungsmittel, hauptsächlich in DMSO- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ , MeOD und  $\text{D}_2\text{O}$  teilweise mit Zugabe eines Tropfens DCl. Die Angabe der Messdaten erfolgt durch die chemische Verschiebung in ppm ( $\delta$ ) bezogen auf das Lösungsmittelsignal als internen Standard, der Anzahl der Protonen, der Multiplizität (s: Singulet, d: dublett, dd: Dublett vom Dublett m: Multiplett) sowie der Kopplungskonstanten (J).

#### *Massenspektrometrie*

Massenspektren wurden gemessen mit einem Expression CMS Massenspektrometer (Advion, Ithaca, USA). Zur Ionisation diente eine APCI-Einheit, gemessen wurde im positiv (APCI (+)) und negativ (APCI (-)) Modus. Die Angabe der Messdaten erfolgt mit Angabe des Masse-zu-Ladung-Verhältnisses (m/z) sowie der Art des detektierten Ions (Bsp.:  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$ ).

#### *Flüssigchromatographie mit Massenspektrometriedetektor (LC-MS)*

Zur Bestimmung der Reinheit der Produkte wurde eine LC-MS Messung verwendet. Als rein gelten dabei Substanzen mit einer Signalfläche (AUC) von >95 % bezogen auf alle AUCs des Chromatogramms.

LC-MS-Spektren wurden gemessen mit einem Bruker Elute SP (HPG 700) mit Autosampler (Rheinstetten, Deutschland). Säule: Intensity Solo C18 RP 100x2.1 mm., Temperatur: 50 °C Detektor: Massenspektrometer Bruker amaZon speed (Rheinstetten, Deutschland) mit Elektronen-Spray-Ionisation (ESI), m/z-Spannweite: 80-1200, Ultrascan-Modus, alternierende Ionisierung.

Eluent: A. Wasser (LCMS Grade, Merck): B Acetonitril (LCMS Grade, Merck) 0.1% Ameisensäure; Flussrate: 0.3 mL/min, Methode (% A): 0-4 min. 98%, 4-5min. 95%, min. 5-9 95%, min. 9-16 5%, min. 16-17 0%.

Die Angabe der Messdaten erfolgt mit Angabe des Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) , der Art des detektierten Ions (Bsp.: $[M+H]^+$ ) und der Reinheit in Prozent.

#### *Elementaranalyse*

Vario MICRO cube Elemental Analyzer (Elementar Analysensysteme GmbH)

#### *Dünnschichtchromatographie (DC)*

Für Dünnschichtchromatographien wurden DC Folien der Firma Macherey-Nagel GmbH & Co KG (Düren, Deutschland)

Normalphase: DC-Fertigfolien ALUGRAM<sup>®</sup> Xtra Sil G/UV<sub>254</sub>

Aminophase: DC-Kieselgel 60 NH<sub>2</sub> F<sub>254s</sub>

Fließmittelgemische: Dichlormethan/Methanol; Dichlormethan/NH<sub>3</sub> gesättigter Methanol oder Ethylacetat/*n*-Hexan in jeweils variierender Zusammensetzung.

Detektion: Fluoreszenzlöschung bei 254nm, Fluoreszenzanregung bei 365nm.

Farbreaktion mit Sprühreagenzien wie wässrige Kaliumpermanganat-Lösung und ethanolische Ninhydrin-Lösung.

#### *Säulenchromatographie:*

Säulenchromatographien wurden durchgeführt mit Kieselgel 60 (0.04-0.063 mm) für die Säulenchromatographie (Macherey-Nagel GmbH & Co KG Düren, Deutsch)

Fließmittelgemische: Dichlormethan/Methanol; Dichlormethan/NH<sub>3</sub> gesättigter Methanol oder Ethylacetat/*n*-Hexan in jeweils variierter Zusammensetzung isokratisch oder als Gradient.

#### *Flash-Chromatographie*

Für die Flashsäulenchromatographie wurde eine Biotage Isolera<sup>™</sup> Spektra Systems with ACI<sup>™</sup> and Assist (Uppsala, Schweden) verwendet.

Säulen: Normalphase: Biotage<sup>®</sup> SNAP KP-Sil, ZIP, Biotage<sup>®</sup> Sfär Silica D

Aminophase: Biotage<sup>®</sup> Sfär Amino D

Fließmittelgemische: Dichlormethan/Methanol oder Ethylacetat/*n*-Hexan in jeweils variierter Zusammensetzung isokratisch oder als Gradient.

Detektion: UV/Vis-Detektor mit Photodiodenarray, Wellenlängenbereich 200-800 nm

### *Mikrowellensynthese*

Mikrowellensynthesen wurden durchgeführt in einem Biotage Initiator 2.0 (Uppsala, Schweden). Dabei wurden verschiedene Lösungsmittel, Reaktionszeiten, Reaktionstemperaturen und Aufheizprogramme verwendet.

### *Drehwerte/spezifische Drehung*

Drehwerte wurden gemessen mit einem A.Krüss Optronic GmbH P3000 (Hamburg, Deutschland).

Wellenlänge: 589 nm

Küvette: 1.0 dm, 0,5 ml

Die spezifische Drehung wurde ermittelt durch folgende Gleichung

$$[\alpha]_D^{25} = \alpha \cdot \beta^{-1} \cdot d^{-1} \text{ in } [^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}] \text{ mit}$$

$\alpha$ : Drehwinkel [ $^\circ$ ],  $\beta$ : Massekonzentration [ $\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ] und  $d$ : Schichtdicke [dm]

Als Lösungsmittel diente Chloroform oder ein Gemisch aus Methanol und 2 N HCl (9:1), wobei der Leerwert von den jeweiligen Messungen abgezogen wurde.

Das Ergebnis wird angegeben als Mittelwert einer Dreifachbestimmung

### *Schmelzpunktmessung*

Schmelzpunkte wurden mit einem Büchi M-564 Schmelzpunktmessgerät (Essen, Deutschland) bestimmt. Die Angabe erfolgt als Schmelzbereich aufgrund einer zweifach oder dreifach Bestimmung

### *Rotationsverdampfer*

Büchi Rotavapor R II (Essen, Deutschland) betrieben mit Vaccubrand PC 3001 VARIO Chemie-Vakuumpumpe mit CVC 3000 Vakuum-Controller (Wertheim, Deutschland).

### *Gefriertrockner*

Zur Gefriertrocknung wurde der Gefriertrockner Christ Alpha 2-4 LD plus (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland) verwendet.

Das Einfrieren der Probe wurde durch Schwenken in flüssigem Stickstoff erreicht, wobei als Wasser der Hauptbestandteil des Lösungsmittels darstellte.

Die Trocknungsdauer variierte je nach Lösungsmittelvolumen.

## 7.2 Allgemeine Synthesevorschriften

### 7.2.1 Amidierung -Acylierung von Aminen mit aktivierten Carbonsäuren

#### *Methode A -Amidsynthese mit EDC und HOBT*

Die Carbonsäure (1,0 eq.) wurde mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) (1eq.) und Hydroxybenztriazol\*H<sub>2</sub>O (HOBT) (1,0 eq.) in DMF gelöst und für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde das Amin (1,1 eq.) hinzugegeben und der ganze Ansatz für 16 h bei Raumtemperatur gerührt.

DMF wurde bei vermindertem Druck teilweise entfernt. Der Rückstand wurde in Essigsäureethylester aufgenommen und mit 2N wässriger NaOH Lösung gewaschen.

Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>270</sup>.

#### *Methode B -Amidsynthese mit Carbonsäurechloriden*

Das Amin (1,0 eq.) wurde in Dichlormethan gelöst und Triethylamin (1,5 eq) wurde langsam zugetropft. Nach Zugabe des Carbonsäurechlorids (1,2 eq.) wurde der Ansatz bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde mittels Dünnschichtchromatographie überwacht, bis kein Amin mehr detektiert wurde.

Der Ansatz wurde mit wenig 1N wässriger NaOH Lösung versetzt und anschließend mit 2N wässriger NaOH Lösung gewaschen.

Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>206</sup>.

#### *Methode C -Amidsynthese mit Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl) phosphinchlorid*

Die Carbonsäure (1,0 eq.), Triethylamin (3,0 eq.) und das Amin (0,9 eq) wurden in Dichlormethan für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl) phosphinchlorid (BOPCl) (1,0 eq.) wurde zugegeben und der Ansatz für 16 h bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wurde der Ansatz mit 2 N wässriger NaOH Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>271</sup>.

### *Methode D -Zyklisierung von Dipeptiden mit Methylestergruppe und freiem Amin*

Das Dipeptid wurde in Methanol gelöst und der Ansatz mit 25%iger wässriger Ammoniaklösung auf pH 9 eingestellt. Nach kochen unter Rückfluss für 16 h wurde der Ansatz eingengt und auf Raumtemperatur abgekühlt und ausfallendes Produkt wurde abfiltriert. Methode nach Literatur<sup>272</sup>.

### **7.2.2 Alkylierung**

#### *Methode E -Williamson-Ethersynthese mit Finkelstein-Austausch*

Das Halogenalkan (1,0 eq.), das Phenol (1,1 eq.), Kaliumcarbonat (4,0 eq.) und Kaliumiodid (kat.) wurden in Aceton suspendiert und 18-72 h unter Rückfluss gekocht. Der Reaktionsfortschritt wurde mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Nach Abschluss der Reaktion wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit 2N wässriger NaOH Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>273</sup>.

#### *Methode F -Alkylierung von Aminen mit Halogenalkanen*

Das Halogenalkan (1,0 eq.), das Amin (1,0 eq.), Kaliumcarbonat (4,0 eq.) und Kaliumiodid (kat.) wurden in Aceton suspendiert und 18-72 h unter Rückfluss gekocht. Der Reaktionsfortschritt wurde mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Nach Abschluss der Reaktion wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit 2N wässriger NaOH Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>206</sup>.

#### *Methode G -Alkylierung von Aminen mit aktivierten Alkoholen*

Das Amin (1,0 eq.) wurde in Acetonitril oder Aceton gelöst bzw. suspendiert, wenn das Amin protoniert vorlag. Kaliumcarbonat oder Triethylamin (3,0 eq.) wurde zum Ansatz gegeben und 10 Minuten kräftig gerührt. Der aktivierte Alkohol (1,2 eq.) gelöst in Acetonitril/Aceton wurde langsam zugegeben und der Ansatz unter Rückfluss für 8-48 h gerührt. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurde der Reaktionsfortschritt überwacht, bis kein Amin mehr detektiert werden konnte. Methode nach Literatur<sup>274</sup>.

Nach Abschluss der Reaktion wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit 2N wässriger NaOH Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.

#### *Methode H -Alkylierung von Amiden mit Halogenalkanen*

Das Amid (1,0 eq.) wird in Tetrahydrofuran gelöst bzw. suspendiert und in einem Kolben gerührt. Natriumhydrid (60% in Mineralöl) (2,0 eq.) wird portionsweise zugegeben und das Aufklaren der Lösung wird abgewartet. Nach weiterer Zugabe von Natriumhydrid bleibt die Trübung bestehen. Der Ansatz wird weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Halogenalkan (1,5 eq.) gelöst in THF wurde langsam zugetropft und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ablauf der Reaktion wurde langsam Wasser zugetropft, bis keine Gasentwicklung mehr erkennbar war. Tetrahydrofuran wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Essigsäureethylester aufgenommen und mit einer Mischung aus Triethylamin und Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>275</sup>

#### *Methode I -Alkylierung von CH-aciden Verbindungen*

Ein Schlenkkolben wurde mit einem Septumverschluss, evakuiert und mit Stickstoffgas befüllt. Lithiumdiisopropylamid 2M in Tetrahydrofuran (1,5 eq.) wurde durch das Septum in den Kolben gegeben. Der Kolben wurde in einem -78°C kaltem Acetonbad platziert. Die CH-acide Verbindung (1,0 eq.) wurde in Tetrahydrofuran gelöst und langsam in den Ansatz gekühlten Ansatz getropft. Der Ansatz wurde 1h bei -78 °C weiter gerührt. Das Halogenalkan (2,0 eq.) wurde langsam bei -78 °C zugegeben. Nach 10 Minuten wurde der Ansatz langsam auf -35 °C erwärmt und 1h bei -35 °C gerührt. Im Anschluss wurde Wasser zugegeben, um das überschüssige Lithiumdiisopropylamid zu inaktivieren.

Der Ansatz wird auf Raumtemperatur erwärmt und das Tetrahydrofuran unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>225</sup>

### *Methode J -Alkylierung durch reduktive Aminierung*

Das Amin (1,0 eq.) und der Aldehyd (1,1 eq.) wurde in Dichlormethan gelöst und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Trisacetoxyborhydrid (1,2 eq) wurde zugegeben und alles zusammen 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Dichlormethan wurde mit Wasser gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>276</sup>

### **7.2.3 Aktivierung von Alkoholen und Carbonsäuren**

#### *Methode K -Aktivierung von Carbonsäuren mit Thionylchlorid*

Die Carbonsäure wurde in reinem Thionylchlorid 6 h bei 70 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz mit Toluol verdünnt und das überschüssige Thionylchlorid abdestilliert. Das restliche Toluol wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt erhalten.

Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Methode nach Literatur<sup>277</sup>

#### *Methode L Aktivierung von Aminoalkoholen mit Thionylchlorid*

Der Aminoalkohol (1,0 eq.) wurde in Tetrahydrofuran gelöst und mit Thionylchlorid (2,0 eq.) bei 0 °C versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde der Ansatz unter Rückfluss 5 h gekocht. Das Lösungsmittel wurde teilweise entfernt und der Ansatz mit Diethylether verdünnt. Der entstehende Niederschlag wurde über eine Glasfritte filtriert. Der Feststoff wurde an der Luft bei Raumtemperatur getrocknet. Das Produkt wurde ohne weitere Aufarbeitung verwendet.

#### *Methode M -Aktivierung von Alkoholen mit Methansulfonsäurechlorid*

Der Alkohol (1,0 eq.) wurde in Dichlormethan gelöst und bei 0 °C gerührt. Nach Zugabe von Triethylamin (1,5 eq.) wurde Methansulfonsäurechlorid (1,1 eq.) langsam zugetropft. Der Ansatz wurde 15-60 min bei 0 °C gerührt. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurde der Reaktionsfortschritt überwacht, bis kein Edukt mehr erkennbar war. Das Dichlormethan wurde bei max. 40 °C unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung verwendet, um den Verlust von Produkt bei der Aufreinigung zu vermeiden<sup>278</sup>.

#### *Methode N1 -Fischerveresterung -Veresterung von Carbonsäuren mit Säurekatalyse*

Die Carbonsäure wurde in Methanol gelöst. Nach Zugabe von einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure wurde der Ansatz unter Rückfluss gekocht. Der Reaktionsfortschritt wurde mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie überwacht, bis kein Edukt mehr erkennbar war. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt als Rohprodukt weiterverwendet. Methode nach Literatur<sup>279</sup>.

*Methode N2 -Veresterung von Carbonsäuren mit Thionylchlorid*

Die Carbonsäure wurde in Methanol gelöst. Nach Zugabe von Thionylchlorid bei 0 °C wurde der Ansatz unter Rückfluss gekocht. Der Reaktionsfortschritt wurde mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie überwacht, bis kein Edukt mehr erkennbar war. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und als Rohprodukt weiterverwendet. Methode nach Literatur<sup>280</sup>.

*Methode O1 Mikrowellenassistierte Hydrolyse von Carbonsäureestern*

Der Carbonsäureester (1,0 eq.) wurde in Tetrahydrofuran gelöst. Kaliumhydroxid (5,0 eq.) wurden in Wasser gelöst. Die beiden Lösungen wurden in einem Mikrowellengefäß mit Methanol als Lösungsvermittler gemischt und das Gefäß versiegelt. Der Ansatz wurde in der Mikrowelle 15 Minuten bei 70 °C gerührt. Die Aufreinigung erfolgte je nach erhaltenem Produkt. Methode nach Literatur<sup>273</sup>.

*Methode O2- Aufarbeitung von hydrolisierten Amino-Carbonsäureestern*

Nach erfolgter Hydrolyse nach Methode O1 wurden die organischen Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die stark basische wässrige Lösung wurde mit Wasser verdünnt. Der Ansatz wurde durch Zugabe von Salzsäure neutralisiert. Bei einem pH Wert zwischen 2 und 3 entstand ein weißer Niederschlag. Der Niederschlag wurde über eine Glasfritte filtriert und in einer Mischung aus 2N wässriger HCl Lösung und Dioxan gelöst. Dioxan wurde unter vermindertem Druck entfernt und die wässrige Lösung bzw. Suspension mit Hilfe eines Gefriertrockners getrocknet.

## 7.2.4 Schutzgruppenchemie

*Methode P1 -Einführung von Boc-Schutzgruppen bei Aminen*

Das Amin (1,0 eq.) wurde in Dichlormethan gelöst und Di-*tert*-butyldicarbonat (1,0 eq.) bei 0°C langsam zugegeben. Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die Kontrolle durch Dünnschichtchromatographie den vollständigen Umsatz des Edukts angezeigt hat. Der Ansatz wurde mit 1N wässriger HCl Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>281</sup>.

### *Methode P2 -Selektive Einführung von Boc-Schutzgruppen bei Diaminen*

Das Diamin (1,0 eq.) wurde in Dichlormethan gelöst und bei 0 °C gerührt. di-tert-Butyldicarbonat (2,0 eq.) gelöst in Dichlormethan wurde langsam bei 0 °C zugetropft. Das Eisbad wurde entfernt und der Ansatz für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck getrocknet. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und erneut filtriert. Die wässrige Phase wurde mit Kaliumcarbonat gesättigt und anschließend mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Methode nach Literatur<sup>282</sup>.

### *Methode Q -Entfernen von Boc-Schutzgruppen mit HCl*

Das Boc-geschützte Edukt wurde in Dioxan oder Ethanol gelöst. Nach Zugabe einer Lösung von HCl in Dioxan (mind. 10 eq.) wurde der Ansatz für 16 h gerührt und das Reaktionsende mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie überprüft. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand erneut im Lösungsmittel aufgenommen. Dieser Vorgang wurde mindestens zweimal wiederholt. Methode nach Literatur<sup>283</sup>.

## **7.2.5 Reduktion**

### *Methode R -Reduktion von Nitrilen zu Aminen mit Raney Nickel-katalyse*

Das Nitril (1,0 eq.) wird in Methanol gelöst und mit konzentrierter Ammoniak Lösung versetzt. Der aktivierte Raney-Nickel-Katalysator (Methode W) wird zugegeben und die Mischung in einen Autoklav überführt. Der Autoklav wird bis 5 bar mit Wasserstoff befüllt und der Ansatz 16 h bei 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt und über Kieselgur in einer Glasfritte filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und die Reaktion mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie überprüft. Methode nach Literatur<sup>273</sup>.

### *Methode S -Reduktion von Amiden zu Aminen mit Lithiumaluminiumhydrid*

Das Amid (1,0 eq.) wird in Tetrahydrofuran gelöst, 2M Lithiumaluminiumhydrid Lösung in Tetrahydrofuran (je Amid 4,0 eq.) wurde langsam zugegeben. Der Ansatz wird 16 h unter Rückfluss gekocht. Der abgekühlte Ansatz wurde in einem Eisbad mit Diethylether verdünnt und nach Nachfolgendem Schema aufgearbeitet.

X= Lithiumaluminiumhydrid in Gramm.

Zugabe von X ml Wasser, X ml 15%iger wässriger NaOH Lösung und 15 Minuten rühren.

Zugabe von 3\*X ml Wasser und Entfernen des Eisbades.

Nachdem der Ansatz auf Raumtemperatur erwärmt war, wurde Magnesiumsulfat zugegeben und weitere 15 Minuten gerührt.

Die Suspension wurde über Kieselgur filtriert. Der Ansatz wurde mit einer Lösung von HCl in Dioxan versetzt und die organischen Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als HCl Salz erhalten. Methode nach Literatur<sup>284</sup>.

#### *Methode T -Reduktion von C=C-Bindungen mit Palladium/Kohle Katalysator*

Die Doppelbindungsverbindung (1eq.) wurde in Essigsäureethylester gelöst und mit katalytischer Menge Palladium 10% auf Aktivkohle versetzt. Der Ansatz wurde mit 1 bar Wasserstoff begast und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde über Kieselgur und eine Glasfritte filtriert. Die Entfernung des Lösungsmittels bei reduziertem Druck liefert das Produkt. Methode nach Literatur<sup>231</sup>.

### **7.2.6 Weitere Reaktionen**

#### *Methode U – Imidbildung aus Amiden mit Essigsäureanhydrid*

Das Amid wurde in Essigsäureanhydrid gelöst und 7 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck entfernt und das Produkt aufgereinigt oder als Rohprodukt weiter umgesetzt. Methode nach Literatur<sup>285</sup>

#### *Methode V Aldolkondensation -Reaktionen von Aldehyden mit $\alpha$ CH-aciden Amiden*

Das CH-acide Amid (1,0 eq.) und Cäsiumcarbonat (1,5 eq.) wurde in Dimethylformamid in einem Schlenkkolben mit Septum gelöst. Der Kolben wurde evakuiert und mit Stickstoff gefüllt. Der Aldehyd (1,5 eq.) wurde in Dimethylformamid gelöst oder als Reinstoff durch das Septum zum Reaktionsansatz gegeben. Der Ansatz wurde 24-72 h bei Raumtemperatur-80 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck reduziert und in ein Eisbad (2xVol. von DMF) überführt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und lyophilisiert. Methode nach Literatur<sup>233</sup>.

#### *Methode W -Aktivierung von Raney-Nickel-Legierung*

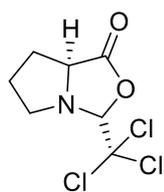
500mg Aluminium-Nickel-Legierung (Raney-Nickel) wird portionsweise in einen Dreihalskolben mit 50ml 10%ger wässriger NaOH Lösung gegeben. Der Ansatz wird 1h bei 95°C gerührt. Die NaOH Lösung wird dekantiert und der Rückstand mehrfach mit Wasser gewaschen bis das Waschwasser neutral reagiert. Im Anschluss wird der Waschvorgang mit Methanol dreimal wiederholt. Der aktivierte Katalysator wird mit Methanol bedeckt bis zur baldigen Verwendung gelagert. Methode nach Literatur<sup>286</sup>.

## 7.3 Vorschriften und Analytik

### 7.3.1 Vorstufensynthesen

#### 7.3.1.1 Aminosäure-Vorstufen

##### (3*S*,7*aS*)-3-(Trichlormethyl)tetrahydro-1*H*,3*H*-pyrrolo[1,2-*c*]oxazol-1-on (1) MF S133



Summenformel:  $C_7H_8Cl_3NO_2$ <sup>287</sup>

Molekulargewicht: 244,50 g/mol

Spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{25}$ : +32,7°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Spez. Drehung Literaturwert<sup>288</sup>:  $[\alpha]_D^{25}$ : +34,2°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup>

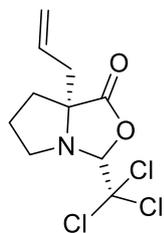
L-Prolin (7,50 g; 65,0 mmol) und Chloralhydrat (16,10 g; 97,0 mmol) wurden in 100 ml Chloroform gelöst. Der Kolben wurde mit einem Dean-Stark-Wasserabscheider und einem Rückflusskühler versehen und der Ansatz gekocht. An der Skala des Wasserabscheiders wurde der Reaktionsfortschritt überwacht. Nach beendeter Reaktion wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene braune Feststoff wurde aus Ethanol umkristallisiert und so die Verbindung **1** mit ausreichender Reinheit gewonnen.

Ausbeute: 12,40 g; 49,2mmol (75,7 %)

APCI-MS (+): m/z: 244,0/246,0/248,0 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.16 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H), 4.12 (dd, *J* = 8.8, 4.7 Hz, 1H), 3.42 (ddd, *J* = 10.9, 7.8, 5.9 Hz, 1H), 3.12 (ddd, *J* = 11.3, 6.5, 5.4 Hz, 1H), 2.30 – 2.04 (m, 2H), 1.93 (ddq, *J* = 12.5, 6.8, 5.6 Hz, 1H), 1.81 – 1.65 (m, 1H).

##### (3*S*,7*aR*)-7*a*-Allyl-3-(trichlormethyl)tetrahydro-1*H*,3*H*-pyrrolo[1,2-*c*]oxazol-1-on (2) MF S132



Summenformel:  $C_{10}H_{12}Cl_3NO_2$

Molekulargewicht: 284,56 g/mol

Spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{25}$ : +41,3°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

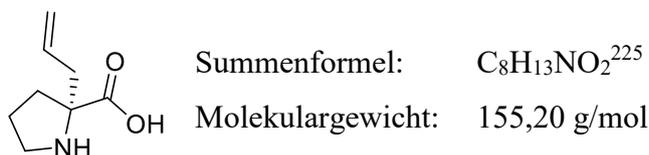
Spez. Drehung Literaturwert<sup>225</sup>:  $[\alpha]_D^{25}$ : +44,6°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup>

Verbindung **2**<sup>287</sup> wurde gemäß Methode I aus (3*S*,7*aS*)-3-(Trichlormethyl)tetrahydro-1*H*,3*H*-pyrrolo[1,2-*c*]oxazol-1-on (**1**) (6,11 g; 25,0 mmol), Allylbromid (4,40 ml; 50,0 mmol) und Lithiumdiisopropylamid (16,25 ml 2M Lösung; 37,5 mmol) hergestellt. Nach der Aufarbeitung erfolgte eine Aufreinigung der Verbindung mit Hilfe der Flash-Chromatographie. Gradientenelution mit Hexan und Essigsäureethylester (92:8-85:15) über eine Kieselgelsäule. Ausbeute: 3,88 g; 13,7 mmol (54,6 %)

APCI-MS (+): m/z: 285,5/287,5/289,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.97 – 5.81 (m, 1H), 5.20 (q, *J* = 1.0 Hz, 1H), 5.16 (ddt, *J* = 4.7, 2.0, 1.2 Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 3.27 – 3.11 (m, 2H), 2.67 – 2.49 (m, 2H), 2.19 – 1.83 (m, 3H), 1.73 – 1.55 (m, 1H).

(*R*)-2-Allylpyrrolidin-2-carbonsäure/ L-allyl-prolin (**3**) MF S138



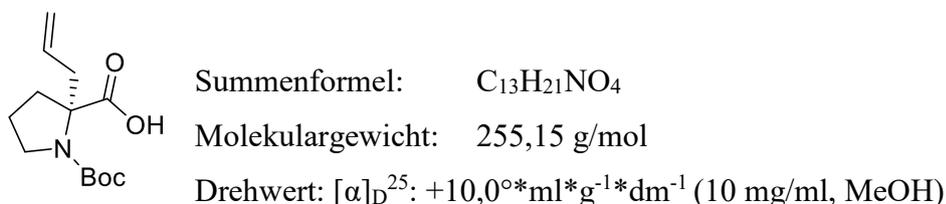
(3*S*,7*aR*)-7*a*-Allyl-3-(trichlormethyl)tetrahydro-1*H*,3*H*-pyrrolo[1,2-*c*]oxazol-1-on (**2**) (1,71 g; 13,0 mmol) wurde in 6N wässriger HCl Lösung (75 ml) suspendiert und unter kräftigem Rühren 4 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Methanol gelöst und erneut entfernt. Dieser Vorgang wurde mindestens zweimal wiederholt. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurde überprüft, dass kein Edukt mehr vorhanden war. Der Ansatz wurde nicht weiter aufgearbeitet und als Rohprodukt weiter umgesetzt.

Ausbeute: 2,35 g; 12,3 mmol (94,0 %) Rohprodukt

APCI-MS (+): m/z: 156,6 [M+H]<sup>+</sup>

APCI-MS (-): m/z: 154,6 [M-H]<sup>-</sup>

(*R*)-2-Allyl-1-(*tert*-butoxycarbonyl)pyrrolidine-2-carbonsäure/ Boc-L-allyl-prolin (**4**) MF S139



Verbindung **4**<sup>289</sup> wurde gemäß Methode P1 aus (*R*)-2-Allylpyrrolidin-2-carbonsäure Hydrochlorid **3** (ca.10 mmol), Di-*tert*-butyldicarbonat (2,40 g; 11,0 mmol) und Triethylamin (6,90 ml; 50,0 mmol) in 80 ml Dichlormethan hergestellt. Nach der Aufarbeitung wurde das Produkt durch eine Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution mit Dichlormethan und Methanol (99:1-98:2) über eine Kieselgelsäule.

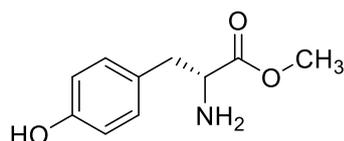
Ausbeute: 0,9854g; 3,86mmol (38,6%) Anmerkung: Edukt wurde nicht aufgereinigt

APCI-MS (+): m/z: 256,2 [M+H]<sup>+</sup>

APCI-MS (-): m/z: 254,2 [M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 5.71 (dddd, *J* = 20.6, 14.4, 11.6, 7.5 Hz, 1H), 5.15 – 5.03 (m, 2H), 3.47 (tdd, *J* = 9.8, 7.4, 5.7 Hz, 1H), 3.23 (ddt, *J* = 11.9, 10.4, 7.1 Hz, 1H), 2.80 (ddt, *J* = 14.1, 7.1, 1.3 Hz, 1H), 2.48 – 2.41 (m, 1H), 2.12 – 1.92 (m, 2H), 1.75 (pd, *J* = 7.3, 2.9 Hz, 2H), 1.36 (d, *J* = 10.7 Hz, 9H).

#### D-Tyrosinmethylester (**5**) AS01



Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 195,22 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -67,67°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **5** wurde gemäß Methode N2 aus D-Tyrosin (0,910 g; 5,0 mmol) und Thionylchlorid in Methanol hergestellt. Das Rohprodukt bedurfte keiner weiteren Aufreinigung.

Ausbeute: 0,955 g; 4,89 mmol (97,8 %)

Spez. Drehung Literaturwert<sup>290</sup>: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -74,0°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup>

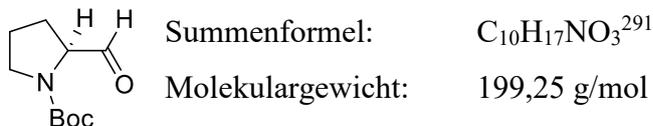
Drehwert L-Form [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +70,0°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

APCI-MS (+): m/z: 196.4 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.24 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.03 – 6.95 (m, 2H), 6.93 (q, *J* = 6.1, 5.2 Hz, 1H), 6.69 – 6.63 (m, 2H), 4.40 (td, *J* = 7.9, 5.9 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.84 (m *J* = 13.8, 7.1 Hz, 2H).

### 7.3.1.2 Aminoaldehydvorstufen

#### tert-Butyl-(S)-2-formylpyrrolidin-1-carboxylat (6) MF S166



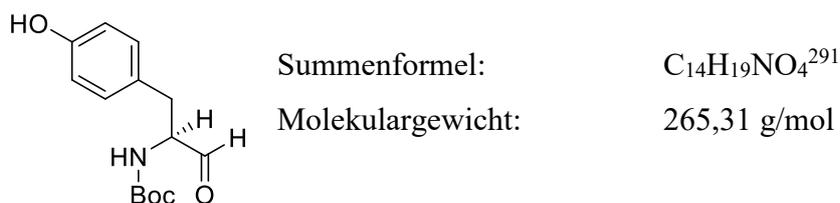
*Tert*-Butyloxycarbonat-L-prolinmethylester (1,61 g; 7,0 mmol) wurde in 70 ml Dichlormethan gelöst und auf -78 °C abgekühlt. Diisobutylaluminiumhydrid (21,0 ml 1M Lösung; 21,0 mmol) wurde langsam zu der gekühlten Lösung getropft. Nach 3h wurde mit wenigen Millilitern Methanol gequenched, die Kühlung entfernt und auf Raumtemperatur erwärmt. Der Ansatz wurde in 100 ml einer 10% Rochelle-Salzlösung (Na-K-Tatrat) gegossen und 15 min gerührt, bis die Lösung nicht mehr gelartig war. Der Ansatz wurde in einen Scheidetrichter überführt und die organische Phase von der wässrigen Phase getrennt. Die wässrige Phase wurde anschließend dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint und getrocknet.

Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution Hexan:Ethylacetat 88:12 – 73:17, Kieselgelsäule.

Ausbeute: 1,090 g, 5,45 mmol (77,9 %)

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.41 (t,  $J$  = 3.2 Hz, 1H), 4.05 (ddt,  $J$  = 8.6, 5.9, 3.6 Hz, 1H), 3.36 (dq,  $J$  = 6.5, 3.3, 2.6 Hz, 2H), 2.15 – 1.96 (m, 1H), 1.94 – 1.70 (m, 4H), 1.37 (d,  $J$  = 21.9 Hz, 11H).

#### tert-Butyl (S)-(1-(4-hydroxyphenyl)-3-oxopropan-2-yl)carbammat (7) MF S172



*Tert*-Butyloxycarbonat-L-tyrosinmethylester (1,420 g; 4,82 mmol) wurde in 50 ml Dichlormethan gelöst und auf -78°C abgekühlt. Diisobutylaluminiumhydrid (15,0 ml 1M Lösung; 15,0 mmol) wurde langsam zu der gekühlten Lösung getropft. Nach 2 h wurde mit wenigen Millilitern Methanol gequenched, die Kühlung entfernt und auf Raumtemperatur erwärmt. Der Ansatz wurde in 100 ml einer 10% Rochelle-Salzlösung gegossen und gerührt, bis die Lösung nicht mehr gelartig war. Der Ansatz wurde in einen Scheidetrichter überführt und die organische Phase von der wässrigen Phase getrennt.

Die wässrige Phase wurde anschließend dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint und getrocknet. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution Dichlormethan:Methanol 99:1 – 96:4, Kieselgelsäule.

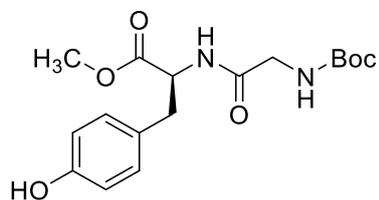
Ausbeute : 0,8620 g, 3,3 mmol (67,4 %)

APCI-MS (-): m/z: 264,4 [M-H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.34 (d, *J* = 90.4 Hz, 1H), 7.09 – 6.90 (m, 2H), 6.64 (m, 2H), 3.74 (dtd, *J* = 147.2, 9.3, 8.6, 4.3 Hz, 1H), 3.25 – 3.13 (m, 2H), 3.00 – 2.68 (m, 1H), 2.61 (dd, *J* = 14.1, 9.8 Hz, 1H), 1.48 – 1.13 (m, 9H).

### 7.3.1.3 Dipeptid-Vorstufen

#### Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-glycyl-L-tyrosinat (**8aL**) MF S29



Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molekulargewicht: 352,39 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -9,0°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10mg/ml, MeOH)

Verbindung **8aL**<sup>292</sup> wurde gemäß Methode A aus L-Tyrosinmethylester (1,074 g; 5,5 mmol) und *N*-Boc-Glycin (0,8770 g; 5,0 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,842 g; 5,5 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,98 ml; 5,5 mmol) in 50 ml DMF hergestellt.

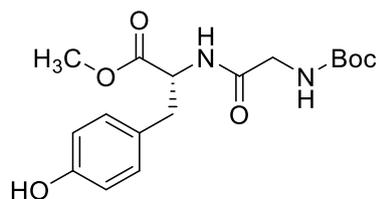
Ausbeute: 1,515 g; 4,3 mmol (86,0 %)

APCI-MS: (+): m/z: 252,0 [M-Boc+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

: m/z: 353,0/354,0 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.28 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 6.97 – 6.90 (m, 2H), 6.69 – 6.61 (m, 2H), 4.09 (q, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.96 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.28 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 2.98 (dd, *J* = 13.6, 4.2 Hz, 1H), 2.77 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H) 1.38 (s, 9H).

#### Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-glycyl-D-tyrosinat (**8aD**) ASID



Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molekulargewicht: 352,39 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +8,67°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup>

Verbindung **8aD**<sup>292</sup> wurde gemäß Methode A aus D-Tyrosinmethylester (0,649 g; 3,3 mmol) und *N*-Boc-Glycin (0,526 g; 3,0 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,459 g; 3,0 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,54 ml; 3,0 mmol) in 30 ml DMF hergestellt.

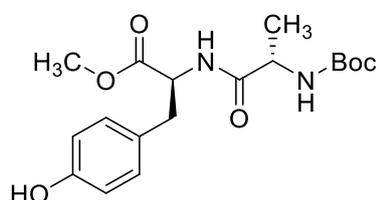
Ausbeute: 0,885 g; 2,51 mmol (83,7 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 252,0 [M-Boc+H]<sup>+</sup>

$m/z$ : 353,0 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.23 (s, 1H), 8.10 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.00 – 6.94 (m, 2H), 6.91 (t,  $J = 6.1$  Hz, 1H), 6.68 – 6.62 (m, 2H), 4.39 (q,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.52 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 2.88 – 2.73 (m, 2H), 1.37 (d,  $J = 2.1$  Hz, 9H).

#### Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-L-alanyl-L-tyrosinat (**8b**) MF S3



Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molekulargewicht: 366,41 g/mol

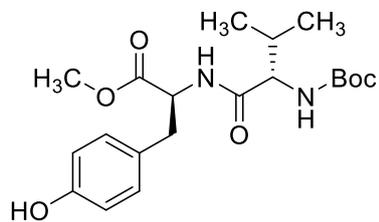
Verbindung **8b**<sup>293</sup> wurde gemäß Methode A aus L-Tyrosinmethylester (1,074 g; 5,5 mmol) und *N*-Boc-L-Alanin (0,946 g; 5,0 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,842 g; 5,5 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,98 ml; 5,5 mmol) in 50 ml DMF hergestellt.

Ausbeute: 1,301 g; 3,55 mmol (71,0 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 367,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.23 (s, 1H), 8.02 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.04 – 6.92 (m, 2H), 6.85 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.69 – 6.59 (m, 2H), 4.38 (q,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 4.00 – 3.91 (m, 1H), 3.57 (s, 3H), 2.84 (h,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.12 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H).

#### Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-L-valyl-L-tyrosinat (**8c**) MF S7



Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molekulargewicht: 394,47 g/mol

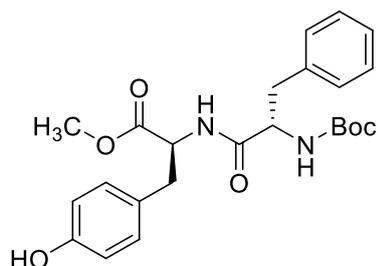
Verbindung **8c**<sup>293</sup> wurde gemäß Methode A aus L-Tyrosinmethylester (2,058 g; 10,5 mmol) und *N*-Boc-L-Valin (2,1762g; 10mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (1,607 g; 10,5 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (1,87 ml; 10,5 mmol) in 100 ml DMF hergestellt.

Ausbeute: 3,671 g; 9,31 mmol (93,1 %)

APCI-MS (+): m/z: 395,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.21 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.68 – 6.61 (m, 2H), 6.58 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.39 (q, *J* = 7.4 Hz, 1H), 3.83 – 3.73 (m, 1H), 3.56 (s, 3H), 2.89 – 2.76 (m, 2H), 1.86 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.38 (s, 9H), 0.78 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-L-phenylalanyl-L-tyrosinat (**8d**) MF S2



Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molekulargewicht: 442,51g/mol

Verbindung **8d**<sup>293</sup> wurde gemäß Methode A aus L-Tyrosinmethylester (0,649 g; 3,3 mmol) und *N*-Boc-L-Phenylalanin (0,800 g; 3,0 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,459 g; 3,0 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,54 ml; 3,0 mmol) in 30 ml DMF hergestellt.

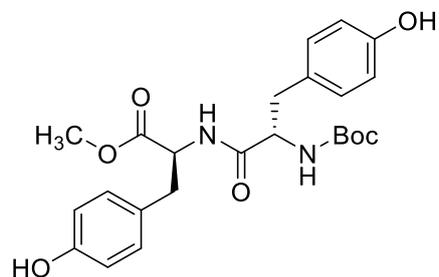
Ausbeute: 1,062 g; 2,4mmol (80,0%)

APCI-MS(+): m/z: 343,5 [M-Boc+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

m/z: 434,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.21 (s, 1H), 8.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.33 – 7.10 (m, 5H), 7.06 – 6.94 (m, 2H), 6.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.68 – 6.59 (m, 2H), 4.44 (s, 1H), 4.19 (td, *J* = 9.5, 4.0 Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.97 – 2.90 (m, 1H), 2.82 – 2.74 (m, 2H), 2.60 – 2.52 (m, 1H), 1.29 (s, 9H).

Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-L-tyrosyl-L-tyrosinat (**8e**) MF S19



Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Molekulargewicht: 458,51g/mol

Verbindung **8e**<sup>292</sup> wurde gemäß Methode A aus L-Tyrosinmethylester (1,074 g; 5,5 mmol) und *N*-Boc-L-Tyrosin (1,411 g; 5,0 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,842 g; 5,5 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,98 ml; 5,5 mmol) in 50 ml DMF hergestellt.

Ausbeute: 2,116 g; 4,62 mmol (92,3 %)

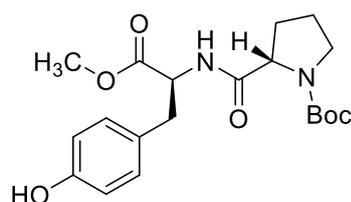
APCI-MS (+): m/z: 358,5/359,5 [M-Boc+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

m/z: 458,5 [M+H]<sup>+</sup>

APCI-MS (-): m/z: 457,5 [M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.21 (s, 2H), 8.33 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.06 – 6.94 (m, 4H), 6.68 – 6.59 (m, 4H), 4.44 (m, 1H), 4.19 (s, *J* = 9.5, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.93 – 2.85 (m, 1H), 2.80 – 2.73 (m, 2H), 2.61 – 2.52 (m, 1H), 1.31 (s, 9H).

Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-L-prolyl-L-tyrosinat (**8f**) MF S82



Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molekulargewicht: 392,45g/mol

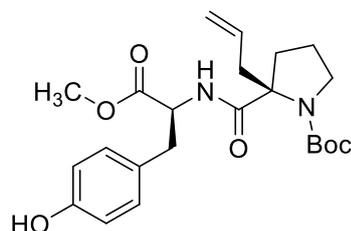
Verbindung **8f**<sup>293</sup> wurde gemäß Methode A aus L-Tyrosinmethylester (1,074 g; 5,5 mmol) und *N*-Boc-L-Prolin (1,076 g; 5,0 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,842 g; 5,5 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,98 ml; 5,5 mmol) in 50 ml DMF hergestellt.

Ausbeute: 1,570 g; 4,0 mmol (80,0%)

APCI-MS (+): m/z: 293,6 [M-Boc+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.19 (s, 1H), 8.10 (dd, *J* = 17.4, 7.7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.71 – 6.59 (m, 2H), 4.40 (p, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.17 – 3.97 (m, 1H), 3.58 (d, *J* = 9.2 Hz, 3H), 3.21 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 2.88 – 2.76 (m, 2H), 2.11 – 1.93 (m, 1H), 1.69 (dd, *J* = 12.9, 6.3 Hz, 3H), 1.30 (d, *J* = 46.8 Hz, 9H).

Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-L-α-allylprolyl-L-tyrosinat (**8g**) MF S143



Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molekulargewicht: 432,52g/mol

Verbindung **8g** wurde gemäß Methode A aus L-Tyrosinmethylester (0,586 g; 3,0 mmol) und *N*-Boc-L-allyl-prolin **4** (0,714 g; 2,8 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,4590g; 3,0 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,54 ml; 3,0 mmol) in 30 ml DMF hergestellt. Nach der Aufarbeitung erfolgte eine Aufreinigung mit Hilfe der Flash-Chromatographie. Elution mit Dichlormethan und Methanol (98:2) über eine Kieselgelsäule.

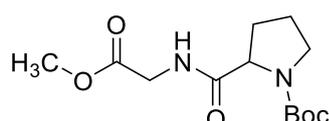
Ausbeute: 1,076 g; 2,49 mmol (88,9 %)

APCI-MS (+): m/z: 333,1 [M-Boc+H]<sup>+</sup>

APCI-MS (-): m/z: 431,1 [M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.99 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 7.06 – 6.87 (m, 2H), 6.73 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.49 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H), 5.59 (ddt, *J* = 17.4, 9.6, 7.3 Hz, 1H), 5.11 (dd, *J* = 13.4, 4.5 Hz, 2H), 4.83 – 4.70 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.58 – 3.34 (m, 1H), 3.33 – 3.08 (m, 2H), 3.02 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 2.91 (s, 1H), 2.74 – 2.55 (m, 1H), 2.39 (s, 1H), 2.17 – 1.91 (m, 1H), 1.79 (s, 1H), 1.64 (dt, *J* = 9.0, 6.5, 3.1 Hz, 1H), 1.44 (q, *J* = 4.6, 4.0 Hz, 9H).

Methyl-(*tert*-butyloxycabonyl)-L-prolyl-glycinat (**8h**) MF S86



Summenformel: C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>  
Molekulargewicht: 286,33g/mol

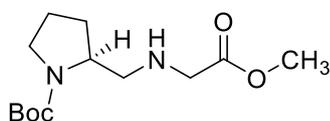
Verbindung **8h**<sup>288</sup> wurde gemäß Methode A aus Glycinmethylester Hydrochlorid (0,691 g; 5,5 mmol) und N-Boc-L-Prolin (1,076 g; 5,0 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,842 g; 5,5 mmol), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (0,98 ml; 5,5 mmol) und abweichend zur Methode A mit Triethylamin (2,1 ml; 15 mmol) in 50 ml DMF hergestellt. Nach der Aufarbeitung wurde das Produkt mit Hilfe der Flash-Chromatographie auf einer Kieselgelsäule mit einem Gradienten von Dichlormethan und Methanol (98:2-95:5) aufgereinigt:

Ausbeute: 1,236 g; 4,0 mmol (79,4 %)

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.31 – 8.15 (m, 1H), 4.10 (td, *J* = 10.3, 8.4, 2.9 Hz, 1H), 3.91 – 3.74 (m, 2H), 3.62 (s, 3H), 3.38 (dq, *J* = 6.9, 5.2 Hz, 1H), 3.30 – 3.22 (m, 1H), 2.18 – 2.01 (m, 1H), 1.87 – 1.69 (m, 3H), 1.36 (d, *J* = 17.1 Hz, 9H).

**7.3.1.4 Aminomethylcarbonyl-Vorstufen**

*tert*-Butyl-(*S*)-2-(((2-methoxy-2-oxoethyl)amino)methyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**9a**) MF S169



Summenformel: C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>294</sup>  
Molekulargewicht: 272,35 g/mol

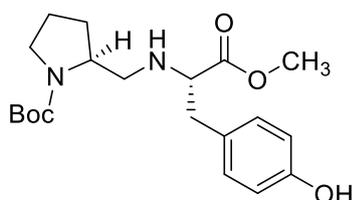
*tert*-Butyl-(*S*)-2-formylpyrrolidin-1-carboxylat **6** (0,9963 g; 5,0 mmol) wurde in 30 ml Methanol gelöst. Glycinmethylester Hydrochlorid (0,7534 g; 6 mmol) und Natriumcyanoborhydrid (0,3205 g; 5,1 mmol) wurden zugegeben und der Ansatz für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser und 1 N NaOH gewaschen. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution Dichlormethan:Methanol 98:2-96:4, Kieselgelsäule.

Ausbeute: 0,7192 g; 2,64 mmol (52,8 %)

APCI-MS (+): m/z: 273,4 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 3.67 (s, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.32 (s, 1H), 3.21 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 2.64 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 2.44 (s, 1H), 2.04 (s, 1H), 1.88 – 1.66 (m, 4H), 1.38 (s, 9H).

tert-Butyl-(S)-2-((((S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-methoxy-1-oxopropan-2-yl)amino)methyl)-pyrrolidin 1-carboxylat (9b) MF S176



Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 378,47 g/mol

*tert*-Butyl-(*S*)-(1-(4-hydroxyphenyl)-3-oxopropan-2-yl)carbamat **7** (1,196 g; 6,0 mmol) wurde in 50 ml Methanol gelöst. L-Tyrosinmethylester (1,757 g; 9,0 mmol) wurde zugegeben und der Ansatz für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Natriumcyanoborhydrid (0,4178 g; 6,6 mmol) wurden weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution Dichlormethan:Methanol 99:1-97:3, Kieselgelsäule.

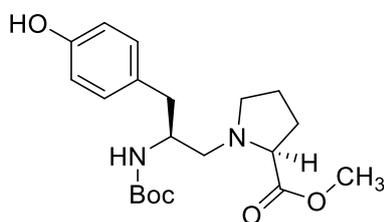
Ausbeute: 1,236 g; 3,27 mmol (54,4%)

APCI-MS (+): m/z: 379,8 [M+H]<sup>+</sup>

APCI-MS (-): m/z: 377,8 [M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.18 (s, 1H), 7.00 – 6.91 (m, 2H), 6.68 – 6.61 (m, 2H), 3.55 (s, 4H), 3.17 (d, *J* = 4.5 Hz, 4H), 2.73 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.74 (s, 4H), 1.38 (d, *J* = 5.2 Hz, 9H).

Methyl-(S)-2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(4-hydroxyphenyl)propyl)-L-prolinat (10) MF S175



Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 378,47 g/mol

*tert*-Butyl-(*S*)-(1-(4-hydroxyphenyl)-3-oxopropan-2-yl)carbamat **7** (1,015 g; 3,0 mmol) wurde in 25 ml Methanol gelöst. L-Prolinmethylester Hydrochlorid (0,7453 g; 4,5 mmol) wurde zugegeben und der Ansatz für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Natriumcyanoborhydrid Natriumcyanoborhydrid (0,2074 g; 3,3 mmol) wurden weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt.

Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution Dichlormethan:Methanol 98:2-97:3, Kieselgelsäule.

Ausbeute: 0,7559 g; 2,00 mmol (66,7 %)

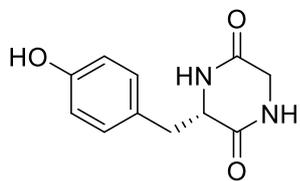
APCI-MS (+): m/z: 379,8 [M+H]<sup>+</sup>

APCI-MS (-): m/z: 377,8 8 [M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.07 (s, 1H), 6.98 – 6.90 (m, 2H), 6.68 – 6.60 (m, 2H), 6.53 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.59 (s, 4H), 3.26 – 3.15 (m, 2H), 3.05 – 2.97 (m, 1H), 2.77 (dd, *J* = 13.9, 4.9 Hz, 1H), 2.56 (dd, *J* = 12.0, 8.0 Hz, 1H), 2.41 (dt, *J* = 12.5, 6.0 Hz, 3H), 2.04 – 1.92 (m, 1H), 1.76 (q, *J* = 6.8, 6.3 Hz, 3H), 1.31 (s, 9H).

### 7.3.1.5 1,5-Diketopiperazin-Vorstufen

#### (S)-3-(4-Hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion (11aL) MF S32



Summenformel: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 220,23 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +60,0°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

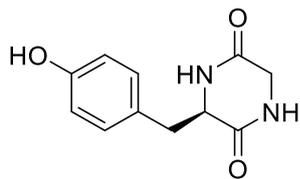
Verbindung **8aL** (1,515 g; 4,3 mmol) wurde gemäß Methode Q in 40 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (10 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 75 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und Verbindung **11aL**<sup>292</sup> als Niederschlag abgesaugt.

Ausbeute: 0,7539 g ; 3,43 mmol (79,8%)

APCI-MS (+): m/z: 221,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.28 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 6.99 – 6.85 (m, 2H), 6.72 – 6.60 (m, 2H), 3.96 (q, *J* = 4.2 Hz, 1H), 3.32 – 3.27 (dd, 1H), 2.98 (dd, *J* = 13.6, 4.2 Hz, 1H), 2.79 – 2.65 (m, 2H).

#### (R)-3-(4-Hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion (11aD) ASCycloD



Summenformel: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 220,23 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -55,33°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **8aD** (0,7049 g; 2,0 mmol) wurde gemäß Methode Q in 20 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (5 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 50 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt.

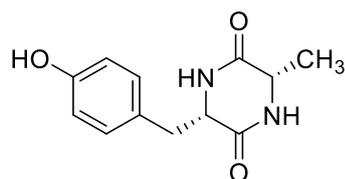
Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und Verbindung **11aD**<sup>292</sup> als Niederschlag abgesaugt.

Ausbeute: 0,2731 g; 1,24 mmol (62,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 221,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.28 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 6.99 – 6.85 (m, 2H), 6.72 – 6.60 (m, 2H), 3.96 (q, *J* = 4.2 Hz, 1H), 3.32 – 3.27 (dd, 1H), 2.98 (dd, *J* = 13.6, 4.2 Hz, 1H), 2.79 – 2.65 (m, 2H).

(3*S*,6*S*)-3-(4-Hydroxybenzyl)-6-methylpiperazin-2,5-dion(11b) MF S4



Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 234,26g/mol

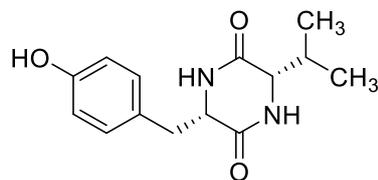
Verbindung **8b** (0,7805 g; 2,13 mmol) wurde gemäß Methode Q in 20 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (5 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 50 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und Verbindung **11b**<sup>293</sup> als Niederschlag abgesaugt.

Ausbeute: 0,3341g; 1,42mmol (66,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 235,0 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.21 (s, 1H), 8.00 (dd, *J* = 15.4, 2.2 Hz, 2H), 6.97 – 6.89 (m, 2H), 6.70 – 6.59 (m, 2H), 4.15 – 4.01 (m, 2H), 3.68 – 3.55 (m, 1H), 3.17 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3.01 (dd, *J* = 13.6, 3.7 Hz, 1H), 2.73 (dd, *J* = 13.6, 4.8 Hz, 1H), 0.53 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H).

(3*S*,6*S*)-3-(4-Hydroxybenzyl)-6-isopropylpiperazin-2,5-dion (11c) MF S8



Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 2362,31 g/mol

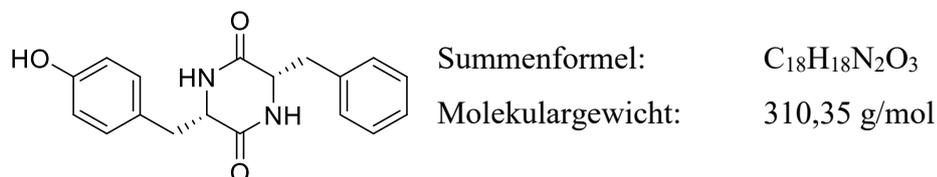
Verbindung **8c** (3,671 g; 9,31 mmol) wurde gemäß Methode Q in 70 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (25 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 150 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und Verbindung **11c**<sup>293</sup> als Niederschlag abgesaugt.

Ausbeute: 2,034 g; 7,78 mmol (83,4 %)

APCI-MS (+): m/z: 262,3 [M+H]<sup>+</sup>

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.12 (s, 1H), 8.00 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 7.87 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 7.01 – 6.91 (m, 2H), 6.68 – 6.56 (m, 2H), 3.52 (dt,  $J$  = 3.8, 1.8 Hz, 1H), 3.17 (d,  $J$  = 4.7 Hz, 1H), 3.01 (dd,  $J$  = 13.7, 4.5 Hz, 1H), 2.76 (dd,  $J$  = 13.7, 4.9 Hz, 1H), 1.73 (pd,  $J$  = 6.9, 3.8 Hz, 1H), 0.68 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 0.34 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H).

(3*S*,6*S*)-3-Benzyl-6-(4-hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion (**11d**) MF S5



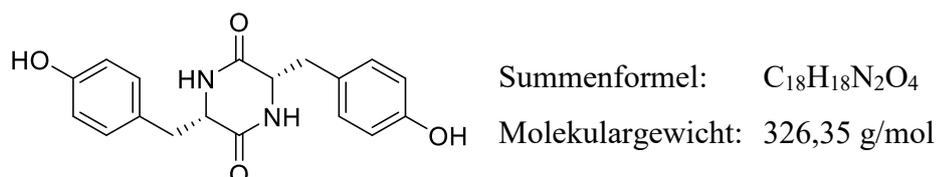
Verbindung **8d** (1,901 g; 4,3 mmol) wurde gemäß Methode Q in 40 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (15 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 75 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und Verbindung **11d**<sup>293</sup> als Niederschlag abgesaugt.

Ausbeute: 0,5066 g; 1,63 mmol (37,9 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 311,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.24 (s, 1H), 8.00 (d,  $J$  = 1.7 Hz, 1H), 7.96 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 7.27 – 7.19 (m, 3H), 7.12 (dd,  $J$  = 7.4, 2.1 Hz, 2H), 6.93 – 6.87 (m, 2H), 6.65 – 6.59 (m, 2H), 3.99 – 3.84 (m, 2H) 3.00 (dd,  $J$  = 13.6, 3.7 Hz, 1H), 2.89 (dd,  $J$  = 13.7, 3.6 Hz, 1H), 2.71 (dd,  $J$  = 13.6, 4.9 Hz, 1H), 2.60 (dd,  $J$  = 13.7, 4.8 Hz, 1H).

(3*S*,6*S*)-3,6-bis-(4-Hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion (**11e**) MF S21

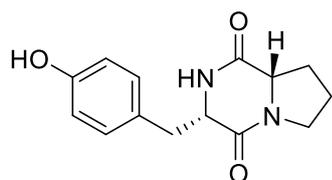


Verbindung **8e** (2,116 g; 4,6 mmol) wurde gemäß Methode Q in 40 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (15 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 75 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und Verbindung **11e**<sup>292</sup> als Niederschlag über eine Glasfritte abfiltriert.

Ausbeute: 1,320 g; 4,04 mmol (87,4 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 327,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.21 (s, 2H), 7.77 (d,  $J$  = 2.7 Hz, 2H), 6.87 – 6.80 (m, 4H), 6.71 – 6.63 (m, 4H), 3.84 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 2.57 – 2.50 (dd, 2H), 2.10 (dd,  $J$  = 13.7, 6.5 Hz, 2H).

(3*S*,8*aS*)-3-(4-Hydroxybenzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion(11*f*) MF S83Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

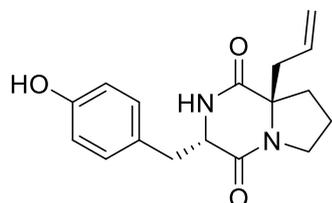
Molekulargewicht: 260,29 g/mol

Verbindung **8f** (1,570 g; 4,0 mmol) wurde gemäß Methode Q in 40 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (12 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 60 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt abweichend zur Methode D wurde kein Niederschlag erhalten und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit 1 N wässriger HCl Lösung gewaschen. Die Wasserphase wurde mindestens fünfmal mit gleichem Volumen Dichlormethan extrahiert und mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie auf Produktrückstände kontrolliert. Nach vollständiger Extraktion wurden die organischen Phasen vereint, mit Magnesiumsulfat getrocknet, gefiltert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und sauberes Produkt **11f**<sup>293</sup> erhalten.

Ausbeute: 0,8580 g; 3,3 mmol (82,5 %)

APCI-MS (+): m/z: 261,1 [M+H]<sup>+</sup>APCI-MS (-): m/z: 260,0 [M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.18 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.14 – 7.01 (m, 2H), 6.73 – 6.58 (m, 2H), 4.25 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.05 (ddd, *J* = 10.1, 6.7, 1.5 Hz, 1H), 3.41 (dt, *J* = 11.6, 8.1 Hz, 1H), 3.26 (dt, *J* = 12.1, 6.4 Hz, 1H), 2.98 – 2.89 (m, 2H), 2.01 (ddt, *J* = 11.9, 6.7, 4.8 Hz, 1H), 1.72 (ttd, *J* = 10.6, 6.8, 4.7 Hz, 2H), 1.41 (dq, *J* = 12.2, 9.5 Hz, 1H).

(3*S*,8*aR*)-8*a*-Allyl-3-(4-hydroxybenzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (11*g*) MFS147Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 300,36 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: 25,67°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **8g** (0,7142 g; 2,8 mmol) wurde gemäß Methode Q in 20 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (10 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung konnte sowohl das Methylesterderivat (0,94 mmol), wie auch die freie Säure (1,1 mmol) detektiert und gewonnen werden. Die freie Säure wurde gemäß Methode N2 in Methanol gelöst und mit Thionylchlorid versetzt. Die Aufarbeitung lieferte quantitativ den Methylester.

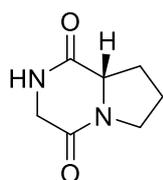
Das vereinigte Edukt (2,0 mmol) wurden Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt. Abweichend zur Methode D wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Isokratische Elution mit Hexan und Essigsäureethylester (1:9) über eine aminomodifizierte Kieselgelsäule. Die Aufreinigung lieferte sowohl Verbindung **11g** als auch Edukt **8g**, welches erneut nach Methode D über 48 h umgesetzt wurde und nach oben beschriebener Methode aufgereinigt wurde.

Ausbeute: 0,1781g; 0,59mmol (29,4%)

APCI-MS (+): m/z: 301,7 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.16 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.03 – 6.96 (m, 2H), 6.64 – 6.58 (m, 2H), 5.75 – 5.58 (m, 1H), 5.12 (dt, *J* = 4.5, 1.7 Hz, 1H), 5.07 (s, 1H), 4.26 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 3.53 (ddd, *J* = 12.0, 9.1, 6.6 Hz, 1H), 3.26 (ddd, *J* = 12.5, 9.3, 4.3 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 13.9, 3.9 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 13.9, 5.0 Hz, 1H), 2.35 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.88 – 1.74 (m, 2H), 1.62 (tt, *J* = 13.5, 7.4 Hz, 1H), 1.52 – 1.24 (m, 2H).

(S)-Hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (**11h**) MF S87



Summenformel: C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 154,17g/mol

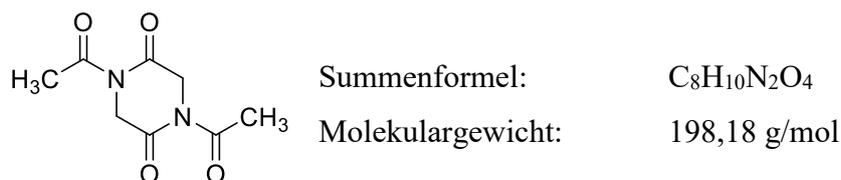
Verbindung **8f** (0,8221 g; 2,9 mmol) wurde gemäß Methode Q in 40 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (15 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 60 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, filtriert und der Filter mehrfach mit Dichlormethan gespült. Das Lösungsmittel wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, unter vermindertem Druck entfernt und Verbindung **11h**<sup>293</sup> erhalten.

Ausbeute: 0,2763 g; 1,8 mmol (62,4 %)

APCI-MS (+): m/z: 155,2 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

APCI-MS (-): m/z 153,5 [M-H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>

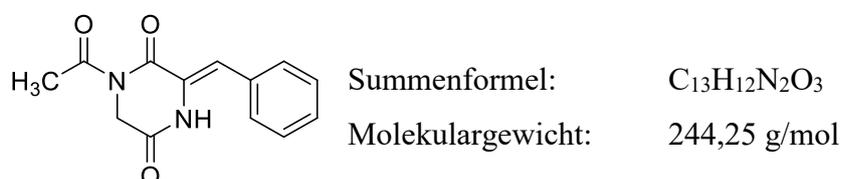
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.06 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.11 (ddd, *J* = 8.3, 5.6, 1.9 Hz, 1H), 3.99 (dd, *J* = 16.5, 1.8 Hz, 1H), 3.50 (dd, *J* = 16.4, 4.5 Hz, 1H), 3.44 – 3.28 (m, 2H), 2.22 – 2.05 (m, 1H), 1.98 – 1.70 (m, 3H).

1,4-Diacetylpiperazin-2,5-dion (12) MF S42

Verbindung **12**<sup>233</sup> wurde gemäß Methode U aus Piperazin-2-on hergestellt.

Ausbeute: quantitativer Umsatz

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 4.53 (s, 4H), 2.43 (s, 6H).

(Z)-1-acetyl-3-benzylidenepiperazin-2,5-dion (13) MF S44

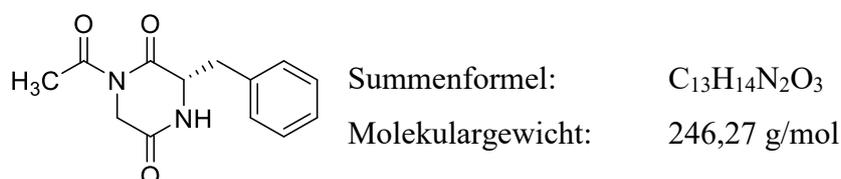
Verbindung **13**<sup>232</sup> wurde gemäß Methode V aus 1,4-Diacetylpiperazin-2,5-dion **12** (1,982 g; 10,0 mol), Benzaldehyd (0,68 ml; 6,7 mmol) und Cäsiumcarbonat (3,259 g; 10,0 mmol) in 50 ml Dimethylformamid bei Raumtemperatur in 48 h hergestellt.

Ausbeute: 1,171 g; 4,8 mmol (71,6 %)

APCI-MS (+): m/z: 202,9 [M-Acetyl+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

m/z: 244,9 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.35 (s, 1H), 7.63 – 7.55 (m, 2H), 7.48 – 7.31 (m, 3H), 6.96 (s, 1H), 4.37 (s, 2H), 3.32 (s, 3H).

(S)-1-Acetyl-3-benzylpiperazin-2,5-dion (14) MF S66

Verbindung **14**<sup>231</sup> wurde gemäß Methode T aus (Z)-1-Acetyl-3-benzylidenepiperazin-2,5-dion **13** (0,3840 g; 1,6 mmol) und 10% Palladium auf Aktivkohle (150 mg, katalytisch) in 25 ml Essigsäureethylester hergestellt.

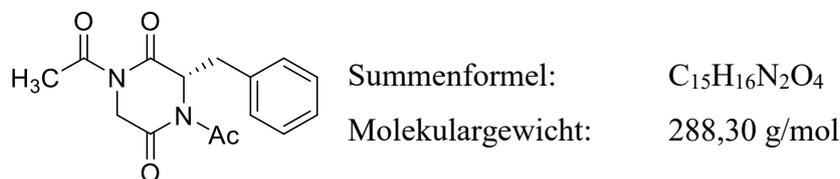
Ausbeute: 0,3340 g; 1,4 mmol (87,7 %)

APCI-MS (+): m/z: 204,8 [M-Acetyl+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

m/z: 246,8 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.39 – 7.30 (m, 3H), 7.23 – 7.16 (m, 2H), 6.39 (s, 1H), 4.37 (ddd,  $J = 6.9, 4.1, 2.3$  Hz, 1H), 4.21 (d,  $J = 18.2$  Hz, 1H), 3.52 (d,  $J = 18.1$  Hz, 1H), 3.27 (dd,  $J = 13.9, 4.1$  Hz, 1H), 3.11 (dd,  $J = 13.9, 7.4$  Hz, 1H), 2.59 (s, 3H).

(S)-1,4-Diacetyl-3-benzylpiperazin-2,5-dion (15) MF S74



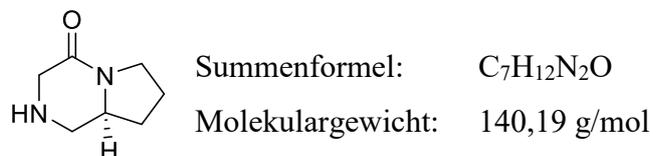
Verbindung **15**<sup>232</sup> wurde gemäß Methode U aus 1-Acetyl-3-benzylpiperazin-2,5-dion **14** (0,3080g; 1,25mmol) hergestellt.

Ausbeute: quantitativer Umsatz

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.36 – 7.27 (m, 3H), 7.10 – 7.04 (m, 2H), 5.44 (dd,  $J = 5.5, 4.4$  Hz, 1H), 4.49 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H), 3.35 (dd,  $J = 14.0, 4.4$  Hz, 1H), 3.21 (dd,  $J = 14.0, 5.5$  Hz, 1H), 2.59 (s, 3H), 2.56 (s, 3H), 2.47 (d,  $J = 19.0$  Hz, 1H).

**7.3.1.6 Ketopiperazin-Vorstufen**

(S)-Hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-4(1H)-on (16) MF S170

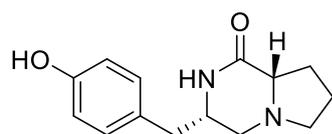


Verbindung **9a**<sup>295</sup> (0,539 g; 2,2 mmol) wurde gemäß Methode Q in 20 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (8 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 30 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen filtriert und der Filter mehrfach mit Dichlormethan gespült. Das Lösungsmittel wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie mit Dichlormethan:Methanol/ $\text{NH}_3$  95:5 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,2820 g; 2,0 mmol (91,4 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 141,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  3.51 – 3.35 (m, 2H), 3.28 – 3.14 (m, 3H), 3.05 (d,  $J = 17.4$  Hz, 1H), 2.27 (dd,  $J = 12.6, 10.2$  Hz, 1H), 1.95 (dddd,  $J = 11.7, 6.6, 5.0, 1.3$  Hz, 1H), 1.88 – 1.79 (m, 1H), 1.67 (tt,  $J = 12.4, 9.4, 6.7$  Hz, 1H), 1.29 (qd,  $J = 11.5, 7.5$  Hz, 1H).

(3*S*,8*aS*) 3-(4-Hydroxybenzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1(2*H*)-on (17) MF S179Summenformel: C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

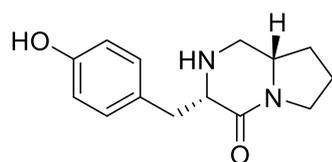
Molekulargewicht: 246,31 g/mol

Verbindung **10** (0,7559 g; 2,0 mmol) wurde gemäß Methode Q in 20 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (8 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 30 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, filtriert und der Filter mehrfach mit Dichlormethan gespült. Das Lösungsmittel wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, unter vermindertem Druck entfernt. Die Aufreinigung des Rohprodukts wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> als Eluent durchgeführt.

Ausbeute: 0,4251g; 1,73mmol (86,3%)

APCI-MS: (+): m/z: 247,5/248,5 (M+H)<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.22 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.02 – 6.91 (m, 2H), 6.74 – 6.63 (m, 2H), 3.52 – 3.40 (m, 1H), 2.96 – 2.69 (m, 3H), 2.55 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 2.49 – 2.40 (m, 2H), 2.34 (dd, *J* = 11.1, 4.0 Hz, 1H), 1.99 – 1.84 (m, 1H), 1.83 – 1.53 (m, 3H).

(3*S*,8*aS*)-3-(4-Hydroxybenzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-4(1*H*)-on (18) MF S180Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 246,31 g/mol

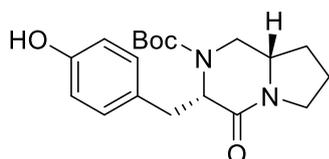
Verbindung **9b** (1,236 g; 3,3 mmol) wurde gemäß Methode Q in 40 ml Dioxan gelöst und mit 4N HCl in Dioxan (10 ml) versetzt. Nach der Aufarbeitung wurde der Rückstand in 50 ml Methanol gelöst und gemäß Methode D mit 25%iger wässriger Ammoniak Lösung versetzt. Am Ende der Reaktionszeit wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, filtriert und der Filter mehrfach mit Dichlormethan gespült. Das Lösungsmittel wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, unter vermindertem Druck entfernt. Die Aufreinigung des Rohprodukts wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> als Eluent durchgeführt.

Ausbeute: 0,6866 g; 2,8 mmol (85,2 %)

APCI-MS (+): m/z: 247,5 [M+H]<sup>+</sup>

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.13 (s, 1H), 7.05 – 6.93 (m, 2H), 6.71 – 6.55 (m, 2H), 3.50 – 3.38 (m, 2H), 3.31 – 3.22 (m, 2H), 2.94 (dd,  $J$  = 12.7, 4.0 Hz, 1H), 2.84 (dd,  $J$  = 13.6, 3.5 Hz, 1H), 2.68 (dd,  $J$  = 13.7, 9.6 Hz, 1H), 2.32 (dd,  $J$  = 12.8, 10.0 Hz, 1H), 1.97 – 1.79 (m, 2H), 1.68 (dddd,  $J$  = 15.1, 9.5, 7.5, 4.8 Hz, 1H), 1.22 (qd,  $J$  = 11.5, 7.5 Hz, 1H).

tert-Butyl-(3S,8aS)-3-(4-hydroxybenzyl)-4-oxohexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-2(1H)-carboxylat (19) MF S181



Summenformel:  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3$   
 Molekulargewicht: 317,37 g/mol

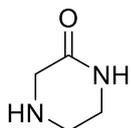
Verbindung **19** wurde gemäß Methode P1 aus 3-(4-Hydroxybenzyl)hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-4(1H)-on **18** (0,6866 g; 2,79 mmol) und Di-tertbutyl-dicarbonat(0,6986 g; 3,2 mmol) in Dichlormethan hergestellt.

Ausbeute: 0,9278 g; 2,7 mmol (96,0 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ :347,4  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.34 (d,  $J$  = 4.0 Hz, 1H), 6.14 – 5.98 (m, 2H), 5.93 – 5.75 (m, 2H), 3.67 – 3.48 (m, 1H), 3.23 (ddd,  $J$  = 63.8, 13.3, 3.8 Hz, 1H), 2.59 (dd,  $J$  = 10.5, 6.4 Hz, 2H), 2.45 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 2H), 2.23 – 2.02 (m, 2H), 1.53 (dd,  $J$  = 13.3, 10.6 Hz, 1H), 1.09 (ddt,  $J$  = 21.5, 14.9, 6.6 Hz, 2H), 0.94 – 0.83 (m, 1H), 0.64 (s, 4H), 0.53 (s, 2H), 0.35 (s, 3H).

Piperazin-2-on (20) MF S56



Summenformel:  $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$   
 Molekulargewicht: 100,12 g/mol

Chloroacetylchlorid (11,5 ml; 110 mmol) wurde in 25 ml Ethanol gelöst und langsam zu einer eisgekühlten Lösung von Ethylendiamin (32,5 ml; 487 mmol) in 150 ml Ethanol getropft. Das Eisbad wurde entfernt und der Ansatz für 4 h gerührt. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurde der Reaktionsfortschritt überwacht. Nach vollständigem Umsatz des Ethylchloroacetats zum Intermediat Ethyl (2-aminoethyl)glycinat (146,19 g/mol; APCI-MS (+): $m/z$ :146,2  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$ ) wurde eine Lösung von Natrium (110 mmol; 2,530 g) in 25 ml Methanol langsam zugetropft und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wurde filtriert und das Lösungsmittel sowie das überschüssige Ethylendiamin unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde erneut in 100 ml Ethanol aufgenommen und 4 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand 3x in 150 ml Toluol jeweils 3 h ausgekocht<sup>296</sup>.

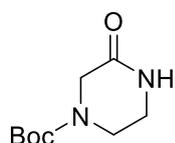
Das Toluol wurde vereint, auf das halbe Volumen reduziert und über Nacht in den Gefrierschrank gestellt. Verbindung **20** wurde als Niederschlag über eine Glasfritte filtriert und getrocknet.

Ausbeute: 6,276 g; 62,7 mmol (57,0 %)

APCI-MS (+) : m/z: 101,2 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.62 (s, 1H), 3.14 (s, 2H), 3.11 (td, *J* = 5.5, 2.4 Hz, 2H), 2.76 (dd, *J* = 5.9, 4.9 Hz, 2H).

*tert*-Butyl 3-oxopiperazin-1-carboxylat (**21**) MF S67



Summenformel: C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 200,24 g/mol

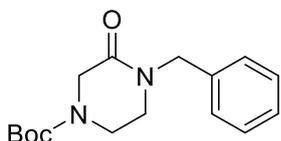
Verbindung **21**<sup>275</sup> wurde gemäß Methode P1 aus Piperazin-2-on **20** (2,3g;23mmol) und Di-*tert*butyl-dicarbonat (5,0198g; 23mmol) in 100 ml Dichlormethan hergestellt.

Ausbeute: 4,5g; 22,5 mmol (97,8%)

APCI-MS: (+): m/z: 201,5/202,5 (M+H)<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.04 (s, 1H), 3.81 (s, 2H), 3.45 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.16 (td, *J* = 5.5, 5.0, 2.8 Hz, 2H), 1.41 (s, 9H).

*tert*-Butyl 4-benzyl-3-oxopiperazin-1-carboxylat(**22**) MF S118



Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 290,36 g/mol

Verbindung **22**<sup>275</sup> wurde gemäß Methode H aus *tert*-Butyl 3-oxopiperazin-1-carboxylat **21** (3,002 g; 15,0 mmol), Natriumhydrid (60% in Mineralöl) (1,00 g; 25,0 mmol), Benzylbromid (3,0 ml; 25,0 mmol) und Tetrabutylammoniumbromid (kat.) in Tetrahydrofuran hergestellt. Nach der Aufarbeitung wurde das Produkt mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution mit Hexan und Essigsäureethylester (75:25-55:45) über eine Kieselgelsäule.

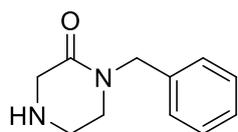
Ausbeute: 2,739 g; 9,4 mmol (62,9 %)

APCI-MS (+): m/z: 235,4 [M-Tertbutyl+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

m/z: 291,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39 – 7.24 (m, 5H), 4.64 (s, 2H), 4.17 (s, 2H), 3.60 (dd, *J* = 6.1, 4.8 Hz, 2H), 3.27 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 1.48 (s, 9H).

1-Benzylpiperazin-2-on x HCl (23) MF S119



Summenformel:  $C_{16}H_{22}N_2O_3$   
 Molekulargewicht: 190,25g/mol  
 226,70g/mol (HCl-Salz)

Verbindung **22**<sup>275</sup> (2,614 g; 9,0 mmol) wurde gemäß Methode Q in 50 ml Dioxan gelöst, mit 4 N HCl in Dioxan (25 ml) versetzt und 24 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, der Rückstand in Methanol aufgenommen, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, erneut wiederholt und Verbindung **15** erhalten.

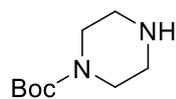
Ausbeute als Hydrochlorid: 1,790 g; 7,9 mmol (87,8 %)

APCI-MS (+): m/z: 191,2 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.93 (s, 2H), 7.42 – 7.23 (m, 5H), 4.58 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.51 – 3.42 (m, 2H), 3.40 – 3.35 (m, 2H).

**7.3.1.7 Verschiedene Vorstufen**

tert-Butyl piperazin-1-carboxylat (24) MF S30



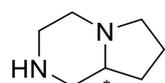
Summenformel:  $C_9H_{18}N_2O_2$   
 Molekulargewicht: 186,26 g/mol

Verbindung **24** wurde gemäß Methode P2 aus Piperazin (0,8691g; 10,0 mmol) und Di-tert-butyl-dicarbonat (1,092 g; 5,0 mmol) in Dichlormethan hergestellt.

Ausbeute: 0,7546 g; 4,1 mmol (81,0 %)

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 3.27 – 3.15 (m, 4H), 2.65 – 2.55 (m, 4H), 1.39 (s, 9H).

Octahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin (25) MF S101



Summenformel:  $C_7H_{14}N_2$   
 Molekulargewicht: 126,20g/mol  
 199,12g/mol (2x HCl-Salz)

Verbindung **25**<sup>295</sup> wurde gemäß Methode S aus Hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (**11h**) (0,616g; 4mmol) und 2M Lithiumaluminiumhydrid Lösung (12 ml) in Tetrahydrofuran hergestellt. Nach der Aufarbeitung wurde das Produkt in Natriumhydroxid Lösung gelöst und abdestilliert (Pumpe: 50 mbar, Temperatur der Gasphase: 29°C). Das Produkt wurde Zusammen mit Wasser abdestilliert, welches mit 2M wässriger HCl Lösung auf pH 1 eingestellt

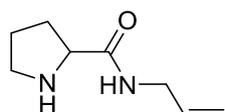
wurde. Die Lösung wurde mit Hilfe des Gefriertrockners getrocknet und das Produkt als Hydrochloridsalz erhalten.

Ausbeute 0,5410 g; 2,7 mmol (67,8 %) als 2\*HCl Salz

APCI-MS (+): m/z: 127,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 3.72 (s, 3H), 3.56 (tt, *J* = 13.6, 10.3 Hz, 4H), 2.40 (dq, *J* = 13.1, 6.7 Hz, 1H), 2.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.99 (s, 1H).

#### N-Allylpyrrolidin-2-carbonsäure x HCl (27) MF S111



Summenformel: C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 154,21 g/mol

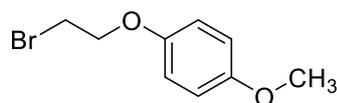
190,67 g/mol (HCl-Salz)

Aus L-Boc-Prolin (1,291 g; 6,0 mmol), Allylamin (0,47 ml; 6,1 mmol) unter Zugabe von Hydroxybenztriazol (0,9180 g; 6,0 mmol) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (1,1 ml; 6,0 mmol) in 50 ml Dichlormethan wurde tert-Butyl 2-(allylcarbamoyl)pyrrolidin-1-carbonsäure (**26**) hergestellt. Nach der Aufarbeitung wurde Verbindung **26** in Ethanol gelöst, mit 4 N HCl in Dioxan (15 ml) versetzt und 24h bei Raumtemperatur gerührt. Verbindung **27**<sup>297</sup> wurde nach entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck erhalten.

Ausbeute: 0,8009 g; 4,2 mmol (70,0 %) als HCl Salz

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.27 (s, 1H), 8.87 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 5.81 (ddt, *J* = 17.2, 10.3, 5.1 Hz, 1H), 5.25 – 5.01 (m, 2H), 4.25 – 4.10 (m, 1H), 3.76 (ddt, *J* = 7.0, 5.1, 1.6 Hz, 2H), 3.27 – 3.10 (m, 2H), 2.38 – 2.23 (m, 1H), 1.95 – 1.72 (m, 3H).

#### 1-(2-Bromethoxy)-4-methoxybenzen (28) MF S188



Summenformel: C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>BrO<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 231,09 g/mol

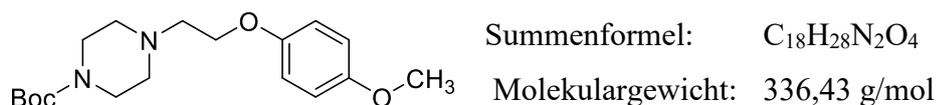
Methoxyphenol (1,2440 g; 10,0 mmol), 1,2-Dibromethan (4,3 ml; 50,0 mmol), Kaliumhydroxid (1,222 g; 20,0 mmol) und Tetrabutylammoniumbromid (kat.) wurden in 30 ml Wasser gelöst. Der Ansatz wurde 18 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem entfernt. Verbindung **28** wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie über Kieselgel mit Hexan: Ethylacetat 9:1 aufgereinigt.

Ausbeute: 1,003 g; 4,3 mmol (43,3 %)

APCI-MS (+): m/z: 231,7 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.90 – 6.80 (m, 4H), 4.24 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.61 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H).

tert-Butyl 4-(2-(4-methoxyphenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat (29) MF S190



Verbindung **29** wurde gemäß Methode E aus 1-(2-bromoethoxy)-4-methoxybenzen (0,6933 g; 3,0 mmol) tert-Butyl piperazin-1-carboxylat **24** (0,6515 g, 3,5 mmol), Kaliumcarbonat (0,8281g; 6,0 mmol) und Kaliumidoid (kat.) in Acetonitril synthetisiert.

Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol 98:2 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,6639 g; 2,0 mmol (65,7 %)

APCI-MS (+): m/z: 337,6  $[M+H]^+$

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  6.89 – 6.81 (m, 4H), 4.00 (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.29 (d,  $J = 5.2$  Hz, 4H), 2.67 (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 2.44 – 2.39 (m, 4H), 1.39 (s, 9H).

1-(2-(4-Methoxyphenoxy)ethyl)piperazin (30) MF S192



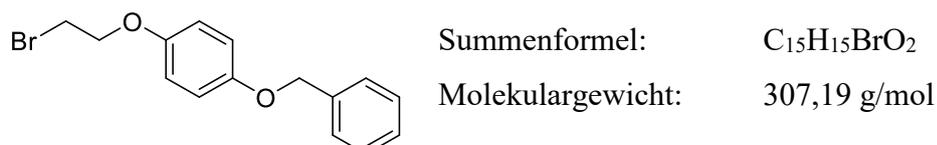
Verbindung **29** wurde gemäß Methode Q aus tert-Butyl 4-(2-(4-methoxyphenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat (0,6601 g; 2,0 mmol) mit HCl in Dioxan synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit 2 N NaOH Lösung aufgenommen und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 0,4608 g; 2,0 mmol (quantitativ)

APCI-MS (+): m/z: 237,5  $[M+H]^+$

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.89 (s, 2H), 7.00 – 6.93 (m, 2H), 6.91 – 6.85 (m, 2H), 4.35 (t,  $J = 4.9$  Hz, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.56 (s, 10H).

1-(Benzyloxy)-4-(2-bromoethoxy)benzen (31) MF S189



Benzyloxyphenol (2,002 g; 10,0 mmol), 1,2-Dibromethan (4,3 ml; 50,0 mmol), Kaliumhydroxid (1,222g; 20 mmol) und Tetrabutylammoniumbromid (kat.) wurden in 30 ml Wasser gelöst. Der Ansatz wurde 18 Stunden unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel

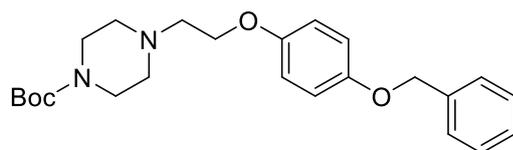
wurde unter vermindertem entfernt. Verbindung **31** wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie über Kieselgel mit Hexan: Ethylacetat 9:1 aufgereinigt.

Ausbeute: 1,218 g; 4,0 mmol (40,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 307,2 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.46 – 7.28 (m, 5H), 6.95 – 6.83 (m, 4H), 5.02 (s, 2H), 4.24 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.61 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H).

*tert*-Butyl 4-(2-(4-(benzyloxy)phenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat (**32**) MF S191



Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 412,53 g/mol

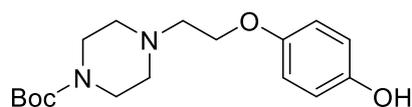
Verbindung **32** wurde gemäß Methode E aus 1-(benzyloxy)-4-(2-bromoethoxy)benzen (2,918 g; 9,5 mmol), *tert*-Butyl piperazin-1-carboxylat **16** (1,536 g; 8,3 mmol), Kaliumcarbonat (3,610 g; 25,0 mmol) und Kaliumidoid (kat.) in Acetonitril synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie über Kieselgel mit DCM: MeOH 98:2 aufgereinigt.

Ausbeute: 3,109 g; 7,54 mmol (91,4 %)

APCI-MS (+): m/z: 413,7 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.47- 7.27 (m, 5H), 6.96 6.82 (m, 4H), 5.03 (s, 2H), 4.00 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.30 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 2.67 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.41 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 1.39 (s, 9H).

*tert*-Butyl 4-(2-(4-hydroxyphenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat (**33**) MF S193



Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 322,41 g/mol

*tert*-Butyl 4-(2-(4-(benzyloxy)phenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat (**32**) (3,100 g; 7,5 mmol) wurde in Methanol und Ethylacetat gelöst, mit Pd/C versetzt und unter H<sub>2</sub> Atmosphäre im Autoklaven bei 40 °C und 5 Bar Druck 72 h gerührt. Verbindung xx wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol 98:2 aufgereinigt.

Ausbeute: 1,623 g; 5,03 mmol (66,8 %)

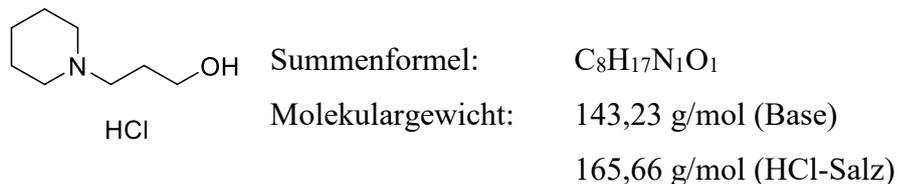
APCI-MS (+): m/z: 223,3 [M-Boc+H]<sup>+</sup>

m/z: 323,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.89 (s, 1H), 6.79 – 6.71 (m, 2H), 6.70 – 6.62 (m, 2H), 3.97 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.69 (s, 2H), 2.44 (s, 4H), 1.39 (s, 9H).

### 7.3.1.8 Vorstufen mit Histamin H<sub>3</sub>R Antagonisten-Pharmakophor

#### 3-(Piperidin-1-yl)propan-1-ol xHCl (34) Pip1

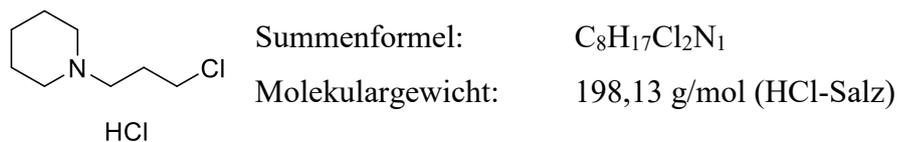


Verbindung **34**<sup>273</sup> wurde gemäß Methode E aus Piperidin (5,0 ml; 50mmol), Chlorpropanol (4,254 g; 45,0 mmol), Kaliumcarbonat (13,8 g; 100,0 mmol) und Kaliumiodit (katalytisch) in 150 ml Aceton hergestellt. Abweichend von Methode E wurde das Produkt nach dem das Lösungsmittel entfernt wurde bei 20 mbar und 95°C abdestilliert.

Das gewonnene Öl wurde in Isopropanol gelöst und quantitativ mit HCl in Dioxan gefällt.

Ausbeute: 5,50 g; 30,6 mmol (68,0 %) als HCl Salz

#### 1-(3-Chlorpropyl)piperidin xHCl (35) Pip2



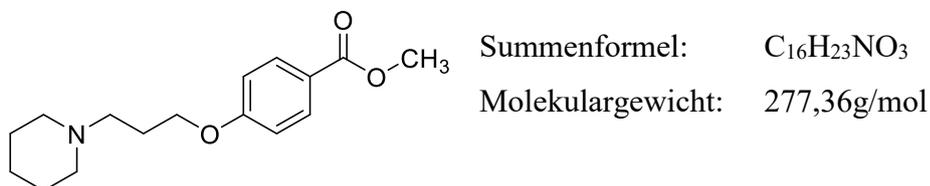
Verbindung **35**<sup>273</sup> wurde gemäß Methode L hergestellt.

Ausbeute :5,984 g; 30,2 mmol (quantitativ)

APCI-MS (+): m/z: 161,1 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.88 (s, 1H), 3.74 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.43 – 3.35 (m, 2H), 3.12 – 3.01 (m, 2H), 2.84 (tdd, *J* = 12.3, 9.0, 3.6 Hz, 2H), 2.27 – 2.14 (m, 2H), 1.93 – 1.62 (m, 5H), 1.36 (qt, *J* = 12.8, 4.6 Hz, 1H).

#### 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure-methylester (36) MF S49



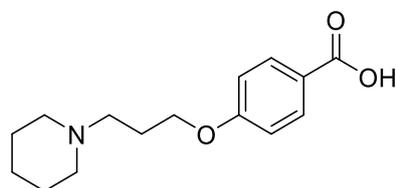
Verbindung **36**<sup>273</sup> wurde gemäß Methode E aus Methyl 4-hydroxybenzoat (3,682 g; 22,0 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** ( 3,963 g; 20,0 mmol), Kaliumcarbonat (11,06 g; 80,0 mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) in 150 ml Aceton hergestellt. Die Aufarbeitung nach Methode E lieferte ein Produkt in genügend hoher Reinheit.

Ausbeute: 4,01 g; 14,5 mmol (72,4 %)

APCI-MS (+): m/z: 278,4 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.92 – 7.86 (m, 2H), 7.04 – 6.97 (m, 2H), 4.05 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.39 – 2.26 (m, 6H), 1.86 (dt,  $J$  = 7.6, 6.5 Hz, 2H), 1.47 (dq,  $J$  = 10.5, 5.0 Hz, 4H), 1.36 (q,  $J$  = 5.9 Hz, 2H).

4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure x HCl (**37**) MF S55



Summenformel:  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_3$   
 Molekulargewicht: 263,34 g/mol  
 299,80 g/mol (HCl-Salz)

Verbindung **37**<sup>273</sup> wurde gemäß Methode O1 aus Methyl-4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoat **36** (3,883 g; 14,0 mmol) und Kaliumhydroxid (3,928 g; 70,0 mmol) in Tetrahydrofuran und Wasser in der Mikrowelle hergestellt. Die Aufreinigung wurde gemäß Methode O2 durchgeführt und lieferte ein sauberes Produkt als Hydrochlorid-Salz.

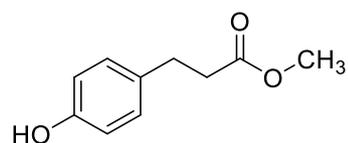
Ausbeute: 3,369 g; 11,2 mmol (80,3 %) als HCl-Salz

APCI-MS (+):  $m/z$ : 264,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$

APCI-MS (-):  $m/z$ : 262,5  $[\text{M}-\text{H}]^-$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.65 (s, 1H), 10.58 (s, 1H), 7.90 (dd,  $J$  = 9.1, 7.5 Hz, 2H), 7.09 – 6.96 (m, 2H), 4.14 (td,  $J$  = 6.1, 3.0 Hz, 2H), 3.43 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 2H), 3.15 (dt,  $J$  = 10.0, 5.1 Hz, 2H), 2.86 (dt,  $J$  = 15.8, 11.9 Hz, 2H), 2.22 (dq,  $J$  = 11.7, 6.1 Hz, 2H), 1.93 – 1.61 (m, 5H), 1.48 – 1.26 (m, 1H).

3-(4-Hydroxyphenyl)propansäure-methylester (**38**) MF S105



Summenformel:  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$   
 Molekulargewicht: 180,20 g/mol

Verbindung **38**<sup>298</sup> wurde gemäß Methode N1 aus 3-(4-Hydroxyphenyl)propansäure (3,322 g; 20,0 mmol) in Methanol mit Schwefelsäure hergestellt.

Ausbeute: 3,60 g; 20,0 mmol (quantitativ)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 181,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

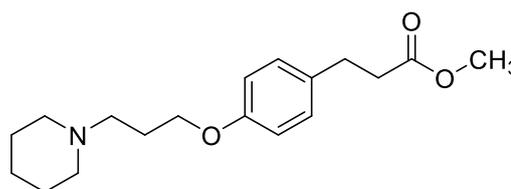
APCI-MS (-):  $m/z$ : 179,2  $[\text{M}-\text{H}]^-$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.15 – 7.08 (m, 2H), 6.87 – 6.77 (m, 2H), 3.91 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 3.59 (s, 3H), 2.78 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 2.59 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H).

3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)propansäure-methylester (39) MF S107

Summenformel:  $C_{18}H_{27}NO_3$

Molekulargewicht: 305,42 g/mol



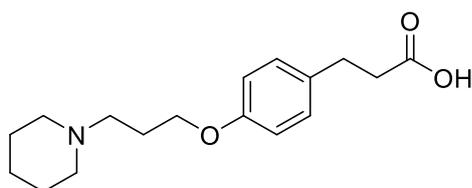
Verbindung **39** wurde gemäß Methode E aus 3-(4-Hydroxyphenyl)propansäure-methylester **38** (3,60 g; 20,0 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (3,963 g; 20,0 mmol), Kaliumcarbonat (11,060 g; 80,0 mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) in 100 ml Aceton hergestellt. Die Aufarbeitung nach Methode E lieferte ein Produkt in genügend hoher Reinheit.

Ausbeute: 5,465 g 17,9 mmol (89,5 %)

APCI-MS (+): m/z: 306,0  $[M+H]^+$

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.13 – 7.07 (m, 2H), 6.84 – 6.78 (m, 2H), 3.93 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.57 (s, 3H), 2.77 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.57 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 2.39 – 2.24 (m, 6H), 1.83 (dt,  $J = 7.7, 6.5$  Hz, 2H), 1.48 (dq,  $J = 10.6, 5.1$  Hz, 4H), 1.42 – 1.31 (m, 2H).

3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)propansäure x HCl (40) MF S108



Summenformel:  $C_{17}H_{25}NO_3$

Molekulargewicht: 291,39 g/mol

327,85 g/mol (HCl-Salz)

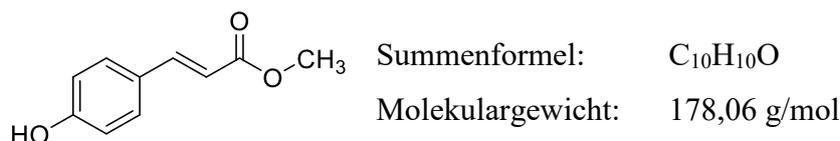
Verbindung **40** wurde gemäß Methode O1 aus 3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)propansäure-methylester **39** (5,465 g 17,9 mmol) und Kaliumhydroxid (5,050 g; 90,0 mmol) in Tetrahydrofuran und Wasser in der Mikrowelle hergestellt. Abweichend wurde der Ansatz nach der ersten Umsetzung erneut in der Mikrowelle für 2 h bei 85°C umgesetzt. Die Aufreinigung wurde gemäß Methode O2 durchgeführt und lieferte ein sauberes Produkt als Hydrochlorid-Salz

Ausbeute: 2,101 g; 6,4 mmol (35,8 %) als HCl-Salz

APCI-MS (+): m/z: 292,5  $[M+H]^+$

APCI-MS (-): m/z: 290,5  $[M-H]^+$

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.13 (s, 1H), 10.77 (s, 1H), 7.18 – 7.10 (m, 2H), 6.81 – 6.74 (m, 2H), 3.99 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 2.77 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.62 – 2.57 (m, 2H), 2.37 – 2.28 (m, 6H), 1.85 (dt,  $J = 7.7, 6.5$  Hz, 2H), 1.94 – 1.66 (m, 5H), 1.37 (m, 1H).

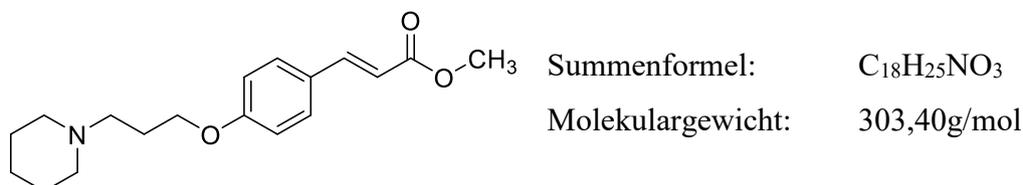
(E)-4-Hydroxyzimtsäure-methylester (41) MF DH1

Verbindung **41**<sup>298</sup> wurde gemäß Methode N1 aus (E)-4-Hydroxyzimtsäure (2,50 g; 15,2 mmol) in Methanol mit Schwefelsäure hergestellt.

Ausbeute: 2,440 g; 13,7 mmol (90,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 179,2 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.01 (s, 1H), 7.64 – 7.48 (m, 3H), 6.84 – 6.73 (m, 2H), 6.39 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H).

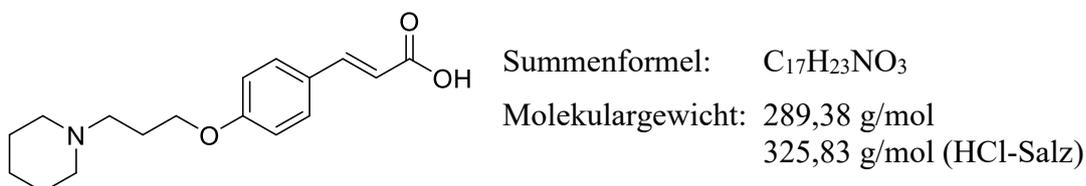
(E)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure-methylester (42) MF DH3

Verbindung **42** wurde gemäß Methode E aus (E)-4-Hydroxyzimtsäure-methylester **41** (2,440 g; 13,7 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (2,475 g; 12,5 mmol), Kaliumcarbonat (6,219 g; 45,0 mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) in 100 ml Aceton hergestellt.

Ausbeute: 3,040 g; 10,0 mmol (80,2 %)

APCI-MS (+): m/z: 304,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.67 – 7.57 (m, 3H), 6.98 – 6.92 (m, 2H), 6.46 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 4.02 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.32 (ddd, *J* = 12.9, 6.8, 3.6 Hz, 6H), 1.85 (dt, *J* = 7.6, 6.5 Hz, 2H), 1.47 (p, *J* = 5.5 Hz, 4H), 1.36 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H).

(E)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure xHCl (43) MF DH4 ST-2282

Verbindung **43** wurde gemäß Methode O1 aus (E)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)-zimtsäure-methylester **42** (3,040 g; 10,0 mmol) und Kaliumhydroxid (2,806 g; 50,0 mmol) in Tetrahydrofuran und Wasser in der Mikrowelle hergestellt. Die Aufreinigung wurde gemäß Methode O2 durchgeführt und lieferte das Produkt als Hydrochlorid-Salz.

Ausbeute: 2,959; 9,1 mmol (90,8 %) als HCl-Salz

APCI-MS (+): m/z: 290,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

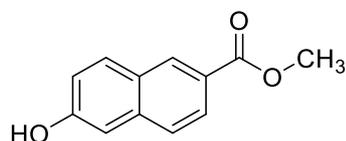
APCI-MS (-): m/z: 288,5 [M-H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>

Schmelzpunkt: 256.0-256.2°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.24 (s, 1H), 10.62 (s, 1H), 7.69 – 7.61 (m, 2H), 7.55 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.03 – 6.93 (m, 2H), 6.39 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 4.11 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.43 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H), 3.16 (dd, *J* = 10.2, 5.2 Hz, 2H), 2.87 (s, 2H), 2.21 (dq, *J* = 11.7, 6.1 Hz, 2H), 1.92 – 1.65 (m, 5H), 1.50 – 1.28 (m, 1H).

LC-MS: Reinheit: 99,06 % m/z: 290,07 [M+2H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup>

6-Hydroxy-2-naphthoesäure-methylester (44) MF DH7



Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 202,21 g/mol

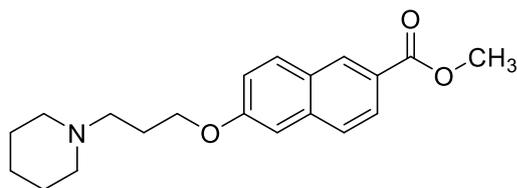
Verbindung **44**<sup>299</sup> wurde gemäß Methode N1 aus 6-Hydroxy-2-naphthoesäure (3,0g; 15,9mmol) in Methanol mit Schwefelsäure hergestellt.

Ausbeute: 2,997 g; 14,8 mmol (92,6 %)

APCI-MS: (+): m/z: 203,3/203,4

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.19 (s, 1H), 8.49 (dd, *J* = 1.8, 0.8 Hz, 1H), 7.98 (dt, *J* = 8.7, 0.8 Hz, 1H), 7.86 (dd, *J* = 8.7, 1.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.24 – 7.13 (m, 2H), 3.88 (s, 3H).

6-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)-2-naphthoesäure-methylester (45) MF DH8



Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 327,42 g/mol

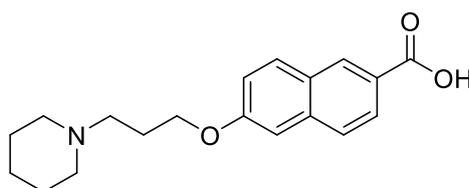
Verbindung **45**<sup>299</sup> wurde gemäß Methode E aus 6-Hydroxy-2-naphthoesäure-methylester **44** (2,997g; 14,8mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid (**35**) (2,660g; 13,45mmol), Kaliumcarbonat (9,20g; 67mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) in 150ml Aceton hergestellt.

Die Aufarbeitung nach Methode E lieferte das Produkt.

Ausbeute: 3,80g; 11,6mmol (86,2%)

APCI-MS (+): m/z: 328,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

8.50 (dd, *J* = 1.8, 0.8 Hz, 1H), 7.98 (dt, *J* = 8.7, 0.8 Hz, 1H), 7.86 (dd, *J* = 8.7, 1.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.24 – 7.13 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.32 (m, 6H), 1.85 (dt, *J* = 7.6, 6.5 Hz, 2H), 1.47 (p, *J* = 5.5 Hz, 4H), 1.36 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H)

6-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)-2-naphthoesäure x HCl (46) MF DH9Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>Molekulargewicht: 327,42 g/mol  
349,86 g/mol (HCl-Salz)

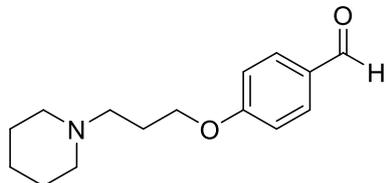
Verbindung **46**<sup>299</sup> wurde gemäß Methode O1 aus 6-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)-2-naphthoesäure-methylester **45** (3,800 g; 11,6 mmol) und Kaliumhydroxid (2,810 g; 50,0 mmol) in Tetrahydrofuran und Wasser in der Mikrowelle hergestellt. Die Aufreinigung wurde gemäß Methode O2 durchgeführt und lieferte das Produkt als Hydrochlorid-Salz

Ausbeute: 3,660 g; 10,5 mmol (90,2 %) als HCl-Salz

APCI-MS: (+): m/z: 328,5 [M+H]<sup>+</sup>

(-): m/z: 326,5/327,5[M-H]<sup>-</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.81 (s, 1H), 8.52 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.97 – 7.84 (m, 2H), 7.43 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.24 (dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, 1H), 4.22 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.45 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H), 3.26 – 3.13 (m, 2H), 2.87 (dh, *J* = 12.1, 3.7 Hz, 2H), 2.29 (dq, *J* = 11.6, 6.0 Hz, 2H), 1.94 – 1.66 (m, 5H), 1.39 (ddt, *J* = 12.6, 8.7, 4.2 Hz, 1H).

4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzaldehyd (47) MF S46Summenformel: C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 247,34 g/mol

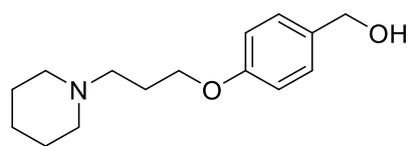
Verbindung **47**<sup>273</sup> wurde gemäß Methode E aus 4-Hydroxybenzaldehyd (2,443 g; 20,0 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (4,351 g; 22,0 mmol), Kaliumcarbonat (11,065 g; 80,0 mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) in 100 ml Aceton hergestellt.

Ausbeute: 3,908 g; 15,8 mmol (76,9 %)

APCI-MS (+): m/z: 248,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.86 (s, 1H), 7.90 – 7.80 (m, 2H), 7.16 – 7.07 (m, 2H), 4.10 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.40 – 2.25 (m, 6H), 1.93 – 1.81 (m, 2H), 1.48 (dq, *J* = 10.6, 5.0 Hz, 4H), 1.36 (qd, *J* = 5.2, 2.1 Hz, 2H).

(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanol (48) MF S48



Summenformel:  $C_{15}H_{23}NO_2$

Molekulargewicht: 249,35 g/mol

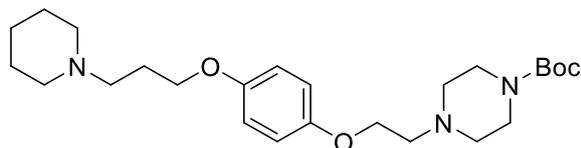
Verbindung **48**<sup>273</sup> wurde gemäß Methode E aus 4-(Hydroxymethyl)phenol (4,966 g; 40,0 mmol), 1-(3-Chloropropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (8,702 g; 44,0 mmol), Kaliumcarbonat (22,200 g; 160,0 mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) in 150 ml Aceton hergestellt. Die Aufarbeitung nach Methode E lieferte das Produkt.

Ausbeute: 8,934 g; 35,9 mmol (89,7 %)

APCI-MS (+): m/z: 250,2 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.30 – 7.12 (m, 2H), 6.96 – 6.80 (m, 2H), 5.05 (s, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.95 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.59 – 3.23 (m, 1H), 2.40 – 2.20 (m, 6H), 1.84 (dt, *J* = 7.7, 6.5 Hz, 2H), 1.49 (dq, *J* = 10.5, 5.0 Hz, 4H), 1.37 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H).

tert-Butyl 4-(2-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat (49) MF S197



Summenformel:  $C_{25}H_{41}N_3O_4$

Molekulargewicht: 249,35 g/mol

Verbindung **49** wurde gemäß Methode E aus tert-Butyl 4-(2-(4-hydroxyphenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat **33** (1,290 g; 4,0 mmol), 1-(3-Chloropropyl)piperidin Hydrochlorid (**35**) (0,8916 g; 4,5 mmol), Kaliumcarbonat (2,200 g; 16,0 mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) in 50 ml Aceton synthetisiert. Die Aufarbeitung nach Methode E lieferte ein Produkt in genügend hoher Reinheit.

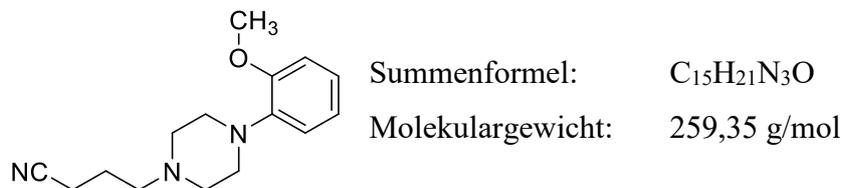
Ausbeute: 0,8933 g; 2,0 mmol (50,0 %)

APCI-MS (+) m/z: 448,7 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 6.83 (d, *J* = 1.0 Hz, 4H), 3.99 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.90 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.36 – 3.26 (m, 6H), 2.67 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.41 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 2.37 – 2.26 (m, 6H), 1.85 – 1.75 (m, 2H), 1.48 (p, *J* = 5.5 Hz, 4H), 1.39 (s, 11H).

### 7.3.1.9 Vorstufen mit Dopamin D<sub>2</sub>R/D<sub>3</sub>R Antagonisten-Pharmakophor

#### 4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyronitril (**50**) MF DH2



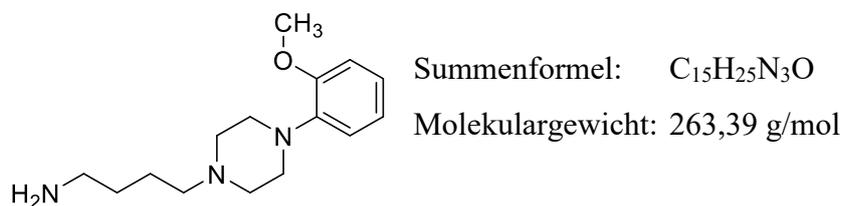
Verbindung **50**<sup>206</sup> wurde gemäß Methode E aus 1-(2-Methoxyphenyl)piperazin (1,75 ml; 10,0 mmol), 4-Bromobutyronitril (1,0 ml; 10,0 mmol), Kaliumcarbonat (4,150 g; 30,0 mmol) und Kaliumiodid (katalytisch) hergestellt. Nach der Aufarbeitung wurde die Verbindung über eine Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradientenelution mit Dichlormethan und Methanol (97:3- 93:7) über eine Kieselgelsäule.

Ausbeute: 2,452 g; 9,5 mmol (94,6 %)

APCI-MS (+): m/z: 260.4 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.00 – 6.82 (m, 4H), 3.77 (s, 3H), 2.96 (s, 4H), 2.53 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 2.51 (d, *J* = 1.9 Hz, 4H), 2.41 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.76 (p, *J* = 7.0 Hz, 2H).

#### 4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butan-1-amin (**51**) MF DH5



Verbindung **51**<sup>206</sup> wurde gemäß Methode R aus 4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyronitril **50** mit nach Methode W aktiviertem Raney-Nickel hergestellt.

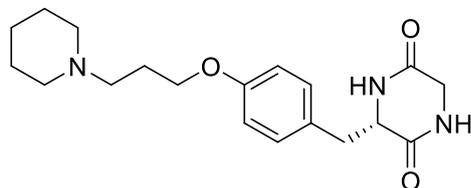
Ausbeute: 2,228 g; 8,5 mmol (89,4 %)

APCI-MS (+): m/z: 264,5 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6.97 – 6.81 (m, 4H), 3.76 (s, 3H), 2.94 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H), 2.53 (dd, *J* = 10.1, 4.3 Hz, 2H), 2.48 (s, 4H), 2.29 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.54 – 1.40 (m, 2H), 1.35 (dq, *J* = 8.7, 6.8 Hz, 2H).

## 7.3.2 Zielverbindungen/ pharmakologische Testsubstanzen

## 7.3.2.1 2,5-Diketopiperazin

(S)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazine-2,5-dion (52aL) ST-2184 MF S33Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 345,44 g/mol

Spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{25}$ : +48,67°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52** wurde aus (S)-3-(4-Hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion **11aL** (0,1188 g; 0,54 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,1092 g; 0,59 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,2996 g; 2,2 mmol) und KI (kat.) in Dimethylformamid synthetisiert. Der Ansatz wurde 18 h bei 80°C gerührt. Nach Zugabe von Wasser wurde der das reine Produkt als Niederschlag abgesaugt.

Ausbeute: 0,0385 g ; 0,11 mmol (20,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 346,5 [M+H]<sup>+</sup>

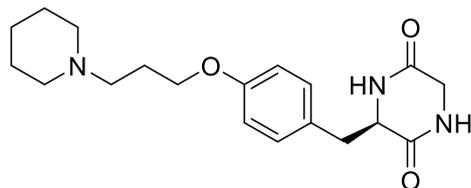
Schmelzpunkt: Zersetzung &lt; 220°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.17 (d, J = 2.7 Hz, 0H), 7.93 (d, J = 2.7 Hz, 0H), 7.17 – 7.06 (m, 1H), 6.95 – 6.83 (m, 1H), 4.18 (q, J = 5.2 Hz, 0H), 4.07 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 4.01 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 3.48 – 3.32 (m, 1H), 3.23 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 3.09 (dd, J = 13.6, 4.3 Hz, 0H), 2.92 – 2.77 (m, 1H), 2.43 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 2.38 (s, 2H), 1.97 – 1.81 (m, 1H), 1.55 (p, J = 5.5 Hz, 2H), 1.43 (d, J = 6.2 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 167.17, 165.58, 157.56, 131.01, 127.49, 114.07, 99.48, 65.79, 55.58, 55.14, 54.06, 48.56, 43.65, 39.30, 37.92, 26.25, 25.53, 24.08.

Elementaranalyse: Berechnet: [%] C: 66,06 H: 7,88 N: 12,16 S: 0,0

Gefunden [%] C: 65,79 H: 7,92 N: 12,01 S: 0,0

(R)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazine-2,5-dion (52aD) ST2427- MF S148Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 345,44 g/mol

Spez. Drehung :  $[\alpha]_D^{25}$ : -49,00°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52aD** wurde aus (*R*)-3-(4-Hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion **11aD** (0,1100 g; 0,5 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,1188 g; 0,6 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,2760 g; 2,0 mmol) und KI (kat.) in Dimethylformamid synthetisiert. Der Ansatz wurde 18 h bei 80°C gerührt. Nach Zugabe von Wasser wurde mit Ethylacetat extrahiert, das Lösungsmittel mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und bei vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 385,0 mg ;0,11 mmol (20,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 346,6 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: Zersetzung > 200°C

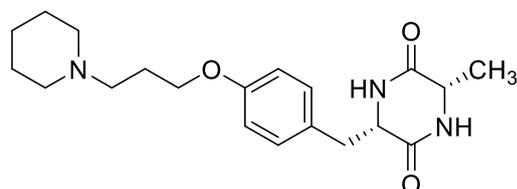
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.11 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.92 – 6.74 (m, 2H), 4.00 (q, J = 4.0 Hz, 1H), 3.95 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.38 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 3.02 (dd, J = 13.6, 4.3 Hz, 1H), 2.85 – 2.71 (m, 2H), 2.33 (dt, J = 11.8, 6.4 Hz, 6H), 1.82 (p, J = 6.6 Hz, 2H), 1.48 (p, J = 5.4 Hz, 4H), 1.37 (q, J = 6.1 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.79, 157.13, 131.07, 127.64, 114.13, 64.83, 53.28, 51.96, 43.31, 39.62, 39.34, 39.06, 38.79, 38.51, 38.23, 37.95, 23.17, 22.26, 21.12.

LC-MS: Reinheit: 100% m/z: 346,24 [M+H]<sup>+</sup>

(3*S*,6*S*)-3-Methyl-6-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-2,5-dion (**52b**) ST-2036

MF S10



Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 359,47 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +23,67°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52b** wurde aus (3*S*,6*S*)-3-(4-Hydroxybenzyl)-6-methylpiperazin-2,5-dion **11b** (0,3341 g 1,4 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,2859 g; 1,4 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,8157 g; 4,4 mmol) und KI (kat.) in Dimethylformamid synthetisiert. Der Ansatz wurde 18h bei 80°C gerührt. Nach Zugabe von Wasser wurde der entstehende Niederschlag abgesaugt und mit Hilfe der Säulenchromatographie aufgereinigt. Als Stationäre Phase wurde basisches Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> verwendet als Eluent eine Mischung aus Dichlormethan:Methanol 9:1.

Ausbeute: 0,1123 g;0,31 mmol (22,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 360,1 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: Zersetzung >235°C

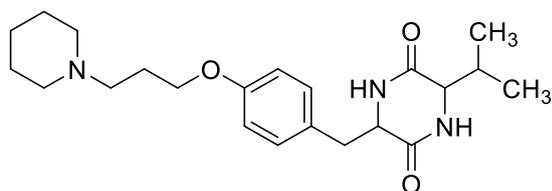
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>+MeOD) δ 7.69 – 7.63 (m, 2H), 7.47 – 7.41 (m, 2H), 4.74 – 4.70 (m, 1H), 4.58 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.23 (dd, J = 7.0, 1.3 Hz, 1H), 4.04 (d, J = 12.1 Hz, 2H), 3.80 – 3.70 (m, 3H), 3.67 (dd, J = 13.7, 3.7 Hz, 1H), 3.45 (qd, J = 13.6, 12.7, 4.3 Hz, 3H), 3.11 (p, J

= 1.9 Hz, 4H), 2.73 (dq, J = 11.5, 6.0 Hz, 2H), 2.46 – 2.24 (m, 6H), 2.08 – 1.89 (m, 1H), 1.13 (d, J = 7.0 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>+MeOD) δ 168.92, 167.30, 158.35, 131.15, 127.05, 114.87, 77.16, 66.39, 56.31, 55.98, 54.43, 50.67, 38.99, 26.13, 25.23, 23.96, 20.05.

Elementaranalyse: Berechnet [%]	C: 66,83	H: 8,13	N: 11,69	S: 0,0
Gefunden [%]	C: 66,99	H: 8,38	N: 11,39	S: 0,0

(3*S*,6*S*)-3-Isopropyl-6-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazine-2,5-dion (52c) ST-2037 MF S13



Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 387,52 g/mol

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +14,0°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52c** wurde (3*S*,6*S*)-3-(4-Hydroxybenzyl)-6-isopropylpiperazin-2,5-dion **11c** (0,3245 g; 1,2 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,2379 g; 1,2 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,141 g; 8,0 mmol) und KI (kat.) in DMF synthetisiert. Der Ansatz wurde 18 h bei 80°C gerührt. Nach Zugabe von Wasser wurde der Ansatz mit Ethylacetat extrahiert, die organische Phase mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde über eine Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Säulenchromatographie mit Dichlormethan: Methanol 97:3 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,3010 g; 0,77 mmol (64,0 %)

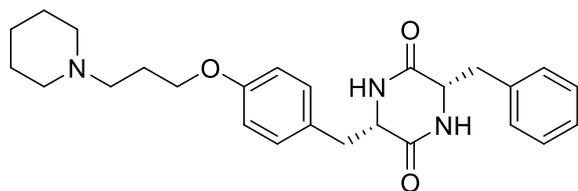
APCI-MS (+): m/z: 388,9 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: Zersetzung >238°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.20 – 7.03 (m, 2H), 6.88 – 6.81 (m, 2H), 6.43 (s, 1H), 6.13 (s, 1H), 4.17 (ddt, J = 9.6, 3.6, 1.7 Hz, 1H), 3.99 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.87 (dt, J = 3.4, 1.7 Hz, 1H), 3.36 (dd, J = 13.9, 3.6 Hz, 1H), 2.83 (dd, J = 13.9, 9.7 Hz, 1H), 2.58 (dd, J = 16.2, 8.4 Hz, 6H), 2.32 (ddq, J = 10.2, 6.9, 3.5 Hz, 1H), 2.11 – 2.00 (m, 2H), 1.69 (p, J = 5.5 Hz, 4H), 1.01 (d, J = 7.1 Hz, 3H), 0.81 (d, J = 6.8 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.77, 167.16, 158.46, 130.76, 127.36, 115.09, 77.16, 66.56, 60.14, 56.05, 54.57, 39.63, 31.63, 26.43, 25.55, 24.20, 18.78.

Elementaranalyse: Berechnet [%]	C: 68,19	H: 8,58	N: 10,84	S: 0,0
Gefunden [%]	C: 68,18	H: 8,85	N: 10,55	S: 0,0

(3*S*,6*S*)-3-Benzyl-6-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-2,5-dion (52d) ST-2038MF S15

Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>  
 Molekulargewicht: 435,57 g/mol

Spez. Drehung [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +4,33°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52d** wurde aus (3*S*,6*S*)-3-benzyl-6-(4-Hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion **11d** (0,4501 g; 1,4 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,2958 g; 1,5 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,8118 g; 5,8 mmol) und KI (kat.) in DMF synthetisiert. Der Ansatz wurde 18 h bei 80°C gerührt. Nach Zugabe von Wasser wurde der Ansatz mit Ethylacetat extrahiert, die organische Phase mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde über eine Kieselgel Säulenchromatographie mit Dichlormethan: Methanol 97:3 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,3512 g; 0,81 mmol (56,3 %)

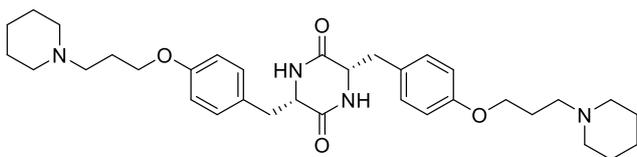
APCI-MS (+): m/z: 436,7 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 210,1-215,7°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>+MeOD)  $\delta$  11.21 (dt, J = 6.3, 2.5 Hz, 3H), 11.04 (dd, J = 6.4, 3.0 Hz, 2H), 10.94 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 10.72 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.91 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 7.48 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 7.39 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 7.32 – 7.24 (m, 2H), 6.99 – 6.90 (m, 2H), 6.85 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 6.62 (dd, J = 16.0, 7.6 Hz, 6H), 6.00 (dq, J = 13.0, 6.0 Hz, 2H), 5.64 (p, J = 5.6 Hz, 4H), 5.51 – 5.41 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>+MeOD) 167.98, 158.23, 134.88, 130.69, 129.65, 128.75, 127.39, 126.72, 114.69, 66.20, 55.94, 55.38, 54.32, 39.22, 38.35, 26.02, 25.08, 23.83.

Elementaranalyse: Berechnet [%]	C: 71,70	H: 7,64	N: 9,65	S: 0,0
Gefunden [%]	C: 71,81	H: 7,92	N: 9,55	S: 0,0

(3*S*,6*S*)-3,6-Bis(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-2,5-dion (52e) ST-2309 MFS23

Summenformel: C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>  
 Molekulargewicht: 576,78 g/mol

Spez. Drehung [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -58,00°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52e** wurde aus (3*S*,6*S*)-3,6-bis(4-Hydroxybenzyl)piperazin-2,5-dion **11e** (1,245 g; 3,8 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (2,271 g; 11,5 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,2173g; 30,6 mmol) und KI (11,0 mmol.) in Dimethylformamid synthetisiert. Der Ansatz wurde 18 h bei 80°C gerührt. Nach Zugabe von Wasser wurde der Niederschlag abgesaugt, in Dichlormethan aufgenommen und mit 2N NaOH gewaschen.

Ausbeute: 0,7231 g; 1,3 mmol (32,8 %)

APCI-MS (+): m/z: 577,9/578,9 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 189,7-201,4°C

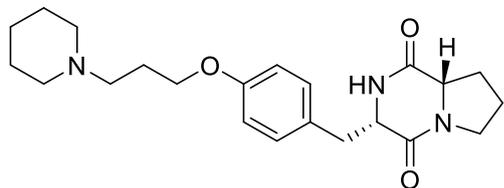
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.08 – 7.01 (m, 2H), 7.00 – 6.93 (m, 2H), 6.91 – 6.79 (m, 4H), 4.01 (t, J = 6.0 Hz, 4H), 3.92 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 3.49 – 3.32 (m, 6H), 3.18 – 3.06 (m, 4H), 2.90 (ddd, J = 28.5, 12.8, 4.0 Hz, 5H), 2.71 – 2.54 (m, 2H), 2.20 (dp, J = 16.4, 5.9 Hz, 5H), 1.90 – 1.64 (m, 11H), 1.38 (dt, J = 13.1, 6.0 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 166.16, 156.98, 131.14, 130.82, 128.65, 127.86, 114.30, 113.93, 64.97, 53.25, 51.83, 40.10, 39.83, 39.55, 39.27, 38.99, 38.71, 38.43, 23.19, 22.24, 21.25.

LC-MS: Reinheit: 98,54% m/z: 289,11 [M+2H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup>

(3*S*,8*aS*)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion

(52f) ST-2369 MF S84



Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 385,51 g/mol

Spez. Drehung [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -48,00°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52f** wurde gemäß Methode E aus (3*S*,8*aS*)-3-(4-Hydroxybenzyl)-hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion **11f**, 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,5050 g; 2,6 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,9398 g; 6,8 mmol) und KI (kat.) hergestellt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie aufgereinigt. Kieselgelsäule, Dichlormethan:Methanol/NH<sub>3</sub> 98:2-97:3.

Ausbeute: 0,7231 g; 1,3 mmol (32,8 %)

APCI-MS (+): m/z: 386,6 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

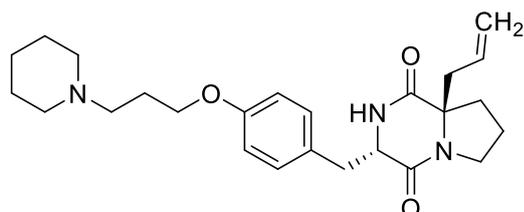
Schmelzpunkt: 184,7-188,3°C

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.93 (s, 1H), 7.20 – 7.15 (m, 2H), 6.85 – 6.78 (m, 2H), 4.29 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 4.06 (ddd, J = 10.0, 6.8, 1.5 Hz, 1H), 3.94 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.40 (dt, J = 11.6, 8.1 Hz, 1H), 3.27 (dt, J = 12.1, 6.4 Hz, 1H), 2.97 (d, J = 5.0 Hz, 2H), 2.40 – 2.25 (m, 6H), 2.01 (ddt, J = 12.0, 6.8, 4.8 Hz, 1H), 1.82 (p, J = 6.7 Hz, 2H), 1.73 (tdd, J = 10.4, 7.1, 5.5 Hz, 2H), 1.48 (p, J = 5.6 Hz, 4H), 1.42 (dt, J = 12.3, 9.6 Hz, 1H), 1.39 – 1.34 (m, 2H)

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.77, 164.93, 157.19, 130.69, 128.76, 113.94, 65.80, 58.25, 55.81, 55.01, 53.99, 44.42, 40.35, 40.08, 39.80, 39.52, 39.24, 38.96, 38.69, 34.49, 27.67, 26.25, 25.50, 24.02, 21.72.

LC-MS: Reinheit: 97,79%  $m/z$ : 386,22  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(3*S*,8*aR*)-8a-Allyl-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion (52g) ST-2429 MF S150



Summenformel:  $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_3$

Molekulargewicht: 425,57 g/mol

Spez. Drehung  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ :  $+11^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **52g** wurde aus (3*S*,8*aR*)-8a-allyl-3-(4-Hydroxybenzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion **11g** (0,1430 g; 0,5 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,1189 g; 0,6 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0,2760 g; 2,0 mmol) und KI (0,5 mmol.) in DMF synthetisiert. Der Ansatz wurde 18h bei  $80^\circ\text{C}$  gerührt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie aufgereinigt. Kieselgelsäule, Dichlormethan:Methanol/ $\text{NH}_3$  97:3.

Ausbeute: 0,1145 g; 0,27 mmol (56,1 %)

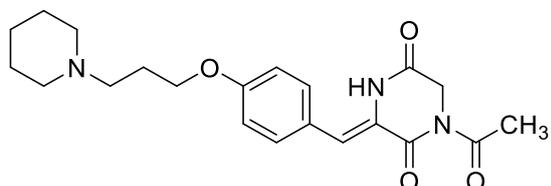
APCI-MS (+):  $m/z$ : 426,6  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

Schmelzpunkt:  $< 60^\circ\text{C}$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.60 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.19 – 7.09 (m, 2H), 6.86 – 6.78 (m, 2H), 5.68 (ddt,  $J = 16.5, 10.6, 7.4$  Hz, 1H), 5.17 – 5.05 (m, 2H), 4.32 (t,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 4.00 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.53 (ddd,  $J = 12.4, 9.2, 7.0$  Hz, 1H), 3.42 (d,  $J = 12.0$  Hz, 2H), 3.28 (ddd,  $J = 12.5, 9.6, 4.5$  Hz, 1H), 3.11 (td,  $J = 10.3, 9.1, 5.5$  Hz, 3H), 2.93 – 2.81 (m, 3H), 2.23 – 2.12 (m, 2H), 1.91 – 1.71 (m, 8H), 1.40 (ddd,  $J = 15.7, 8.1, 5.0$  Hz, 2H)

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  169.52, 164.38, 156.87, 132.32, 131.07, 128.67, 119.65, 113.84, 66.60, 64.91, 55.58, 53.36, 51.91, 43.83, 40.50, 40.33, 40.05, 39.77, 39.49, 39.22, 38.94, 38.66, 35.47, 33.46, 23.26, 22.28, 21.37, 19.27

LC-MS: Reinheit: 95,38%  $m/z$ : 426,32  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

7.3.2.2  $\alpha$ - $\beta$ -ungesättigte 2,5-Diketoiperazine(Z)-1-Acetyl-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzylidene)piperazin-2,5-dion (53) ST-2207MF S50Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 385,42 g/mol

Verbindung **53** wurde gemäß Methode V aus 1,4-Diacetylpiperazin-2,5-dion **12** (0,5942 g; 3,0 mmol), 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzaldehyd **32** (0,4627g; 2,0 mmol) und Cäsiumcarbonat ( 0,9775g; 3,0 mmol) in DMF bei 30°C für 24 h synthetisiert. Das saubere Produkt wurde nach der Gefriertrocknung erhalten.

Ausbeute: 0,5648 g; 1,5 mmol (73,3 %)

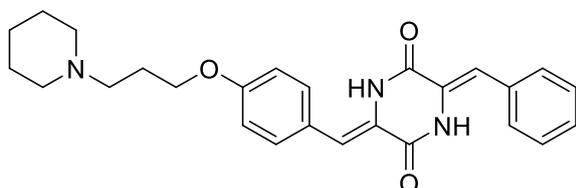
APCI-MS (+): m/z: 386,5 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 150,6-151,0°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.67 – 7.60 (m, 2H), 7.00 – 6.92 (m, 2H), 6.83 (s, 1H), 4.29 (s, 2H), 4.03 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.48 (s, 4H), 2.40 – 2.27 (m, 6H), 1.92 – 1.80 (m, 2H), 1.49 (p, J = 5.5 Hz, 4H), 1.37 (d, J = 5.9 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  172.65, 162.99, 160.52, 160.09, 130.45, 124.81, 124.16, 120.56, 115.70, 77.37, 66.86, 55.91, 54.77, 46.20, 27.30, 26.79, 26.06, 24.53.

Elementaranalyse: Berechnet [%]	C:65, 44	H:7, 06	N: 10,90	S: 0,0
Gefunden [%]	C:65, 59	H:7, 00	N: 10,59	S: 0,0

3-((Z)-Benzylidene)-6-((Z)-4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzylidene)piperazin-2,5-dion (54)ST-2208 MF S52Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 431,54 g/mol

Verbindung **54** wurde gemäß Methode V aus (Z)-1-Acetyl-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzylidene)piperazin-2,5-dion **53** ( 0,5778 g; 1,5 mmol), Benzaldehyd ( 0,7953 g; 0,76 ml; 7,5 mmol) und Cäsiumcarbonat (0,7331 g; 2,3 mmol) synthetisiert. Der Ansatz wurde Innerhalb von 2 h von 30°C auf 85°C erhitzt und 5 h bei 85°C gerührt. Nach der Gefriertrocknung wurde die Verbindung mehrfach mit Chloroform koevaporiert um Reste von Wasser azeotrop zu entfernen.

Ausbeute: 0,0431 g; 0,1 mmol (6,67%)

APCI-MS (+): m/z: 432,5 [M+H]<sup>+</sup>

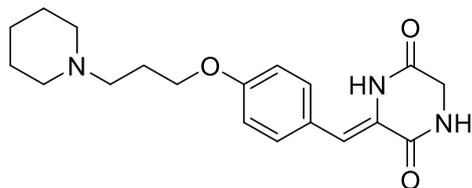
Schmelzpunkt: Zersetzung >175°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.09 (s, 2H), 7.47 – 7.24 (m, 7H), 6.92 (dd, J = 9.3, 5.1 Hz, 4H), 3.99 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.42 (dd, J = 17.9, 10.4 Hz, 6H), 1.94 (p, J = 6.6 Hz, 2H), 1.55 (p, J = 5.5 Hz, 4H), 1.40 (t, J = 6.3 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 159.75, 157.38, 157.18, 132.92, 130.23, 129.67, 129.05, 128.56, 125.88, 124.98, 124.25, 117.14, 116.41, 115.69, 77.16, 66.83, 55.97, 54.79, 26.81, 26.06, 24.53.

Elementaranalyse: Berechnet [%]	C: 72,37	H: 6,77	N: 9,74	S: 0,0
Gefunden [%]	C: 72,12	H: 6,47	N: 9,57	S: 0,0

(Z)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzylidene)piperazin-2,5-dion (55) ST-2368 MF S76



Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 343,43 g/mol

(Z)-1-Acetyl-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzylidene)piperazin-2,5-dion **53** (0,3854 g; 1,0 mmol) wurde in 10 ml Dimethylformamid gelöst, mit Hydrazin (3,0 mmol) versetzt und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wurde auf 30 ml Eiswasser gegossen und der Niederschlag abfiltriert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie mit Dichlormethan: Methanol 9:1 über Kieselgel aufgereinigt.<sup>300</sup>

Ausbeute: 0,1915 g; 0,58 mmol (58,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 344,5 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 138.2-142.5°C

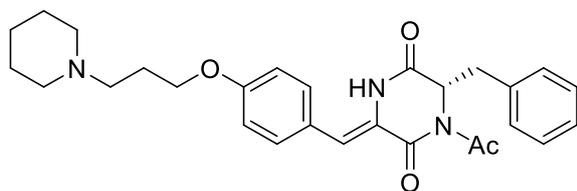
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.83 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.50 – 7.38 (m, 2H), 7.01 – 6.89 (m, 2H), 6.64 (s, 1H), 4.08 – 3.95 (m, 4H), 2.35 (dt, J = 10.5, 6.3 Hz, 6H), 1.86 (p, J = 6.7 Hz, 2H), 1.49 (p, J = 5.5 Hz, 4H), 1.38 (q, J = 6.8, 6.2 Hz, 2H)

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 164.51, 160.35, 158.31, 130.69, 125.62, 125.12, 114.57, 114.24, 65.95, 55.07, 54.09, 44.71, 40.32, 40.04, 39.76, 39.49, 39.21, 38.93, 38.65, 26.23, 25.58, 24.12.

LC-MS: Reinheit: 97,36% m/z: 344,16 [M+H]<sup>+</sup>

(S,Z)-1-Acetyl-6-benzyl-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzylidene)piperazin-2,5-dion (56)

ST-2312 MF S75



Summenformel: C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>  
Molekulargewicht: 475,59 g/mol

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}: +59,33 \text{ } ^{\circ}\text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **56** wurde gemäß Methode V aus (S)-1,4-Diacetyl-3-benzylpiperazin-2,5-dion **15** (0,3458 g; 1,2 mmol), 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzaldehyd **48** (0,2314 g; 1,0 mmol) und Cäsiumcarbonat (0,6516 g; 2,0 mmol) synthetisiert. Nach Zugabe von Wasser entstand abweichend jedoch kein Niederschlag. Der Ansatz wurde mit Dichlormethan extrahiert, das organische Lösungsmittel mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mit Methanol versetzt, wobei ein Niederschlag zurückblieb.

Das Produkt konnte im Methanol identifiziert werden und wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol 95:5 -85:15 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,0829 g; 0,18 mmol (18,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 475,4 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 114.8-115.7°C

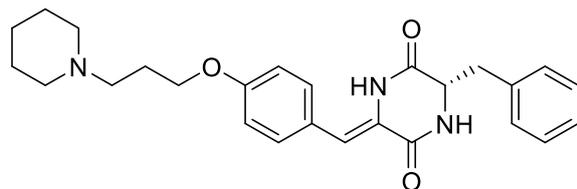
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-d)  $\delta$  7.24 – 7.12 (m, 5H), 7.07 – 7.01 (m, 2H), 6.87 – 6.81 (m, 2H), 6.54 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.00 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 3.15 (s, 2H), 2.50 (dd, J = 17.0, 9.4 Hz, 6H), 2.01 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 1.62 (p, J = 5.6 Hz, 4H), 1.46 (d, J = 5.3 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  195.50, 172.11, 170.21, 159.50, 131.29, 130.42, 130.38, 130.17, 128.68, 128.20, 125.59, 115.27, 109.59, 77.58, 77.36, 77.16, 76.74, 66.63, 62.54, 55.91, 54.67, 39.59, 30.46, 26.56, 25.77, 24.35, 21.69.

LC-MS: Reinheit: 95,43% m/z: 476,20 [M+H]<sup>+</sup>

(S,Z)-3-Benzyl-6-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzylidene)piperazin-2,5-dion (57) ST-2313

MF S77



Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>  
Molekulargewicht: 433,55 g/mol

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}: +10,67 \text{ } ^{\circ}\text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **57** konnte als Nebenprodukt der Synthese von Verbindung **56** erhalten werden. Nach der Aufnahmen von Verbindung **56** in Methanol fiel als Niederschlag Verbindung **57** aus.

Ausbeute: 0,0341 g; 0,079 mmol (7,9%)

APCI-MS (+): m/z: 434,7 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 206.7-207.8

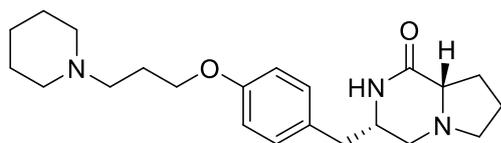
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 7.81 (s, 1H), 7.33 (q, J = 7.1 Hz, 3H), 7.26 (s, 2H), 7.18 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.92 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.79 (s, 1H), 6.16 (s, 1H), 4.40 (dt, J = 8.6, 2.9 Hz, 1H), 4.03 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 3.37 (dd, J = 13.7, 3.7 Hz, 1H), 3.06 (dd, J = 13.7, 8.4 Hz, 1H), 2.46 (dd, J = 17.2, 9.6 Hz, 6H), 1.98 (p, J = 6.6 Hz, 2H), 1.60 (p, J = 5.5 Hz, 4H), 1.45 (d, J = 6.0 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.72, 165.31, 163.56, 139.79, 134.97, 133.14, 131.91, 130.18, 129.31, 119.62, 119.41, 83.37, 83.13, 82.94, 82.50, 71.10, 61.62, 60.36, 59.25, 45.70, 45.43, 45.15, 44.87, 44.59, 44.31, 44.04, 31.33, 30.60, 29.07.

LC-MS: Reinheit: 95,24% m/z: 434,20 [M+H]<sup>+</sup>

### 7.3.2.3 Ketopiperazine

(3*S*,8*aS*)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1(2*H*)-on  
x 2HCl (**58**) MF S183 ST-2448



Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
 Molekulargewicht: 371,64 g/mol  
 444,44 g/mol (2xHCl Salz)

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +53,00 °\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **58** wurde aus (3*S*,8*aS*)-3-(4-Hydroxybenzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1(2*H*)-on **17** (0,4251 g 1,7 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,3963 g; 2,0 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,10 g; 8,0 mmol) und KI (2,0 mmol.) in Acetonitril synthetisiert. Der Ansatz wurde 18 h bei 80°C gerührt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie aufgereinigt. Kieselgel, DCM: Methanol/NH<sub>3</sub> 98:2. Das Endprodukt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,2503 g; 0,67 mmol (39,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 372,4 [M+H]<sup>+</sup>

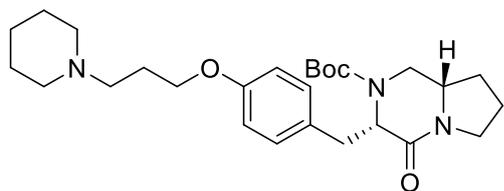
Schmelzpunkt: 86,5-89,4°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.22 – 7.12 (m, 2H), 6.92 – 6.81 (m, 2H), 3.97 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.88 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 3.61 – 3.49 (m, 1H), 3.46 – 3.36 (m, 2H), 3.29 – 3.08 (m, 4H), 3.00 – 2.89 (m, 2H), 2.82 (td, J = 12.2, 3.1 Hz, 2H), 2.61 (dd, J = 13.9, 9.1 Hz, 1H), 2.37 (q, J = 8.5 Hz, 1H), 2.18 – 1.52 (m, 11H), 1.38 (dd, J = 14.3, 10.4 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 166.04, 157.05, 130.49, 127.34, 114.58, 64.66, 60.90, 55.68, 53.51, 52.35, 50.10, 49.72, 39.38, 39.11, 38.83, 38.55, 38.27, 37.98, 37.71, 36.44, 26.79, 23.28, 22.45, 20.96, 20.67.

LC-MS: t<sub>R</sub>: 7,9 min Area Frak.: 97,4% m/z: 372,22 (M+H)<sup>+</sup>

*tert*-Butyl (3*S*,8*aS*)-4-oxo-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]-pyrazin-2(1*H*)-carboxylat (**59**) MF S184



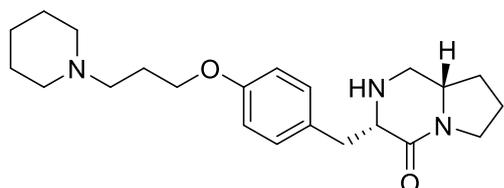
Summenformel: C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>  
Molekulargewicht: 471,64 g/mol

Verbindung **59** wurde aus *tert*-Butyl-(3*S*,8*aS*)-3-(4-Hydroxybenzyl)-4-oxohexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2(1*H*)-carboxylat **19** (0,7390 g; 3,0 mmol), 1-(3-Chlorpropyl)piperidin Hydrochlorid **35** (0,6935 g; 3,5 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,940 g; 14,0 mmol) und KI (3,5 mmol.) in Acetonitril synthetisiert. Der Ansatz wurde 18h bei 80°C gerührt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Stationäre Aminophase, Dichlormethan:Methanol 99:1.

Ausbeute: ohne Auswaage und Analytik weiter umgesetzt

APCI-MS (+): m/z: 472,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

(3*S*,8*aS*)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-4(1*H*)-on x 2HCl (**60**) MF S185 ST-2449



Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
Molekulargewicht: 371,64 g/mol  
444,44 g/mol (2xHCl Salz)

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +19,33 °\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **60** wurde gemäß Methode Q aus *tert*-Butyl (3*S*,8*aS*)-4-oxo-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2(1*H*)-carboxylat **59** ( Rohprodukt ) in Methanol mit 4N HCl in Dioxan synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Ansatz in Dichlormethan aufgenommen und mit 2N NaOH Lösung gewaschen. Das Lösungsmittel wurde mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,5931g; 1,33 mmol (45% über 2 Schritte)

APCI-MS (+): m/z: 372,4 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

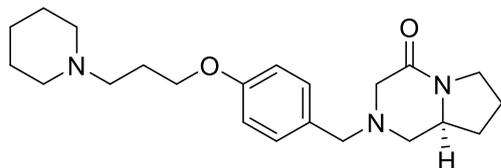
Schmelzpunkt: 281.4-283.1°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.73 (s, 2H), 9.95 (s, 1H), 7.36 – 7.23 (m, 2H), 6.96 – 6.82 (m, 2H), 4.08 (s, 1H), 4.02 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.53 – 3.33 (m, 6H), 3.22 (dd, *J* = 5.6, 3.4 Hz, 2H), 3.18 – 3.05 (m, 2H), 2.86 (tdd, *J* = 12.2, 9.1, 3.8 Hz, 2H), 2.37 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 2.27 – 2.12 (m, 2H), 2.05 (qd, *J* = 7.0, 1.9 Hz, 1H), 1.94 – 1.63 (m, 7H), 1.48 – 1.14 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  162.83, 157.36, 130.64, 128.23, 114.52, 65.04, 55.97, 54.70, 53.29, 53.20, 51.89, 45.06, 42.97, 40.32, 40.04, 39.76, 39.49, 39.21, 38.93, 38.65, 33.52, 30.10, 23.20, 22.25, 21.86, 21.38, 18.53.

LC-MS: Reinheit: 95,9%  $m/z$ : 372,22  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(S)-2-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-4(1H)-on (61)  
MF S173 ST-2446



Summenformel:  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_2$   
 Molekulargewicht: 371,64 g/mol  
 444,44 g/mol (2xHCl Salz)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ : +43,33  $^{\circ}\cdot\text{ml}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanol **48** (0,3738 g; 1,5 mmol) wurde gemäß Methode M in 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin überführt. Verbindung **61** wurde gemäß Methode G aus dem 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin und (S)-Hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-4(1H)-on **16** (0,1410 g; 1,0 mmol) und Triethylamin (0,20 ml; 1,5 mmol) in Tetrahydrofuran bei 70°C synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 1 N NaOH gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über eine Kieselgelphase mit Dichlormethan: Methanol/ $\text{NH}_3$  99:1->98:2 aufgereinigt. Das Endprodukt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,2606 g; 0,59 mmol (59,0 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 372,5  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

Schmelzpunkt: nicht messbar; zu hygroskopisch

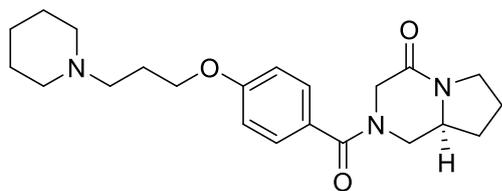
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  12.43 (s, 1H), 10.76 (s, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.05 – 6.97 (m, 2H), 4.32 (q,  $J = 13.0$  Hz, 2H), 4.09 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 3.74 – 3.66 (m, 1H), 3.61 (d,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.46 – 3.31 (m, 4H), 3.18 – 3.08 (m, 2H), 2.97 (s, 1H), 2.93 – 2.79 (m, 2H), 2.22 (dq,  $J = 11.4, 6.0$  Hz, 2H), 2.08 (dt,  $J = 11.9, 5.8$  Hz, 1H), 1.99 – 1.66 (m, 8H), 1.49 – 1.29 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  159.84, 159.15, 133.10, 121.07, 114.63, 65.18, 57.84, 53.26, 51.91, 50.54, 44.60, 40.32, 40.05, 39.77, 39.49, 39.21, 38.93, 38.66, 29.66, 23.15, 22.25, 21.64, 21.38.

LC-MS: Reinheit: 95,0%  $m/z$ : 372,22  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(S)-2-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-4(1H)-on x HCl

**(62) MF S182 ST-2447**



Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>  
 Molekulargewicht: 385,51 g/mol  
 471,27 g/mol (HCl Salz)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{D^{25}}$ : +31,33 °\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **62** wurde gemäß Methode A aus (S)-Hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-4(1H)-on **16** (0,1422 g; 1,0 mmol), 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure **37** (0,5996 g; 2,0 mmol), HOBt (0,3060 g; 2,0 mmol) und EDC (0,35 ml; 2,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das aufgearbeitete Produkt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 97:3 aufgereinigt. Das Endprodukt wurde als HCl Salz gefällt  
 Ausbeute: 0,1090 g; 0,28 mmol (28,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 386,7 [M+H]<sup>+</sup>

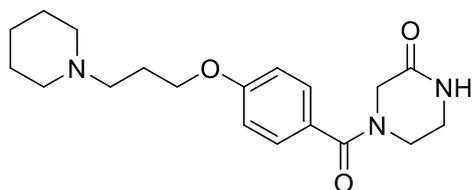
Schmelzpunkt: nicht messbar; hygroskopisch

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.39 (s, 1H), 7.48 – 7.36 (m, 2H), 7.07 – 6.94 (m, 2H), 4.11 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.72 – 3.62 (m, 1H), 3.53 – 3.38 (m, 3H), 3.14 (d, J = 11.0 Hz, 2H), 2.91 (d, J = 21.6 Hz, 2H), 2.21 (dq, J = 11.8, 6.1 Hz, 2H), 2.04 – 1.64 (m, 8H), 1.35 (s, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 168.80, 159.48, 129.23, 127.47, 114.21, 65.20, 53.32, 52.04, 44.56, 40.30, 40.02, 39.74, 39.47, 39.19, 38.91, 38.63, 29.38, 25.09, 23.27, 22.42, 21.80, 21.42.

LC-MS: Reinheit: 95,8% m/z: 386,27 [M+H]<sup>+</sup>

4-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazin-2-on (63) MF S63 ST-2286



Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>  
 Molekulargewicht: 345,44 g/mol

Verbindung **63**<sup>301</sup> wurde gemäß Methode A aus Piperazin-2-on **20** (0,5006 g; 5,0 mmol), 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure **37** (1,800 g; 6,0 mmol), HOBt (0,9180 g; 6,0 mmol) und EDC (1,06 ml; 6,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das aufgearbeitete Produkt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 97:5 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,9018 g; 2,6 mmol (52,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 346,6 [M+H]<sup>+</sup>

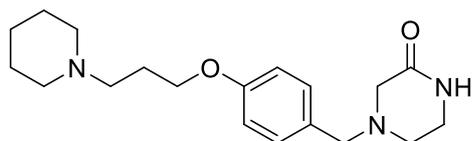
Schmelzpunkt: 133.3-133.6°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  8.10 (d,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 7.44 – 7.36 (m, 2H), 7.01 – 6.94 (m, 2H), 4.08 – 3.97 (m, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.23 (td,  $J = 5.6, 5.1, 2.7$  Hz, 2H), 2.34 (dt,  $J = 13.7, 6.3$  Hz, 6H), 1.92 – 1.80 (m, 2H), 1.48 (p,  $J = 5.6, 5.2$  Hz, 4H), 1.37 (q,  $J = 6.6, 6.1$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  168.88, 165.98, 165.96, 159.87, 129.14, 127.03, 114.12, 66.07, 55.03, 54.08, 26.18, 25.58, 24.12.

LC-MS: Reinheit: 96,50%  $m/z$ : 346,18  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

4-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-2-on x 2HCl (**64**) MF S64 ST-2287



Summenformel:  $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2$

Molekulargewicht: 331,46 g/mol

404,38 g/mol (2 x HCl Salz)

(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanol **48** (1,620 g; 6,5 mmol) wurde gemäß Methode M in 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin überführt. Verbindung **64** wurde gemäß Methode G aus 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin und Piperazin-2-on **20** (0,5006 g; 5,0 mmol) und Triethylamin (0,65 ml; 5,0 mmol) in Aceton unter Rückfluss synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 1 N NaOH gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde aus Tetrahydrofuran als HCl Salz gefällt und zweimal aus Methanol und wenig Ethanol umkristallisiert. Das Produkt liegt als HCl Salz vor.

Ausbeute: 0,2101g; 0,52 mmol (10,4%)

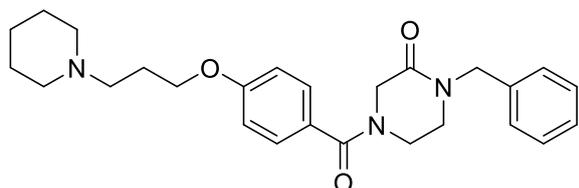
APCI-MS (+):  $m/z$ : 332,5  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

Schmelzpunkt: 269.5-271.1°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7.49 – 7.41 (m, 2H), 7.04 – 6.96 (m, 2H), 4.28 (s, 2H), 4.05 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.59 (s, 2H), 3.47 – 3.32 (m, 6H), 3.19 – 3.11 (m, 2H), 2.91 – 2.79 (m, 2H), 2.12 (dq,  $J = 11.4, 5.9$  Hz, 2H), 1.81 (d,  $J = 14.0$  Hz, 2H), 1.67 (t,  $J = 12.7$  Hz, 3H), 1.39 (t,  $J = 12.7$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  163.51, 159.95, 150.51, 133.48, 121.62, 115.61, 65.64, 54.21, 53.11, 51.96, 24.04, 23.28, 21.81.

LC-MS: Reinheit: 98,45%  $m/z$ : 332,19  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

1-Benzyl-4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazin-2-on x HCl (65) MF S124ST-2423Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 435,57 g/mol

472,03 g/mol (HCl Salz)

1-Benzylpiperazin-2-on x HCl **23** (0,3401 g; 1,5 mmol) und (4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure x HCl **37** (0,5010 g; 1,65 mmol) wurde in 20 ml Dichlormethan suspendiert. Triethylamin (1,0 ml; 6,0 mmol) wurde langsam zugegeben und der Ansatz bei Raumtemperatur 15 Minuten gerührt. Bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphinsäurechlorid/BOPCl (0,3820 g; 1,5 mmol) wurde zugegeben und für 18 h gerührt.

Der Ansatz wurde mit 2 N NaOH Lösung gewaschen, die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 98:2 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Wasser umkristallisiert.

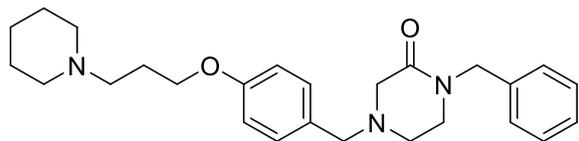
Ausbeute: 0,4135 g; 0,87 mmol (58,3 %)

APCI-MS (+): m/z: 436,3 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 84,7-86,3°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.46 – 7.21 (m, 7H), 7.04 – 6.95 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 4.19 (s, 2H), 4.10 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.51 – 2.78 (m, 10H), 2.26 – 2.13 (m, 2H), 1.76 (q, *J* = 5.7 Hz, 4H), 1.53 (s, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 168.71, 164.62, 159.57, 136.76, 129.26, 128.55, 127.59, 127.25, 127.08, 114.20, 65.29, 53.37, 52.07, 48.84, 40.33, 40.05, 39.78, 39.50, 39.22, 38.94, 38.67, 23.37, 22.51, 21.58.

LC-MS: Reinheit: 96,87% m/z: 436,26 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>1-Benzyl-4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-2-on x 2HCl (66) MF S130 ST-2424Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 421,59 g/mol

494,50 g/mol (HCl Salz)

(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanol **48** (0,8723 g; 3,5 mmol) wurde gemäß Methode M in 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin überführt. Verbindung **66** wurde gemäß Methode G aus dem 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin und 1-Benzylpiperazin-2-on x HCl **23**

(0,6801 g; 3,0 mmol) und Triethylamin (0,65 ml; 5,0 mmol) in Aceton unter Rückfluss synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 1 N NaOH gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Aminosäule mit Hexan:Ethylacetat 35:65 – 20:80. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,5297 g; 1,1 mmol (35,7 %)

APCI-MS (+): m/z: 422,7 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 111,1-116,4°C

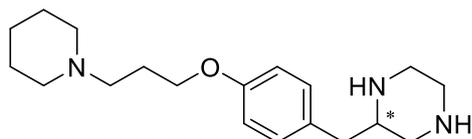
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 12.33 (s, 1H), 10.82 (d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 7.63 – 7.52 (m, 2H), 7.30 (qd, *J* = 6.9, 3.3 Hz, 5H), 7.07 – 6.97 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 4.09 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.90 (s, 1H), 3.79 – 3.60 (m, 3H), 3.54 – 3.46 (m, 1H), 3.45 – 3.36 (m, 3H), 3.18 – 3.08 (m, 2H), 2.86 (tdd, *J* = 12.2, 9.1, 3.6 Hz, 2H), 2.23 (dt, *J* = 8.2, 5.7 Hz, 2H), 1.92 – 1.66 (m, 5H), 1.47 – 1.29 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 161.22, 159.11, 135.94, 132.88, 128.44, 127.54, 127.27, 114.65, 65.19, 57.64, 53.25, 51.89, 51.18, 48.63, 46.25, 42.20, 40.33, 40.05, 39.78, 39.50, 39.36, 39.22, 38.94, 38.66, 23.14, 22.24, 21.39.

LC-MS: Reinheit: 95,58% m/z: 422,33 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

### 7.3.2.4 Piperazin C-substituiert

#### 2-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl (67) MF S79 ST-2332



Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>

Molekulargewicht: 317,48 g/mol

426,85 g/mol (3xHCl Salz)

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +4,66 °\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **67** wurde gemäß Methode S synthetisiert.

(*S*)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazine-2,5-dion **52aL** ( 0,3120 g; 0,9 mmol)

9 ml LiAlH<sub>4</sub> Lösung 2 M in THF. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 9:1 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,2851 g; 0,67 mmol (74,4 %)

APCI-MS (+): m/z: 318,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

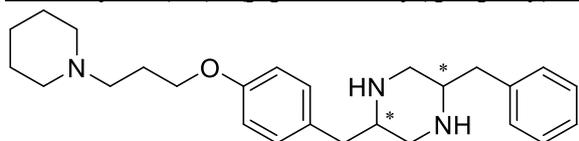
Schmelzpunkt: 244.0-245.7°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.47 (s, 1H), 9.94 (s, 4H), 7.26 – 7.15 (m, 2H), 7.00 – 6.89 (m, 2H), 4.05 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 3.71 (s, 1H), 3.45 (s, 4H), 3.28 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 3.21 – 3.07 (m, 5H), 2.95 – 2.78 (m, 3H), 2.18 (dq,  $J$  = 11.7, 6.0 Hz, 2H), 1.89 – 1.66 (m, 5H), 1.46 – 1.30 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  157.44, 130.34, 126.73, 114.83, 65.03, 53.31, 52.67, 51.93, 42.94, 34.69, 23.22, 22.28, 21.36.

LC-MS: Reinheit: 96,62%  $m/z$ : 318,21  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

2-Benzyl-5-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl (67d) MF S53 ST-2310



Summenformel:  $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_1$

Molekulargewicht: 407,60 g/mol

516,98 g/mol (3xHCl Salz)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ : +4,00  $^{\circ}\text{ml}^*\text{g}^{-1}\text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **67d** wurde gemäß Methode S synthetisiert.

(3*S*,6*S*)-3-Benzyl-6-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-2,5-dion **52d** ( 0,2180g; 0,5mmol) 2 ml  $\text{LiAlH}_4$  Lösung 2 M in THF Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/ $\text{NH}_3$  9:1 aufgereinigt.

Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 50,0 mg; 0,01 mmol (2 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 408,7  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

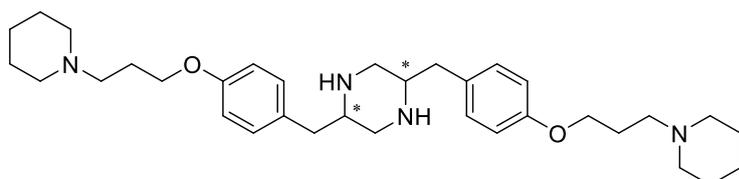
Schmelzpunkt: 235.3-237.1 $^{\circ}\text{C}$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.44 – 7.13 (m, 7H), 7.01 – 6.90 (m, 2H), 4.08 (dd,  $J$  = 7.2, 4.4 Hz, 2H), 3.94 (dq,  $J$  = 13.5, 7.4, 6.4 Hz, 2H), 3.56 – 3.41 (m, 5H), 3.26 – 3.09 (m, 5H), 2.94 – 2.80 (m, 2H), 2.15 (dd,  $J$  = 9.7, 5.9 Hz, 2H), 1.88 (d,  $J$  = 14.8 Hz, 2H), 1.65 (dd,  $J$  = 27.5, 14.2 Hz, 3H), 1.50 – 1.32 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  157.55, 133.54, 130.64, 129.35, 129.27, 128.10, 126.33, 115.37, 65.34, 54.47, 53.33, 52.47, 41.16, 34.04, 33.14, 23.45, 22.84, 21.08.

LC-MS: Reinheit: 96,19%  $m/z$ : 204,52  $[\text{M}+2\text{H}^+]^{2+}$

2,5-Bis(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl (67e) MF S80 ST-2333



Summenformel  $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_1$

Molekulargewicht: 548,82 g/mol

658,19 g/mol (3xHCl Salz)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ : -3,33  $^{\circ}\text{ml}^*\text{g}^{-1}\text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **67e** wurde gemäß Methode S synthetisiert.

(3*S*,6*S*)-3,6-Bis(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-2,5-dion **52e** (0,2885 g; 0,5 mmol) 2 ml LiAlH<sub>4</sub> Lösung 2 M in THF Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mit Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 2 N NaOH Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als HCl Salz aus Tetrahydrofuran gefällt und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,1120 g; 0,17 mmol (34 %)

APCI-MS (+): m/z: 550,0 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 275.9-276.6°C

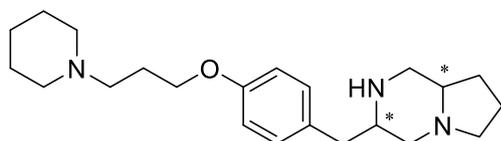
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.17 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H), 6.91 (dd, *J* = 8.6, 3.4 Hz, 4H), 3.99 (t, *J* = 5.9 Hz, 4H), 3.62 (s, 2H), 3.41 (d, *J* = 12.0 Hz, 4H), 3.30 (dd, *J* = 14.0, 3.3 Hz, 2H), 3.24 – 2.91 (m, 9H), 2.89 – 2.76 (m, 5H), 2.10 (dt, *J* = 10.7, 5.7 Hz, 4H), 1.81 (d, *J* = 14.8 Hz, 4H), 1.75 – 1.53 (m, 6H), 1.37 (qd, *J* = 13.0, 12.5, 6.5 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 157.40, 130.47, 130.40, 125.83, 114.87, 64.68, 53.50, 52.38, 43.77, 34.51, 23.25, 22.45, 20.93.

LC-MS: Reinheit: 100,0% m/z: 434,20 [M+3H]<sup>3+</sup>

3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)octahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin x 2HCl (**67f**) MF S94

**ST 2374**



Summenformel: C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>

Molekulargewicht: 357,54g/mol  
430,64 g/mol (2xHCl Salz)

Spez. Drehung: Drehwert: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: -1,00°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **67f** wurde gemäß Methode S synthetisiert.

(3*S*,8*aS*)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-1,4-dion **52f** (0,3851 g; 1,0 mmol) 2,5 ml LiAlH<sub>4</sub> Lösung 2 M in THF. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 98:2 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,2831 g; 0,66 mmol (66 %)

APCI-MS (+): m/z: 358,4 [M+H]<sup>+</sup>

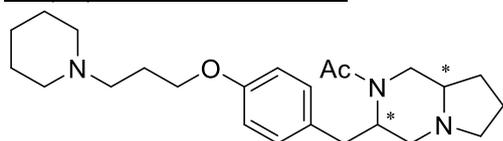
Schmelzpunkt: 88,4-91,3°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.55 (s, 1H), 10.24 (s, 1H), 7.21 (dd, *J* = 8.0, 4.5 Hz, 2H), 6.97 – 6.90 (m, 2H), 4.04 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.91 – 3.73 (m, 1H), 3.69 – 3.50 (m, 2H), 3.42 (d, *J* = 15.1 Hz, 4H), 3.17 (ddt, *J* = 15.9, 10.3, 5.0 Hz, 6H), 2.86 (dtt, *J* = 11.9, 9.3, 4.8 Hz, 3H), 2.27 – 2.11 (m, 2H), 2.11 – 1.92 (m, 3H), 1.87 – 1.62 (m, 5H), 1.37 (dtd, *J* = 16.6, 10.9, 5.1 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  157.42, 130.35, 114.86, 65.11, 53.33, 53.07, 51.99, 23.27, 22.26, 21.35, 19.41

LC-MS: Reinheit: 100,0%  $m/z$ : 358,23  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

1-(3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)hexahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2(1*H*)-yl)ethan-1-on (68) MF S103 ST-2420



Summenformel:  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_1$   
Molekulargewicht: 399,58g/mol  
472,50 g/mol (2xHCl Salz)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ :  $-0,67^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)octahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin **67f** (0,5351 g; 1,5 mmol) **67f** und Triethylamin (0,6 ml; 2,0 mmol) wurde in 50 ml Dichlormethan gelöst und bei  $0^\circ\text{C}$  mit Acetylchlorid (0,11 ml; 1,5 mmol) versetzt. Das Eisbad wurde entfernt und der Ansatz 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde mit 2 N NaOH Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/ $\text{NH}_3$  aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Methanol mit Diethylether umkristallisiert.

Ausbeute: 0,0150 g; 0,04 mmol (2,7 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 400,7  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

Schmelzpunkt: 198,3-200,0 $^\circ\text{C}$

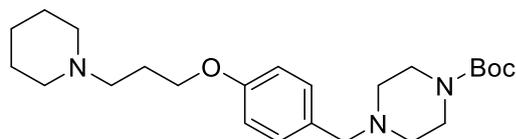
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, MeOD)  $\delta$  7.25 (dd,  $J = 26.2, 8.3$  Hz, 2H), 6.91 (dd,  $J = 8.3, 5.6$  Hz, 2H), 4.61 (d,  $J = 15.2$  Hz, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.09 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 3.92 (d,  $J = 18.9$  Hz, 2H), 3.60 (d,  $J = 12.0$  Hz, 3H), 3.53 – 3.33 (m, 3H), 3.29 – 3.18 (m, 2H), 2.98 (t,  $J = 13.2$  Hz, 3H), 2.25 (dt,  $J = 10.4, 5.7$  Hz, 3H), 2.20 – 2.12 (m, 2H), 2.08 (s, 2H), 1.97 (d,  $J = 13.8$  Hz, 3H), 1.87 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 1.80 (d,  $J = 14.8$  Hz, 2H), 1.65 (s, 2H), 1.56 (td,  $J = 12.1, 3.5$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, MeOD)  $\delta$  173.23, 131.58, 130.49, 115.88, 115.71, 66.05, 61.40, 55.97, 55.68, 54.48, 49.86, 49.58, 49.30, 49.01, 48.73, 48.44, 48.16, 25.27, 24.36, 22.71.

LC-MS: Reinheit: 95,09%  $m/z$ : 200,49  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

### 7.3.2.5 Piperazin N-substituiert

#### tert-Butyl-4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carboxylat (69) MF S137

Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 417,58g/mol

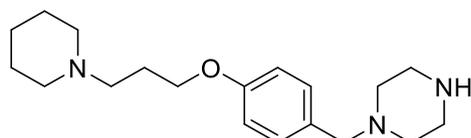
(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanol **48** (3,130 g; 12,5 mmol) wurde gemäß Methode M in 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin überführt. Verbindung **69** wurde gemäß Methode G aus 1-(3-(4-((Methylsulfonyl)methyl)phenoxy)propyl)piperidin und 1- *tert*-Butyl piperazin-1-carboxylat **24** (2,234 g; 12,0 mmol) und Triethylamin (1,8 ml; 13,0 mmol) in Aceton unter Rückfluss synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und mit 2 N NaOH Lösung gewaschen. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie aufgereinigt. Aminosäule mit Hexan: Ethylacetat 75:25-65:35.

Ausbeute: 2,9495g; 7,06 mmol (58,9%)

APCI-MS (+): m/z: 418,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.25 – 7.10 (m, 2H), 6.94 – 6.79 (m, 2H), 3.95 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.38 (s, 2H), 3.28 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 2.40 – 2.32 (m, 4H), 2.28 (dt, *J* = 10.1, 5.2 Hz, 7H), 1.88 – 1.77 (m, 2H), 1.48 (dq, *J* = 10.5, 5.0 Hz, 4H), 1.38 (d, *J* = 2.4 Hz, 11H).

#### 1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl (70) MF S59 ST-2213

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>Molekulargewicht: 317,48g/mol  
426,85 g/mol (3xHCl Salz)

Verbindung **70**<sup>302</sup> wurde gemäß Methode Q aus *tert*-Butyl 4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carboxylat **69** (4,172 g; 10,0 mmol) und HCl in Dioxan in Dioxan synthetisiert. Der Ausgefällene Niederschlag wurde abgesaugt und aus Isopropanol mit Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 4,051 g; 9,5 mmol (95 %)

APCI-MS (+): m/z: 318,7 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

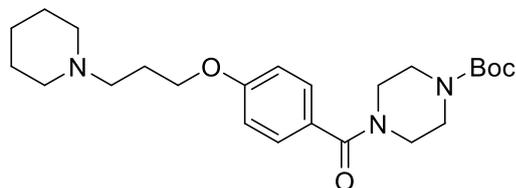
Schmelzpunkt: 96,2-98,4°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.20 (s, 1H), 10.71 (s, 1H), 9.97 (s, 2H), 7.57 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.30 (s, 2H), 4.08 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.39 (s, 11H), 3.14 (dt, *J* = 10.3, 5.1 Hz, 2H), 2.87 (dq, *J* = 17.1, 8.0, 6.0 Hz, 2H), 2.21 (dq, *J* = 11.9, 6.2 Hz, 2H), 1.93 – 1.64 (m, 5H), 1.38 (tdt, *J* = 16.3, 11.5, 4.7 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.11, 133.10, 114.65, 65.23, 57.94, 53.30, 51.97, 46.90, 40.35, 40.08, 39.80, 39.65, 39.52, 39.24, 38.96, 38.69, 23.20, 22.30, 21.42.

Elementaranalyse:	Theorie [%]	C:53,46	H:8,03	N:9,84	S:0,0
	Ergebnis [%]	C:53,06	H:7,89	N:9,61	S:0,0

tert-Butyl 4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazin-1-carboxylat (71) MF S57



Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
 Molekulargewicht: 431,46g/mol

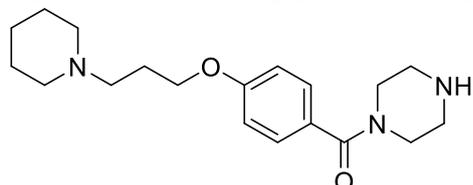
Verbindung **71** wurde gemäß Methode A aus 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure x HCl **23** (1,199 g; 4,0 mmol) *tert*-Butyl piperazin-1-carboxylat **24** (0,7010 g; 3,8 mmol) HOBt (0,6120 g; 4,0 mmol) und EDC (0,71 ml; 4,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das aufgearbeitete Produkt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit DCM: MeOH/NH<sub>3</sub> 95:5 aufgereinigt.

Ausbeute: 1,102 g; 2,5 mmol (67,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 433,1 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.39 – 7.33 (m, 2H), 6.99 – 6.93 (m, 2H), 4.03 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.50 – 3.32 (m, 8H), 3.17 (s, 1H), 2.35 (dt, *J* = 13.5, 6.3 Hz, 6H), 1.86 (p, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.48 (p, *J* = 5.5 Hz, 4H), 1.41 (s, 11H).

Piperazin-1-yl(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanon x 2HCl (72) MF S58 ST-2282



Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  
 Molekulargewicht: 331,46 g/mol  
 404,38 g/mol (2xHCl Salz)

Verbindung **72**<sup>301</sup> wurde gemäß Methode Q aus *tert*-Butyl 4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazin-1-carboxylat **71** (1,100 g; 2,5 mmol) und HCl in Dioxan in Ethanol synthetisiert. Nach Zugabe von Diethylether wurde der Niederschlag abgesaugt.

Ausbeute: 0,9012 g; 2,2 mmol (89 %)

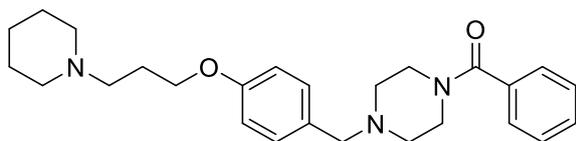
APCI-MS (+): m/z: 333,1/332,1 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 261.2-261.4°C

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.59 (s, 1H), 9.54 (s, 2H), 7.47 – 7.42 (m, 2H), 7.03 – 6.99 (m, 2H), 4.12 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.71 (s, 4H), 3.43 (s, 2H), 3.18 – 3.10 (m, 6H), 2.87 (s, 2H), 2.25 – 2.19 (m, 2H), 1.81 (d, *J* = 14.0 Hz, 6H), 1.39 (s, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 190.13, 169.14, 159.47, 129.28, 126.99, 114.20, 65.20, 53.24, 51.95, 42.40, 23.16, 22.29, 21.36.

LC-MS: Reinheit: 98,24% m/z: 332,09 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

Phenyl(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-yl)methanon x 2HCl (73) MF S54ST-2222Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 421,59 g/mol

494,50 g/mol (2xHCl Salz)

1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl **70** (0,2135 g; 0,5 mmol) wurde mit Triethylamin (0,21 ml; 2,5 mmol) und Benzoylchlorid (0,20 ml; 1,5 mmol) gemäß Methode B synthetisiert. Das Produkt<sup>302</sup> wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

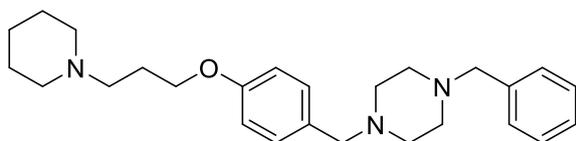
Ausbeute: 0,2210g; 0,45 mmol (90,0%)

APCI-MS (+): m/z: 422,5 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: Zersetzung &gt;221°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.53 (s, 1H), 10.47 (s, 1H), 7.63 – 7.41 (m, 7H), 7.01 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.26 (d, *J* = 5.1 Hz, 2H), 4.09 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.44 (d, *J* = 12.2 Hz, 5H), 3.32 – 2.96 (m, 7H), 2.85 (dt, *J* = 11.5, 8.0 Hz, 2H), 2.21 (dt, *J* = 10.4, 5.9 Hz, 2H), 1.91 – 1.65 (m, 5H), 1.47 – 1.32 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 169.14, 129.94, 128.52, 127.08, 114.53, 65.15, 53.33, 51.99, 40.35, 40.08, 39.80, 39.52, 39.24, 38.97, 38.69, 23.24, 22.33, 21.40.

LC-MS: Reinheit: 100,0% m/z: 211,41 [M+2H]<sup>2+</sup>1-Benzyl-4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3 HCl (74) MF S62 ST-2285Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>

Molekulargewicht: 407,60 g/mol

516,98 g/mol (3xHCl Salz)

Verbindung **74**<sup>301</sup> wurde gemäß Methode F aus 1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl **70** (0,4269 g; 1,0 mmol), Benzylchlorid ( 0,19 ml; 1,5 mmol) Kaliumcarbonat (0,5500 g; 4,0 mmol) und Kaliumiodid (kat.) in Aceton unter Rückfluss synthetisiert. Das Aufgearbeitete Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol mit Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,0581 g; 0,14 mmol (14,3 %)

APCI-MS (+): m/z: 408,6 [M+H]<sup>+</sup>

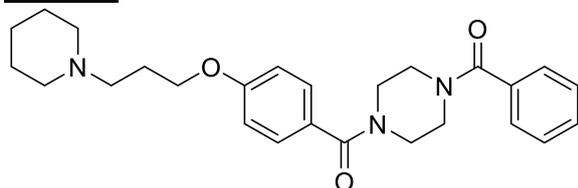
Schmelzpunkt: 263,4-263,7°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.51 (dd, *J* = 6.6, 3.1 Hz, 2H), 7.44 (q, *J* = 4.1, 3.2 Hz, 5H), 7.02 – 6.96 (m, 2H), 4.28 (d, *J* = 5.5 Hz, 4H), 4.04 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.48 – 3.27 (m, 10H), 3.19 – 3.10 (m, 2H), 2.86 (td, *J* = 12.3, 3.2 Hz, 2H), 2.13 (dq, *J* = 11.8, 5.9 Hz, 2H), 1.71 (ddd, *J* = 39.3, 16.6, 12.9 Hz, 5H), 1.39 (t, *J* = 12.8 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.07, 132.83, 131.06, 129.58, 128.87, 124.52, 114.69, 64.93, 53.29, 52.15, 39.87, 23.24, 22.44.

LC-MS: Reinheit: 97,87%  $m/z$ : 204,38  $[\text{M}+2\text{H}^+]^{2+}$

(4-Benzoylpiperazin-1-yl)(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanon (75) MF S60  
**ST-2283**



Summenformel:  $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_1$

Molekulargewicht: 435,57 g/mol

472,03 g/mol (HCl Salz)

Verbindung **75**<sup>301</sup> wurde gemäß Methode B aus Piperazin-1-yl(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanon x 2HCl **72** (0,4050 g; 1,0 mmol), Triethylamin (0,43 ml; 3,1 mmol) und Benzoylchlorid (0,13 ml; 1,1 mmol) in Dichlormethan synthetisiert. Das Produkt wurde aus Aceton umkristallisiert und als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,2712 g; 0,57 mmol (57,0 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 436,6  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

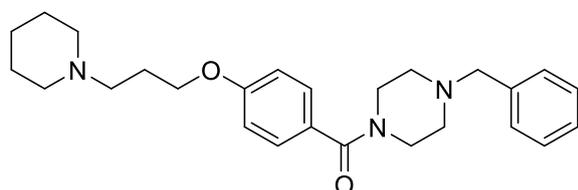
Schmelzpunkt: 146,3-147,1°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.46 – 7.33 (m, 7H), 6.95 – 6.87 (m, 2H), 4.03 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 3.65 (s, 8H), 2.46 (dt,  $J$  = 18.4, 6.4 Hz, 6H), 2.06 – 1.94 (m, 2H), 1.61 (p,  $J$  = 5.5 Hz, 4H), 1.45 (q,  $J$  = 6.1 Hz, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.78, 160.70, 135.33, 130.21, 129.34, 128.78, 127.20, 114.54, 66.74, 55.95, 54.75, 26.74, 25.97, 24.46.

LC-MS: Reinheit: 100,0%  $m/z$ : 436,17  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(4-Benzylpiperazin-1-yl)(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanon x 2HCl (76) MF S 61  
**ST-2284**



Summenformel:  $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_2$

Molekulargewicht: 421,59 g/mol

494,50 g/mol (2xHCl Salz)

Verbindung **76** wurde gemäß Methode F aus 1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)-piperazin x 2HCl **72** (0,2901 g; 0,72 mmol), Benzylchlorid (0,12 ml; 1,1 mmol) Kaliumcarbonat (0,5500 g; 4,0 mmol) und Kaliumiodid (kat.) in Aceton unter Rückfluss synthetisiert. Das Aufgearbeitete Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,1201g; 0,25 mmol (34,7%)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 422,6  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

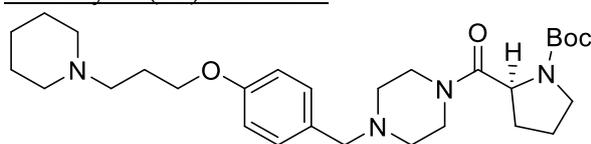
Schmelzpunkt: 258.9-259.1°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.40 (d, *J* = 24.0 Hz, 7H), 6.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.27 (s, 2H), 4.20 (s, 10H), 4.03 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.41 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 3.14 (dd, *J* = 19.3, 11.2 Hz, 6H), 2.81 (t, *J* = 12.2 Hz, 2H), 2.19 – 2.00 (m, 2H), 1.80 (d, *J* = 13.4 Hz, 2H), 1.60 (d, *J* = 17.6 Hz, 3H), 1.35 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.21, 160.73, 132.24, 131.11, 130.19, 129.49, 127.07, 115.46, 65.94, 60.59, 54.60, 53.57, 51.50, 24.30, 23.59, 22.03.

LC-MS: Reinheit: 100,0% m/z: 211,39 [M+2H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup>

*tert*-(*S*)-Butyl-2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**77**) MF S140



Summenformel: C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 514,71 g/mol

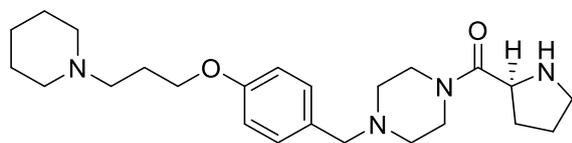
Verbindung **77** wurde gemäß Methode A aus 1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl **70** (1,587 g; 5,0 mmol), *N*-Boc-*L*-Prolin (1,183 g; 5,5 mmol), HOBt (0,7650 g; 5,0 mmol) und EDC (0,9 ml; 5,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flashchromatographie aufgereinigt. Aminosäule mit Hexan:Ethylacetat 50:50-40:60.

Ausbeute: 2,064 g; 4,01 mmol (80,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 516,0 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.25 – 7.10 (m, 2H), 6.93 – 6.80 (m, 2H), 4.57 (ddd, *J* = 12.2, 8.5, 3.4 Hz, 1H), 3.96 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.63 – 3.44 (m, 3H), 3.40 (s, 2H), 3.38 – 3.33 (m, 1H), 3.28 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.44 – 2.03 (m, 12H), 1.90 – 1.59 (m, 6H), 1.48 (p, *J* = 5.5 Hz, 4H), 1.38 (d, *J* = 3.4 Hz, 5H), 1.29 (s, 6H).

(*S*)-1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)-4-propylpiperazin x 3 HCl (**78**) MF S142 ST-2425



Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 414,59 g/mol

523,97 g/mol (3xHCl Salz)

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +54,67°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **78** wurde in Ethanol gelöst und gemäß Methode Q aus *tert*-Butyl-(*S*)-2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-carboxylat **77** mit HCl synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 98:2-96:4 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 1,414 g; 2,7 mmol (66,2 %)

APCI-MS (+): m/z: 415,6 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

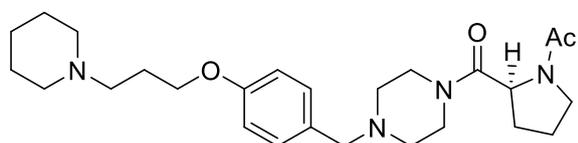
Schmelzpunkt 84.1-86.7°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  12.07 (s, 1H), 10.88 (s, 1H), 10.48 (d,  $J = 73.7$  Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 7.57 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.05 – 6.96 (m, 2H), 4.61 (d,  $J = 34.7$  Hz, 1H), 4.46 – 4.22 (m, 3H), 4.09 (t,  $J = 6.1$  Hz, 3H), 3.92 (s, 2H), 3.75 – 3.62 (m, 1H), 3.46 – 3.03 (m, 10H), 2.92 – 2.79 (m, 2H), 2.35 (dd,  $J = 23.8, 8.0$  Hz, 1H), 2.29 – 2.16 (m, 2H), 1.97 – 1.64 (m, 8H), 1.39 (t,  $J = 12.6$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  159.05, 132.96, 114.60, 65.21, 53.24, 51.89, 48.54, 45.55, 40.33, 40.05, 39.77, 39.50, 39.22, 38.94, 38.66, 25.46, 23.62, 23.13, 22.23, 21.39.

LC-MS: Reinheit: 99,96%  $m/z$ : 208,09  $[\text{M}+2\text{H}^+]^{2+}$

(S)-1-(2-(4-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-yl)ethan-1-on x 2HCl (79) MF S149 ST-2428



Summenformel:  $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_3$

Molekulargewicht: 456,63 g/mol

529,55 g/mol (2xHCl)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ :  $+35,67^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^{-1}$  (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **79** wurde gemäß Methode B aus (S)-1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)-4-propylpiperazin x 3 HCl **78** (0,09 g; 0,22 mmol), Triethylamin (0,15 ml; 1,0 mmol) und Acetylchlorid (0,03 ml; 0,33 mmol) in Dichlormethan synthetisiert. Das Produkt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/ $\text{NH}_3$  95:5 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,0694 g; 0,13 mmol (59,6 %)

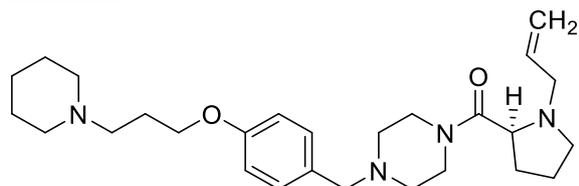
APCI-MS (+):  $m/z$ : 457,8  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

Schmelzpunkt 72,4-73,7°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.74 (d,  $J = 33.8$  Hz, 1H), 10.75 (s, 1H), 7.58 (dt,  $J = 6.7, 3.2$  Hz, 2H), 7.01 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 5.04 – 4.64 (m, 1H), 4.41 (d,  $J = 17.7$  Hz, 3H), 4.27 (s, 2H), 4.09 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.73 – 3.58 (m, 1H), 3.56 – 3.10 (m, 11H), 2.87 (dt,  $J = 11.9, 8.3$  Hz, 2H), 2.22 (dq,  $J = 11.9, 6.2$  Hz, 2H), 2.08 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 1.97 – 1.68 (m, 11H), 1.39 (tq,  $J = 12.7, 8.2, 6.4$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.04, 132.98, 121.50, 114.59, 65.18, 65.17, 53.26, 51.92, 40.32, 40.05, 39.77, 39.49, 39.21, 38.94, 38.66, 24.31, 23.16, 22.26, 22.11, 21.38.

LC-MS: Reinheit: 100,0%  $m/z$ : 318,29  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(S)-1-(Allylpropyl)-4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl (**80**) MF S151 ST-2430Summenformel: C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>Molekulargewicht: 456,63 g/mol  
564,03 g/mol (3xHCl)Spez. Drehung:  $[\alpha]_{D}^{25}$ : +23,00°\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **80** wurde gemäß Methode F aus (S)-1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)-4-propylpiperazin x 3 HCl **78** (0,2073g; 0,5 mmol), Allylbromid (0,0726g; 0,6mmol) und Kaliumcarbonat (0,28g; 2,0mmol) in Acetonitril bei Raumtemperatur synthetisiert.

Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 97:3 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

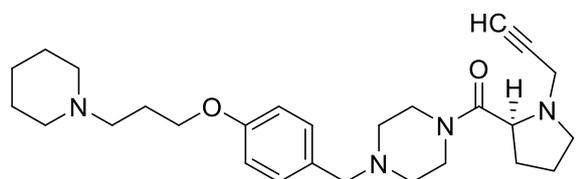
Ausbeute:0,1697g; 0,37mmol (74,7%)

APCI-MS (+): m/z: 455,6 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt 235,1-238,2°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.18 (s, 1H), 10.95 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.01 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.00 – 5.82 (m, 1H), 5.60 – 5.38 (m, 2H), 4.80 (dd, *J* = 76.2, 8.2 Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 4.27 (s, 2H), 4.09 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 4.06 – 3.82 (m, 2H), 3.58 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H), 3.13 (dt, *J* = 10.5, 5.7 Hz, 10H), 2.86 (dt, *J* = 13.2, 10.2 Hz, 2H), 2.22 (dd, *J* = 10.4, 5.8 Hz, 2H), 2.14 – 1.62 (m, 9H), 1.37 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.05, 132.97, 114.60, 65.22, 64.65, 61.96, 53.23, 51.88, 40.33, 40.05, 39.78, 39.50, 39.22, 38.94, 38.66, 25.46, 23.12, 22.21, 21.40.

LC-MS: Reinheit: 100,0% m/z: 228,12 [M+2H]<sup>2+</sup>(S)-1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)-4-(prop-2-yn-1-ylpropyl)piperazin (**81**) MF S152ST-2431Summenformel: C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>Molekulargewicht: 452,64 g/mol  
562,03 g/mol (3xHCl)Spez. Drehung:  $[\alpha]_{D}^{25}$ : +30,67°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **81** wurde gemäß Methode F aus (S)-1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)-4-propylpiperazin x 3 HCl **78** (0,2073 g; 0,5 mmol), Propargyllbromid (0,0741 g; 0,6 mmol) und Kaliumcarbonat (0,2800 g; 2,0 mmol) in Acetonitril bei Raumtemperatur synthetisiert.

Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 97:3 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,1744 g; 0,39 mmol (77,1 %)

APCI-MS (+): m/z: 453,4 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

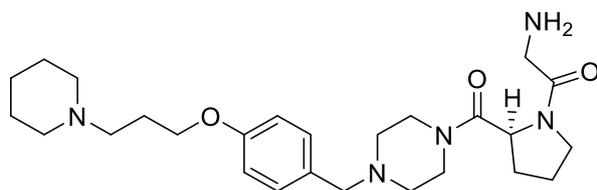
Schmelzpunkt: 245,9-247,2°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.18 (s, 1H), 10.98 (s, 1H), 10.26 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 4.79 (d, *J* = 74.1 Hz, 1H), 4.47 – 4.24 (m, 3H), 4.19 – 4.02 (m, 5H), 3.89 (d, *J* = 22.6 Hz, 2H), 3.68 (s, 1H), 3.46 – 2.96 (m, 11H), 2.88 (dd, *J* = 12.1, 9.0 Hz, 2H), 2.24 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 2.15 – 1.64 (m, 9H), 1.37 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 1.03 (d, *J* = 6.1 Hz, 5H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.03, 132.97, 114.59, 65.22, 61.95, 53.24, 51.87, 40.33, 40.05, 39.78, 39.50, 39.22, 38.94, 38.67, 25.46, 23.11, 22.21, 21.40.

LC-MS: Reinheit: 100,0% m/z: 227,10 [M+2H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup>

2-Amino-1-(2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-yl)ethan-1-on (82) MF S155 ST-2432



Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 471,65 g/mol  
581,02 g/mol (3xHCl)

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +41,90°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **82** wurde gemäß Methode A aus (*S*)-1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)-4-propylpiperazin x 3 HCl **78** (0,120 g; 0,23 mmol), *N*-Boc-Glycin (0,0876 g 0,5 mmol), HOBt (0,1273 g; 0,5 mmol) und EDC (0,09 ml; 0,5 mmol) in DMF synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit 2 N NaOH Lösung gewaschen und das Boc geschützte Produkt erhalten.

Das Produkt wurde in Methanol gelöst und gemäß Methode Q mit HCl in Dioxan entschützt.

Ausbeute: 0,0435 g; 0,075 mmol (32,6 %)

APCI-MS (+): m/z: 472,8 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

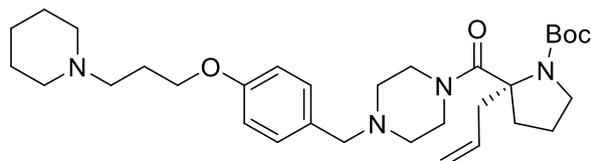
Schmelzpunkt: 155,2-157°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.00 (s, 1H), 10.89 (s, 1H), 8.56 – 8.09 (m, 3H), 7.61 (dd, *J* = 19.2, 8.0 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 5.26 – 4.75 (m, 1H), 4.27 (s, 4H), 4.09 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.82 – 3.75 (m, 1H), 3.73 – 3.65 (m, 1H), 3.57 – 3.38 (m, 6H), 3.13 (q, *J* = 7.5, 5.0 Hz, 4H), 2.93 – 2.80 (m, 2H), 2.21 (dt, *J* = 12.0, 6.1 Hz, 3H), 1.97 – 1.64 (m, 8H), 1.39 (t, *J* = 12.7 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  164.02, 161.40, 159.02, 132.98, 114.58, 112.86, 107.25, 92.67, 65.22, 53.25, 51.89, 40.33, 40.05, 39.77, 39.63, 39.49, 39.22, 38.94, 38.66, 23.13, 22.22, 21.40, 17.57.

LC-MS: Reinheit: 96,98%  $m/z$ : 236,61  $[\text{M}+2\text{H}^+]^{2+}$

*tert*-Butyl-(*R*)-2-allyl-2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carbonyl)-pyrrolidin-1-carboxylat (**83**) MF S141



Summenformel:  $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_4$

Molekulargewicht: 554,78 g/mol

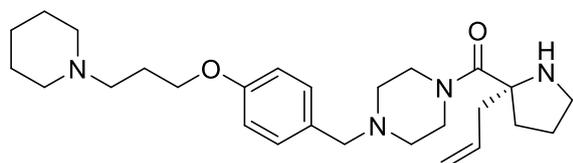
Verbindung **83** wurde gemäß Methode A aus 1-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin x 3HCl **70** (0,2552 g; 1,0 mmol), *N*-Boc-L-Allylprolin **4** (0,3492 g; 1,1 mmol), HOBt (0,1512 g; 1,0 mmol) und EDC (0,18 ml; 1,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol 99:1-98:2 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,1995 g; 0,36 mmol (36 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 555,5  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) 8.97 (s, 1H), 7.59 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.17 – 6.99 (m, 2H), 5.80 – 5.67 (m, 1H), 5.42 – 5.14 (m, 2H), 4.36 (d,  $J = 36.8$  Hz, 3H), 4.11 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 3.65 – 3.30 (m, 11H), 3.16 – 3.10 (m, 2H), 2.98 – 2.74 (m, 6H), 2.31 (dd,  $J = 13.7, 6.7$  Hz, 1H), 2.25 – 2.17 (m, 2H), 2.07 – 1.66 (m, 8H), 1.46 – 1.29 (m, 10H)

(*R*)-(2-Allylpyrrolidin-2-yl)-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-yl)methanon x 3HCl (**84**) MF S146 ST-2426



Summenformel:  $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_2$

Molekulargewicht: 455,66 g/mol

564,03 g/mol (3xHCl)

Spez. Drehung:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ : +31,43°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **84** wurde in Ethanol gemäß Methode Q aus *tert*-Butyl-(*R*)-2-allyl-2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-carboxylat **83** (0,1995 g; 0,36 mmol) mit HCl in Dioxan synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Produkt als HCl Salz aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,2040 g; 0,36 mmol (quantitativ)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 456,0  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

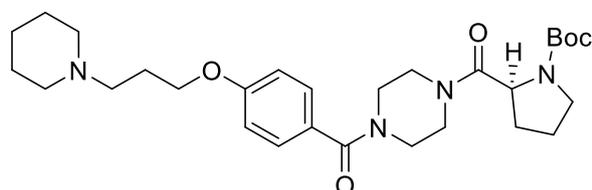
Schmelzpunkt: 106.5-108,9°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.04 (s, 1H), 10.76 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.06 – 6.98 (m, 2H), 5.80 – 5.61 (m, 1H), 5.42 – 5.14 (m, 2H), 4.36 (d, *J* = 37.8 Hz, 3H), 4.10 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.63 – 3.20 (m, 11H), 3.16 – 3.10 (m, 2H), 2.98 – 2.74 (m, 6H), 2.35 (dd, *J* = 13.9, 6.9 Hz, 1H), 2.25 – 2.17 (m, 2H), 2.07 – 1.66 (m, 8H), 1.46 – 1.32 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 167.34, 159.06, 133.02, 130.81, 121.42, 114.61, 72.27, 65.05, 64.32, 53.25, 51.93, 40.33, 40.05, 39.77, 39.49, 39.22, 38.94, 38.66, 23.41, 22.26, 21.38.

LC-MS: Reinheit: 95,24% m/z: 228,11 [M+2H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup>

tert-Butyl-(R)-2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-carboxylat (85) MF S156



Summenformel: C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 528,69 g/mol

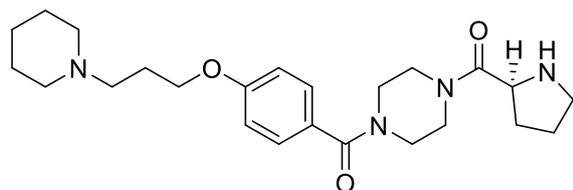
Verbindung **85** wurde gemäß Methode A aus 1-Piperazin-1-yl(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)methanon **72** (1,5847g; 4,78 mmol), *N*-Boc-L-Prolin (1,1839g; 5,5mmol), HOBT (0,8415 g; 5,5 mmol) und EDC (1,0 ml; 5,5 mmol) in DMF synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 97:3 aufgereinigt.

Aubeute: 2,128 g; 4,0 mmol (84,2 %)

APCI-MS: (+): m/z: 529,1/530,1 (M+H)<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.46 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.02 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.11 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.45 (dq, *J* = 16.1, 9.2, 8.8 Hz, 8H), 3.42 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H), 3.36 – 3.11 (m, 4H), 2.87 (d, *J* = 11.0 Hz, 2H), 2.36 (m, 1H), 2.22 (dq, *J* = 11.8, 610 Hz, 2H), 1.82 (tdd, *J* = 31.6, 20.3, 11.5 Hz, 8H), 1.48 – 1.30 (m, 1H), 1.04 (s, 9H).

(S)-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)(4-propylpiperazin-1-yl)methanon x 2HCl (86) MF S157 ST-2433



Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 428,58 g/mol

501,49 g/mol (2xHCl Salz)

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +30,00°\*ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Verbindung **86** wurde gemäß Methode Q aus *tert*-Butyl-(*R*)-2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**85**) (2,125 g; 4,0 mmol) mit HCl in Dioxan synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Produkt als HCl Salz aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 1,702 g; 3,4 mmol (85,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 429,6 [M+H]<sup>+</sup>

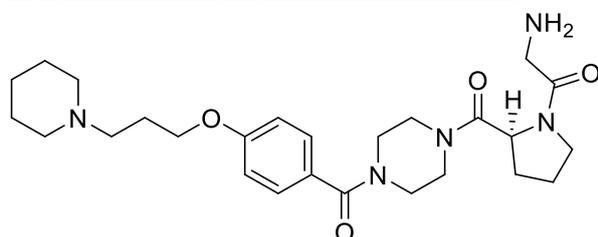
Schmelzpunkt: 177,4-181,6°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.91 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.60 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 4.11 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.55 (dq, *J* = 16.1, 9.4, 8.6 Hz, 8H), 3.42 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H), 3.26 – 3.09 (m, 4H), 2.86 (d, *J* = 11.0 Hz, 2H), 2.36 (dt, *J* = 13.1, 6.9 Hz, 1H), 2.23 (dq, *J* = 11.8, 6.0 Hz, 2H), 1.82 (tdd, *J* = 31.6, 20.3, 11.5 Hz, 8H), 1.48 – 1.30 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 169.13, 166.77, 159.38, 129.17, 127.58, 114.21, 65.27, 57.33, 53.23, 51.89, 45.49, 40.33, 40.06, 39.78, 39.50, 39.22, 38.94, 38.66, 28.59, 23.67, 23.12, 22.22, 21.40.

LC-MS: Reinheit: 97,75% m/z: 215,06 [M+2H]<sup>2+</sup>

(*S*)-2-Amino-1-(2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazin-1-carbonyl)pyrrolidin-1-yl)ethan-1-on (**87**) MF S159 ST-2434



Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 428,58 g/mol

501,49 g/mol (HCl Salz)

Spez. Drehung: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup>: +56,00°ml\*g<sup>-1</sup>\*dm<sup>-1</sup> (10 mg/ml, MeOH)

Aus (*S*)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl(4-propylpiperazin-1-yl)methanon **86** (1,2857g; 3 mmol), *N*-Boc-Glycin HCl (0,7008 g; 4,0 mmol), HOBT (0,6120 g; 4,0 mmol) und EDC (0,73 ml; 4,0 mmol) in DMF wurde *tert*-butyl-(2-oxo-2-(2-(4-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)piperazine-1-carbonyl)pyrrolidin-1-yl)ethyl)carbamate synthetisiert. Das Boc-geschützte Produkt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 98:2-95:5 aufgereinigt. Verbindung **87** wurde anschließen nach Methode Q mit HCl in Dioxan synthetisiert. Das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,8553 g; 1,8 mmol (59,0 %)

APCI-MS: (+): m/z: 486,7 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 190,1-192,3°C

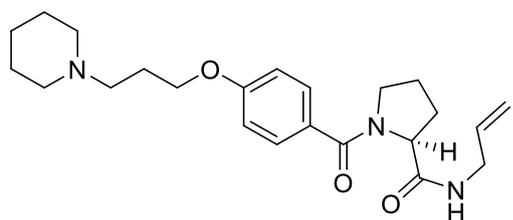
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.89 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 8.36 – 8.20 (m, 2H), 7.42 (t,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 7.07 – 6.94 (m, 2H), 5.22 – 4.75 (m, 1H), 4.11 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 3.75 – 3.67 (m, 6H), 3.58 – 3.35 (m, 8H), 3.15 – 3.09 (m, 3H), 2.95 – 2.79 (m, 2H), 2.30 – 2.10 (m, 3H), 1.98 – 1.65 (m, 8H), 1.39 (t,  $J$  = 12.5 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  171.64, 169.42, 169.18, 163.92, 159.48, 159.33, 129.27, 129.15, 127.02, 114.20, 65.27, 56.44, 53.23, 51.89, 42.34, 40.32, 40.04, 39.77, 39.66, 39.49, 39.21, 38.93, 38.65, 23.13, 22.22, 22.03, 21.40.

LC-MS: Reinheit: 95,50%  $m/z$ : 243,55  $[\text{M}+2\text{H}^+]^{2+}$

(S)-N-Allyl-1-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)benzoyl)pyrrolidin-2-carboxamid x HCl (**88**) MF

S112 ST-2356



Summenformel:  $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3$   
Molekulargewicht: 399,54 g/mol  
435,99 g/mol (HCl Salz)

Verbindung **88** wurde gemäß Methode C aus 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure x HCl **37** (0,8994 g; 3,0 mmol), (S)-N-Allylpyrrolidin-2-carbonsäure x HCl **27** (0,3814 g; 2,0 mmol), Triethylamin (2,1 ml; 15,0 mmol) und BOPCl (0,5346 g; 2,1 mmol) synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flashchromatographie aufgereinigt. Aminophase mit Dichlormethan: Methanol 99:1. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und mit Hilfe der Gefriertrocknung getrocknet.

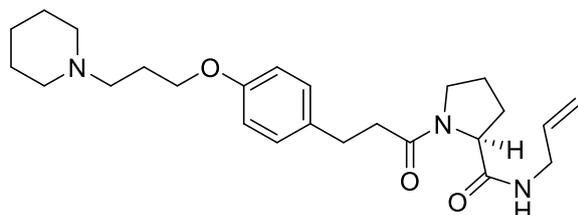
Ausbeute: 0,1725 g; 0,43 mmol (21,6 %)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 400,6  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.70 (s, 1H), 8.09 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 7.43 (dd,  $J$  = 82.9, 8.2 Hz, 2H), 6.98 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 5.79 (ddt,  $J$  = 17.2, 9.8, 4.8 Hz, 1H), 5.23 – 4.87 (m, 2H), 4.50 – 4.20 (m, 1H), 4.10 (q,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 3.73 – 3.55 (m, 3H), 3.49 – 3.40 (m, 3H), 3.15 (dt,  $J$  = 13.5, 5.4 Hz, 2H), 2.86 (qd,  $J$  = 12.1, 4.0 Hz, 2H), 2.21 (tt,  $J$  = 14.3, 6.9 Hz, 3H), 1.91 – 1.65 (m, 8H), 1.38 (tq,  $J$  = 12.1, 7.4, 5.9 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  171.55, 168.10, 159.47, 135.30, 129.41, 128.85, 114.65, 113.77, 65.17, 60.35, 53.26, 51.92, 40.58, 40.34, 40.06, 39.78, 39.50, 39.22, 38.95, 38.67, 29.74, 25.09, 23.16, 22.27, 21.39.

LC-MS: Reinheit: 96,36%  $m/z$ : 428,22  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(S)-N-Allyl-1-(3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)propanoyl)pyrrolidin-2-carboxamid(89) MF S113 ST-2357Summenformel: C<sub>25</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 427,59 g/mol

464,05 g/mol (HCl Salz)

Verbindung **89** wurde gemäß Methode C aus 3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)propansäure x HCl **40** (0,9836g; 3,0 mmol), (S)-N-Allylpyrrolidin-2-carbonsäure x HCl **27** (0,3814 g; 2,0 mmol), Triethylamin (2,1 ml; 15 mmol) und BOPCl (0,5346g; 2,1 mmol) synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flashchromatographie aufgereinigt. Aminophase mit Dichlormethan: Methanol 99:1.

Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und mit Hilfe der Gefriertrocknung getrocknet.

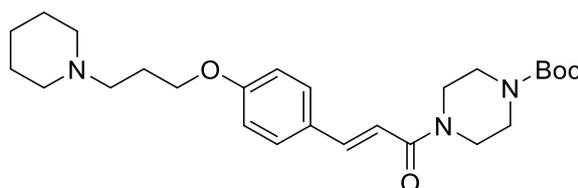
Ausbeute: 0,2367 g; 0,53 mmol (25,6 %)

APCI-MS (+): m/z: 428,6 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.77 (s, 1H), 8.15 (dt, *J* = 111.9, 5.8 Hz, 1H), 7.19 – 7.05 (m, 2H), 6.83 (dd, *J* = 8.7, 2.6 Hz, 2H), 5.83 – 5.67 (m, 1H), 5.18 – 4.97 (m, 3H), 4.30 (ddd, *J* = 19.0, 8.4, 2.8 Hz, 1H), 4.00 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.67 (qd, *J* = 5.3, 4.6, 1.9 Hz, 2H), 3.59 – 3.32 (m, 4H), 3.11 (dd, *J* = 10.5, 5.6 Hz, 2H), 2.94 – 2.79 (m, 2H), 2.72 (dt, *J* = 9.3, 6.4 Hz, 2H), 2.58 – 2.52 (m, 1H), 2.49 – 2.37 (m, 1H), 2.18 (dq, *J* = 12.0, 6.4 Hz, 3H), 1.93 – 1.64 (m, 8H), 1.37 (qt, *J* = 12.5, 4.6 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 171.72, 171.57, 170.27, 170.19, 156.46, 135.25, 135.11, 133.68, 133.53, 129.28, 129.17, 115.01, 114.65, 114.28, 65.01, 59.74, 59.47, 53.36, 51.89, 46.65, 40.78, 40.58, 40.32, 40.04, 39.76, 39.49, 39.21, 38.93, 38.65, 35.76, 35.67, 31.81, 29.51, 29.27, 24.18, 23.25, 22.25, 21.40.

LC-MS: Reinheit: 95,61% m/z: 400,18 [M+H]<sup>+</sup>

tert-Butyl (E)-4-(3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)acryloyl)piperazin-1-carboxylat (90)Am00Summenformel: C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 457,62 g/mol

Verbindung **90** wurde gemäß Methode A aus (E)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure xHCl **43** (1,303 g; 4,0 mmol) tert-Butyl piperazin-1-carboxylat **24** (0,7010g; 4 mmol) HOBt (0,6120 g; 4,0 mmol) und EDC (0,71 ml; 4,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das aufgearbeitete Produkt

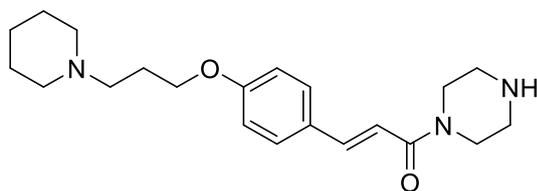
wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 95:5 aufgereinigt.

Ausbeute: 1,464 g; 3,2 mmol

APCI-MS (+): m/z: 458,7 [M+H]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.64 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 6.99 – 6.92 (m, 2H), 4.06 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.50 – 3.32 (m, 8H), 3.17 (s, 1H), 2.35 (dt, *J* = 13.5, 6.3 Hz, 6H), 1.86 (p, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.48 (p, *J* = 5.5 Hz, 4H), 1.41 (s, 11H).

(*E*)-1-(Piperazin-1-yl)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)prop-2-en-1-on x 2HCl (91)  
Am02 ST-2290



Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 357,50 g/mol

430,41 g/mol (2xHCl Salz)

Verbindung **91** wurde gemäß Methode Q aus tert-Butyl (*E*)-4-(3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)acryloyl)piperazin-1-carboxylat **90** (1,373 g; 3,0 mmol) mit HCl in Dioxan synthetisiert.

Ausbeute: 1,248 g; 2,9 mmol (96,7 %)

APCI-MS (+): m/z: 358,5 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 279,7-281,4 °C

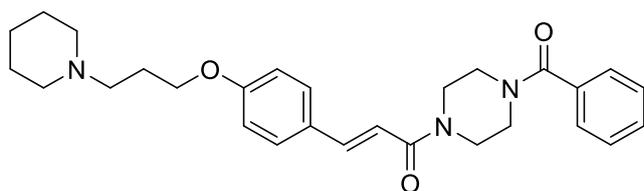
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.64 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 6.99 – 6.92 (m, 2H), 4.06 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.90 (d, *J* = 20.6 Hz, 4H), 3.41 (td, *J* = 8.7, 7.0, 4.9 Hz, 2H), 3.15 (d, *J* = 16.4 Hz, 6H), 2.92 – 2.79 (m, 2H), 2.13 (dq, *J* = 12.9, 6.0 Hz, 2H), 1.87 – 1.57 (m, 5H), 1.38 (dd, *J* = 17.0, 8.8 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.83, 160.09, 143.00, 130.40, 128.15, 115.31, 115.13, 65.51, 53.87, 52.73, 23.78, 23.00, 21.66.

LC-MS: Reinheit: 98,27% m/z: 179,45 [M+H]<sup>2+</sup>

(*E*)-1-(4-Benzoylpiperazin-1-yl)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)prop-2-en-1-on (92)

MF S71 ST-2311



Summenformel: C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 461,61 g/mol

Verbindung **92** wurde gemäß Methode B aus (*E*)-1-(Piperazin-1-yl)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)prop-2-en-1-on x 2HCl **91** (0,7747 g; 1,8 mmol), Triethylamin (0,70 ml; 5,0 mmol) und Benzoylchlorid (0,23 ml; 2,0 mmol) in Dichlormethan synthetisiert. Das Produkt wurde aus Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 0,4801 g; 1,0 mmol (57,8 %)

APCI-MS (+): m/z: 462,7 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

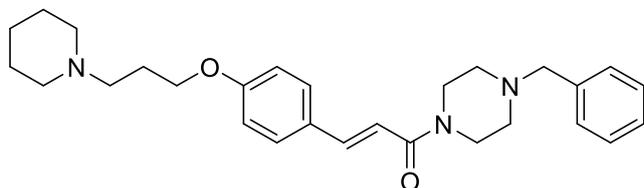
Schmelzpunkt: Zersetzung > 210 °C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.30 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.51 – 7.39 (m, 7H), 6.86 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.74 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 4.11 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.72 (s, 5H), 3.58 (d, *J* = 12.0 Hz, 3H), 3.15 (dt, *J* = 10.2, 5.2 Hz, 2H), 2.64 (t, *J* = 11.1 Hz, 2H), 2.48 (dq, *J* = 11.1, 5.5 Hz, 2H), 2.33 (q, *J* = 13.0 Hz, 2H), 1.90 (t, *J* = 17.0 Hz, 3H), 1.51 – 1.34 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.77, 166.02, 159.77, 143.24, 135.27, 130.23, 129.64, 128.77, 128.37, 127.21, 114.79, 114.36, 65.30, 55.41, 53.70, 24.07, 22.86, 22.39.

LC-MS: Reinheit: 98,62% m/z: 462,25 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

(*E*)-1-(4-Benzylpiperazin-1-yl)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)prop-2-en-1-on  
x 2HCl (**93**) MF S72 ST-2331



Summenformel: C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 447,62 g/mol  
 520,54 g/mol (2xHCl Salz)

Verbindung **93** wurde gemäß Methode J aus (*E*)-1-(Piperazin-1-yl)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)prop-2-en-1-on x 2HCl **91** (0,2152 g; 0,5 mmol), Benzaldehyd (0,06 ml; 0,6 mmol) und Natrium-Trisacetoxyborhydrid (0,1272 g; 0,6 mmol) in DCM synthetisiert.

Die organische Phase wurde mit 2N NaOH Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 95:5 aufgereinigt.

Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,1153 g 0,26 mmol (52 %)

APCI-MS (+): m/z: 448,7 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 246.7-247.9 °C

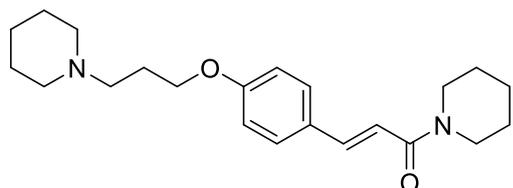
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.74 – 7.65 (m, 2H), 7.65 – 7.58 (m, 2H), 7.54 – 7.43 (m, 4H), 7.12 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H), 7.02 – 6.94 (m, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.35 (s, 2H), 4.10 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.55 (d, *J* = 20.1 Hz, 2H), 3.35 (d, *J* = 19.6 Hz, 2H), 3.21 – 3.12 (m, 2H), 3.04 (s, 2H), 2.88 (dt, *J* = 11.9, 7.8 Hz, 2H), 2.19 (dq, *J* = 11.8, 6.2 Hz, 2H), 1.73 (d, *J* = 31.4 Hz, 5H), 1.41 (dt, *J* = 13.4, 7.4 Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  164.86, 159.55, 142.28, 131.38, 128.78, 127.70, 125.85, 114.69, 65.10, 53.21, 51.95, 23.19, 22.34, 21.26.

LC-MS: Reinheit: 96,15%  $m/z$ : 224,55  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(E)-1-(Piperidin-1-yl)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)prop-2-en-1-on x HCl (94)

Am03 ST-2291



Summenformel:  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2$   
Molekulargewicht: 356,51 g/mol  
392,97 g/mol (HCl Salz)

Verbindung **94** wurde gemäß Methode A aus (E)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure xHCl **43** (0,3258 g; 1,0 mmol) Piperidin (0,1 ml; 1,0 mmol) HOBt (0,1530 g; 1,0 mmol) und EDC (0,18 ml; 1,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute : 0,3123g;0,79mmol (79%)

APCI-MS (+):  $m/z$ : 357,5  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

Schmelzpunkt: 195,0-197,6°C

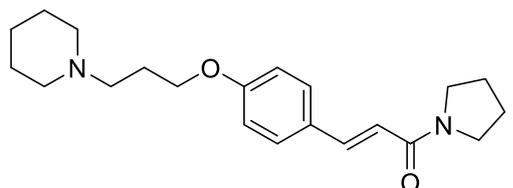
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.64 (s, 1H), 7.67 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.11 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 4.10 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.75 – 3.38 (m, 6H), 3.15 (dt,  $J = 13.1$ , 5.1 Hz, 2H), 2.98 – 2.75 (m, 2H), 2.22 (dq,  $J = 11.7$ , 6.0 Hz, 2H), 1.95 – 1.26 (m, 12H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  164.44, 159.27, 140.89, 129.59, 128.11, 116.03, 114.65, 65.19, 53.30, 51.96, 24.21, 23.20, 22.31, 21.41.

LC-MS: Reinheit: 99,98%  $m/z$ : 357,22  $[\text{M}+\text{H}^+]^+$

(E)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)-1-(pyrrolidin-1-yl)prop-2-en-1-on x HCl (95)

Am01 ST-2288



Summenformel:  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$   
Molekulargewicht: 342,48 g/mol  
378,94 g/mol (HCl Salz)

Verbindung **95** wurde gemäß Methode A aus (E)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure xHCl **43** (0,3258 g; 1,0 mmol) Pyrrolidin (0,09 ml; 1,0 mmol) HOBt (0,1530 g; 1,0 mmol) und EDC

(0,18 ml; 1,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,2690 g; 0,71 mmol (71,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 343,5 [M+H]<sup>+</sup>

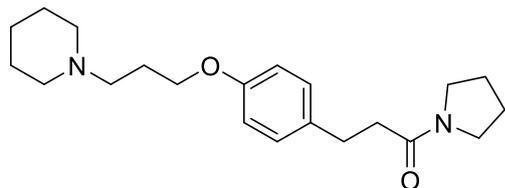
Schmelzpunkt: 151.5-152.6°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.66 – 7.58 (m, 2H), 7.41 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 6.99 – 6.91 (m, 2H), 6.82 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 4.03 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.61 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.38 (t, *J* = 6.8 Hz, 4H), 2.45 (s, 4H), 1.98 – 1.74 (m, 6H), 1.52 (p, *J* = 5.3 Hz, 4H), 1.40 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.15, 160.22, 141.41, 129.47, 128.17, 116.54, 114.81, 66.43, 55.91, 54.56, 46.66, 46.12, 26.34, 26.27, 25.46, 24.49, 24.11.

LC-MS: Reinheit: 96,94% m/z: 343,21 [M+H]<sup>+</sup>

3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-on (96) AM01R ST-2289



Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 344,49 g/mol

380,96 g/mol (HCl Salz)

Verbindung **96** wurde gemäß Methode T aus (*E*)-3-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)-1-(pyrrolidin-1-yl)prop-2-en-1-on x HCl **95** (0,100 g; 0,26 mmol) synthetisiert.

Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,0800g; 0,21 mmol (80,8%)

APCI-MS (+): m/z: 345,5 [M+H]<sup>+</sup>

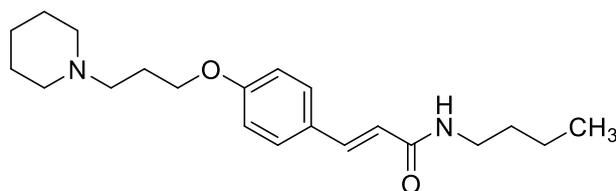
Schmelzpunkt: 159,8-161,3°C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.18 (s, 1H), 7.21 – 7.10 (m, 2H), 6.92 – 6.79 (m, 2H), 4.00 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.33 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.26 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.14 (dt, *J* = 10.3, 5.2 Hz, 2H), 2.86 (dq, *J* = 16.1, 8.8 Hz, 2H), 2.74 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.16 (dq, *J* = 11.6, 6.1 Hz, 2H), 1.77 (tq, *J* = 15.4, 9.0, 7.7 Hz, 9H), 1.41 (dd, *J* = 16.2, 8.6 Hz, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 170.79, 156.47, 133.79, 114.29, 65.01, 53.42, 51.98, 45.81, 45.24, 35.92, 29.52, 25.62, 23.96, 23.32, 22.34, 21.41.

LC-MS: Reinheit: 98,23% m/z: 345,22 [M+H]<sup>+</sup>

(E)-N-Butyl-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)acrylamid (97) Am04 ST-2292



Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
 Molekulargewicht: 344,50 g/mol  
 380,96 g/mol (HCl Salz)

Verbindung **97** wurde gemäß Methode A aus (*E*)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure xHCl **43** (0,3258 g; 1,0 mmol), Butylamin (0,1ml; 1,0 mmol), HOBt (0,1530 g; 1,0 mmol) und EDC (0,18 ml; 1,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,2790 g; 0,81 mmol (81,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 343,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

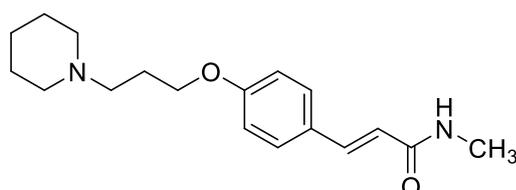
Schmelzpunkt: 229,2-230,0 °C

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.56 – 7.43 (m, 2H), 7.34 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.02 – 6.93 (m, 2H), 6.49 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 4.08 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.45 (d, *J* = 12.1 Hz, 3H), 3.22 – 3.10 (m, 5H), 2.88 (td, *J* = 11.6, 4.5 Hz, 3H), 2.17 (dq, *J* = 11.7, 6.0 Hz, 3H), 1.75 (d, *J* = 18.0 Hz, 6H), 1.49 – 1.22 (m, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ 167.25, 159.89, 139.63, 129.72, 128.23, 119.27, 115.12, 65.42, 54.61, 53.43, 39.19, 31.30, 23.80, 23.01, 21.46, 19.98, 13.34.

LC-MS: Reinheit: 95,48% m/z: 345,22 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

(E)-N-Methyl-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)acrylamid (98) MF DH11 ST-2259



Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
 Molekulargewicht: 302,42 g/mol

(*E*)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure xHCl **43** (0,9775 g; 3,0 mmol) wurde gemäß Methode K als Säurechlorid aktiviert und aufgearbeitet.

Verbindung **98** wurde gemäß Methode B mit Triethylamin (5,0 ml; 60,0 mmol) in Tetrahydrofuran gelöst. Der Ansatz wurde in einem Eis/NaCl Bad bei -15°C gerührt und Methylammoniumchlorid (2,026 g; 30,0 mmol) zugegeben. Die Reaktion wurde 12 Stunden bei -15°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 95:5 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,2518 g; 0,83 mmol (28,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 303,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

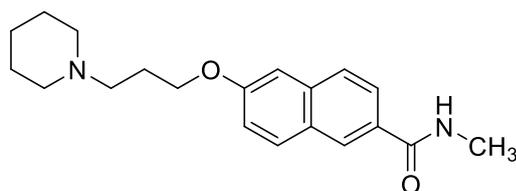
Schmelzpunkt: 134,0-134,4°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.57 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H), 7.46 – 7.38 (m, 2H), 6.90 – 6.83 (m, 2H), 6.25 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H), 5.64 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 4.02 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.93 (d,  $J = 4.9$  Hz, 3H), 2.53 – 2.37 (m, 6H), 2.05 – 1.94 (m, 2H), 1.61 (p,  $J = 5.5$  Hz, 4H), 1.45 (q,  $J = 6.3$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.10, 160.44, 140.57, 129.38, 127.54, 118.18, 114.89, 77.58, 77.36, 77.16, 76.74, 66.70, 56.01, 54.76, 26.82, 26.63, 26.02, 24.49.

LC-MS: Reinheit: 97,40%  $m/z$ : 303,13  $[\text{M}+\text{H}]^+$

*N*-Methyl-6-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)-2-naphthamid (**99**)*MF DH12 ST-2260*



Summenformel:  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$   
Molekulargewicht: 326,44 g/mol

6-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)-2-naphthoesäure x HCl **45** (0,5248 g; 1,5 mmol) wurde gemäß Methode K als Säurechlorid aktiviert und aufgearbeitet.

Verbindung **99** wurde gemäß Methode B mit Triethylamin (2,5 ml; 30,0 mmol) in Tetrahydrofuran gelöst. Der Ansatz wurde in einem Eis/NaCl Bad bei  $-15^\circ\text{C}$  gerührt und Methylammoniumchlorid (1,015 g; 15,0 mmol) zugegeben. Die Reaktion wurde 12 Stunden bei  $-15^\circ\text{C}$  gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/ $\text{NH}_3$  95:5 aufgereinigt.

Ausbeute: 0,1820 g; 0,56 mmol (37,4 %)

APCI-MS: (+):  $m/z$ : 303,5/304,5  $(\text{M}+\text{H})^+$

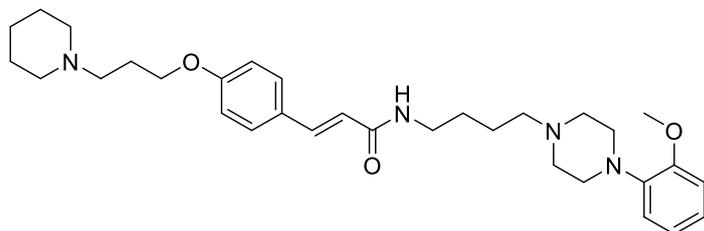
Schmelzpunkt: 146,9-147,2°C

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.22 – 8.17 (m, 1H), 7.81 – 7.70 (m, 3H), 7.21 – 7.13 (m, 2H), 6.27 (d,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 4.14 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.06 (d,  $J = 4.8$  Hz, 3H), 2.55 – 2.48 (m, 2H), 2.42 (s, 4H), 2.11 – 1.99 (m, 2H), 1.60 (p,  $J = 5.5$  Hz, 4H), 1.45 (d,  $J = 5.5$  Hz, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  168.50, 158.56, 136.34, 130.46, 129.64, 128.07, 127.21, 124.18, 120.09, 106.53, 104.87, 77.58, 77.16, 76.74, 66.78, 56.13, 54.82, 27.06, 26.91, 26.13, 24.58.

LC-MS: Reinheit: 95,32%  $m/z$ : 327,13  $[\text{M}+\text{H}]^+$

(E)-N-(4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyl)-3-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)-phenyl)-acrylamid (100)MF DH6 ST-2234



Summenformel: C<sub>32</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 534,75 g/mol

Verbindung **100** wurde gemäß Methode A aus (*E*)-4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)zimtsäure x HCl **43** (0,5865 g; 1,8 mmol), 4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butan-1-amin **51** (0,3951 g 1,5 mmol) HOBt (0,320 g; 1,8 mmol) und EDC (0,15 ml; 1,8 mmol) in DMF synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Säulenchromatographie über Kieselgel mit Dichlormethan: Methanol/NH<sub>3</sub> 95:5 aufgereinigt.

Das Produkt wurde aus Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 0,3787 g; 1,2 mmol (77,3 %)

APCI-MS (+): m/z: 535,8 [M+H]<sup>+</sup>

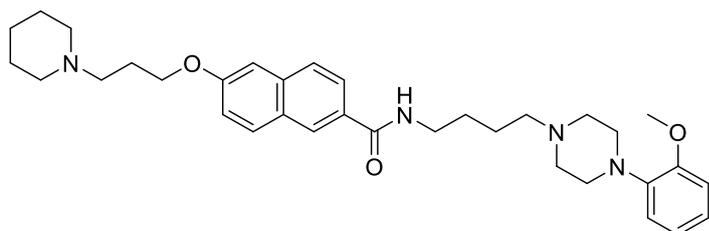
Schmelzpunkt: 140,0°C-141,1°C

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.56 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 7.43 – 7.37 (m, 2H), 7.00 (ddd, *J* = 8.1, 7.0, 2.0 Hz, 1H), 6.96 – 6.89 (m, 2H), 6.88 – 6.82 (m, 3H), 6.44 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 6.27 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 4.01 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.40 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.13 (s, 4H), 2.67 (s, 4H), 2.52 – 2.35 (m, 8H), 2.01 – 1.95 (m, 2H), 1.62 (s, 4H), 1.59 (p, *J* = 5.6 Hz, 4H), 1.44 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.23, 160.28, 152.28, 141.20, 140.31, 129.22, 127.50, 122.99, 121.01, 118.48, 118.20, 114.77, 111.20, 66.59, 58.15, 55.91, 55.37, 54.65, 53.45, 50.63, 39.64, 27.57, 26.73, 25.93, 24.51, 24.40.

LC-MS: Reinheit: 97,37% m/z: 267,98 [M+2H]<sup>2+</sup>

N-(4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyl)-6-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)-2-naphthamid (101) MF DH10 ST-2223



Summenformel: C<sub>34</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 558,77 g/mol

Verbindung **101** wurde gemäß Methode A aus 6-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)-2-naphthoesäure x HCl **45** (5,248 g; 15 mmol), 4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butan-1-amin **51** (3,688 g 14,0 mmol) HOBt (2,027 g; 15,0 mmol) und EDC (2,7 ml; 15,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das Produkt wurde aus Aceton umkristallisiert

Ausbeute: 4,832 g; 8,6 mmol (61,8 %)

APCI-MS (+): m/z: 557,9 [M+H]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 131,7°C-132,2°C

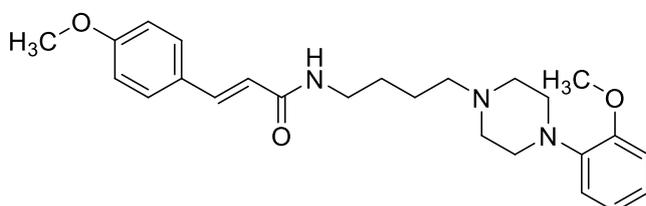
<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.19 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.81 – 7.69 (m, 3H), 7.20 – 7.12 (m, 2H), 6.98 (td, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 6.92 – 6.78 (m, 4H), 4.14 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.54 (q, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.04 (s, 3H), 2.65 (s, 4H), 2.55 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.48 (t, *J* = 7.0 Hz, 5H), 2.07 (p, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.77 – 1.66 (m, 5H), 1.63 (p, *J* = 5.7 Hz, 4H), 1.46 (s, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 168.03, 158.49, 152.36, 141.33, 136.31, 130.44, 130.09, 128.06, 127.24, 127.19, 124.41, 123.04, 121.07, 120.05, 118.30, 111.26, 106.57, 77.58, 77.36, 77.16, 76.74, 66.73, 58.21, 56.12, 55.46, 54.79, 53.60, 50.64, 40.19, 27.63, 26.85, 26.05, 24.67, 24.52.

LC-MS: t<sub>R</sub>: 14,0 min Area Frak.: 100,0% m/z: 280,19 (M+2H)<sup>2+</sup>

(*E*)-3-(4-Methoxyphenyl)-N-(4-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyl)acrylamid (**102**)<sup>206</sup>

MF DH 13 ST-2261



Summenformel: C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 423,56 g/mol

Verbindung **102** wurde gemäß Methode A aus 4-Methoxyzimtsäure (0,5524g; 3,1 mmol), 4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butan-1-amin **51** (0,7920g 3mmol) HOBt (0,4743g; 3,1mmol) und EDC (0,64ml; 3,1 mmol) in DMF synthetisiert. Das Produkt wurde aus Aceton umkristallisiert

Ausbeute: 0,2369g; 0,56 mmol (18,6%)

APCI-MS: (+): m/z: 424,5/425,5 (M+H)<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 138,5-138,9

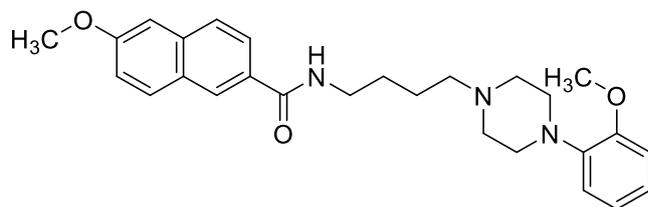
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.57 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.47 – 7.40 (m, 2H), 7.05 – 6.82 (m, 7H), 6.52 (s, 1H), 6.30 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.41 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.16 (s, 4H), 2.72 (s, 4H), 2.57 – 2.43 (m, 2H), 1.77 – 1.58 (m, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.33, 160.87, 152.39, 141.21, 140.34, 129.37, 127.78, 123.17, 121.13, 118.76, 118.34, 114.34, 111.32, 58.20, 55.50, 53.53, 50.62, 39.68, 27.63, 24.49.

LC-MS: t<sub>R</sub>: 14,2 min Area Frak.: 96,15% m/z: 424,21 (M+H)<sup>+</sup>

6-Methoxy-N-(4-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyl)-2-naphthamid (103) MF DH14

**ST-2262**



Summenformel: C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 447,58 g/mol

Verbindung **103** wurde gemäß Methode A aus 4-Methoxynaphtoesäure (0,6269 g; 3,1 mmol), 4-(4-(2-Methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butan-1-amin **51** (0,7920 g 3,0 mmol) HOBt (0,4743 g; 3,1 mmol) und EDC (0,64 ml; 3,1 mmol) in DMF synthetisiert.

Das Produkt wurde aus Aceton umkristallisiert

Ausbeute: 0,3566 g; 0,80 mmol (26,7 %)

APCI-MS (+): m/z: 448,5 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

Schmelzpunkt: 144,1-144,4°C

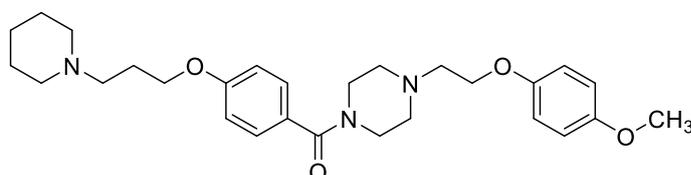
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.24 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.86 – 7.72 (m, 3H), 7.21 – 7.12 (m, 2H), 7.04 – 6.79 (m, 5H), 3.94 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.55 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.09 (s, 4H), 2.72 (s, 4H), 2.57 (s, 2H), 1.74 (t, *J* = 3.6 Hz, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.99, 159.05, 152.34, 141.20, 136.28, 130.53, 130.16, 128.13, 127.21, 124.51, 123.11, 121.07, 119.79, 118.32, 111.25, 105.76, 58.12, 55.49, 53.54, 50.49, 40.09, 27.54, 24.50.

LC-MS: Reinheit: 99,22% m/z: 448,22[M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

(4-(2-(4-Methoxyphenoxy)ethyl)piperazin-1-yl)(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenyl)

methanon x 2HCl (104) MF S194 ST-2462



Summenformel: C<sub>28</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 481,64 g/mol  
378,94 g/mol (2xHCl Salz)

Verbindung **104** wurde gemäß Methode A aus 4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)benzoesäure x HCl **37** (0,5996 g; 2,0 mmol) 1-(2-(4-Methoxyphenoxy)ethyl)piperazin **30** (0,5183 g; 1,9 mmol) HOBt (0,3060 g; 2,0 mmol) und EDC (0,36 ml; 2,0 mmol) in DMF synthetisiert. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt und aus Isopropanol und Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,4594 g; 0,82 mmol (43,2 %)

APCI-MS (+): m/z: 483,0 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

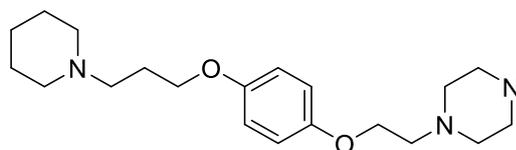
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.48 – 7.40 (m, 2H), 7.06 – 6.98 (m, 2H), 6.97 – 6.92 (m, 2H), 6.90 – 6.84 (m, 2H), 4.31 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 4.09 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.60 –

3.10 (m, 14H), 2.87 (td,  $J = 11.7, 3.7$  Hz, 2H), 2.17 (dq,  $J = 11.6, 6.1$  Hz, 2H), 1.83 – 1.64 (m, 5H), 1.38 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.60, 153.88, 151.33, 129.34, 115.83, 114.61, 114.32, 64.94, 62.33, 55.35, 54.98, 53.36, 52.27, 51.23, 39.60, 39.33, 39.09, 39.02, 38.80, 38.74, 38.53, 38.47, 38.44, 38.21, 37.93, 23.20, 22.45, 21.02.

LC-MS: Reinheit: 97,0%  $m/z$ : 241,52  $[\text{M}+\text{H}]^+$

1-(2-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenoxy)ethyl)piperazin x 3HCl (105) MF S202 ST-2463



Summenformel:  $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_4$   
Molekulargewicht: 347,50 g/mol  
456,88g/mol (3xHCl Salz)

Verbindung **105** wurde gemäß Methode Q aus *tert*-Butyl 4-(2-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenoxy)ethyl)piperazin-1-carboxylat **49** (0,8933g; 2,0mmol) mit HCl in Dioxan synthetisiert. Das Produkt wurde als HCl Salz aus Isopropanol und Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,4777g; 1,04 mmol (52,0%)

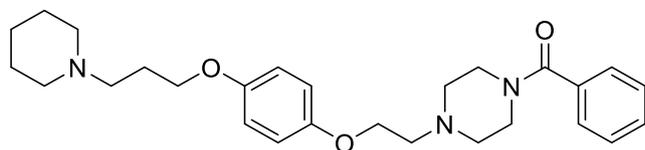
APCI-MS: (+):  $m/z$ : 348,5/349,5  $(\text{M}+\text{H})^+$

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  10.74 (s, 1H), 10.07 (s, 2H), 7.03 – 6.88 (m, 4H), 4.37 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 4.00 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 3.59 – 3.42 (m, 12H), 3.13 (dt,  $J = 8.0, 5.1$  Hz, 2H), 2.95 – 2.78 (m, 2H), 2.30 – 2.12 (m, 2H), 1.97 – 1.66 (m, 5H), 1.39 (tq,  $J = 12.4, 4.2, 3.5$  Hz, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  152.91, 151.63, 115.85, 115.43, 65.53, 62.92, 54.56, 53.35, 51.89, 48.35, 40.32, 40.04, 39.76, 39.64, 39.49, 39.21, 38.93, 38.65, 23.26, 22.25, 21.38.

LC-MS:  $t_R$ : 12,3 min Area Frak.: 97,7%  $m/z$ : 174,48  $(\text{M}+2\text{H})^{2+}$

Phenyl(4-(2-(4-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)phenoxy)ethyl)piperazin-1-yl)methanon x 2HCl (106) MF S204 ST-2464



Summenformel:  $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_3$   
Molekulargewicht: 451,61 g/mol  
524,53g/mol (2xHCl Salz)

Verbindung **106** wurde gemäß Methode B aus 1-(2-(4-(3-(Piperidin-1-yl)propoxy)phenoxy)ethyl)piperazin x 3HCl **105** (0,1513g; 0,44 mmol), Triethylamin (0,5ml; 3,5 mmol) und Benzoylchlorid (0,5ml; 5 mmol) in Dichlormethan synthetisiert. Das Rohprodukt wurde mit Hilfe der Flash-Chromatographie über Kieselgel mit Hexan: (Ethylacetat:Methanol.)1:1 aufgereinigt. Das Produkt wurde als HCl Salz gefällt.

Ausbeute: 0,2015 g; 0,57 mmol (57,0 %)

APCI-MS (+): m/z: 452,7 [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.66 – 7.46 (m, 5H), 7.01 (d, *J* = 1.0 Hz, 4H), 4.39 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 4.13 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.72 – 3.40 (m, 8H), 3.36 – 3.25 (m, 2H), 2.96 (t, *J* = 12.3 Hz, 2H), 2.21 (dq, *J* = 11.8, 5.9 Hz, 2H), 1.97 (d, *J* = 14.7 Hz, 2H), 1.87 – 1.65 (m, 3H), 1.56 – 1.45 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 169.59, 152.83, 151.61, 134.18, 130.26, 128.61, 127.02, 115.83, 115.45, 65.26, 62.41, 54.94, 53.45, 52.20, 51.21, 39.72, 39.44, 39.16, 38.88, 38.60, 38.32, 38.04, 23.35, 22.45, 21.06.

LC-MS: Reinheit: 95,6%     m/z: 226,51 [M+2H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup>

## 7.4 Pharmakologische Testung

### 7.4.1 Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoren

Der humane H<sub>3</sub>Rezeptor wurde als Membranpräparation von H<sub>3</sub>R stabil exprimierenden HEK (Human Embryonic Kidney)-293 Zellen gewonnen. Die Zellen wurden zunächst kultiviert und anschließend mit PBS (Phosphat Buffert Saline)-Puffer gewaschen, abgeschabt und zentrifugiert (1400xg; 4°C, 10 min.). Der Rückstand wurde in Tris-Puffer (75 mM Tris, 100mM NaCl, 10mM MgCl<sub>2</sub>, pH 7,4) suspendiert, die Zellen mit einem Ultra-Turrax T 255 (IKA®-Werke, Staufen, Deutschland) zerstört und wiederholt zentrifugiert und mit PBS Puffer gewaschen. Der Rückstand wurde dann in Tris-Puffer (pH 7,4) aufgenommen und bei -80°C gelagert. Die Bestimmung der Rezeptorkonzentration wurde nach der Methode von Bradford durchgeführt<sup>303</sup>. Die Membranpräparationen wurden vor den Experimenten aufgetaut, in Tris-Puffer (pH 7,4) homogenisiert und im Wasserbad auf 28°C temperiert<sup>105 247</sup>.

Die Bindungsstudien wurden in 96-Well Platten unter folgenden Bedingungen durchgeführt: 20µg Membranpräparation/Well in 200µl Puffer, [<sup>3</sup>H]-N<sub>α</sub>-Methylhistamin 0,2nM, sieben verschiedene Konzentrationen des Testliganden (max. Konzentration 100µM) und Inkubation für 90 Minuten. Die nicht spezifische Bindung wurde mit 10µM Pitolisant ermittelt. Die Inkubation wurde durch schnelle Filtration durch 0,3% Polyethylenamin getränkte GF/B-Glasfaserfilter (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Rodgau, Deutschland) beendet. Hierfür wurde eine Cell-Harvester (Inotech AG, Dottikon, Schweiz verwendet. Die Entfernung des Radioliganden wurde durch dreimaliges Waschen mit vollentsalztem Wasser vorgenommen. Nach der Trocknung wurden die Filter in Szintillatorflüssigkeit eingeweicht und mit einem 1450 MicroBetaTrilus Szintillationsspektrometer (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Rodgau, Deutschland) vermessen. Die Auswertung erfolgte graphisch mit GraphPad Prism<sup>®</sup> 6 und die IC<sub>50</sub> Werte nach Cheng Prusoff<sup>246</sup> in K<sub>i</sub> Werte umgerechnet. ( $K_i = IC_{50} / (1 + c / K_D)$ ). Die Bestimmung der K<sub>i</sub> Werte erfolgten jeweils mindestens als Duplikate und in drei verschiedenen Experimenten<sup>247 304</sup>.

### 7.4.2 Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren

Affinitätsdaten zu humanen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren wurden in Analogie zum oben beschriebenen Protokoll für den H<sub>3</sub>R bestimmt. Abweichend davon wurden die Membranpräparationen von hH<sub>1</sub>R exprimierenden CHO-Zellen gewonnen und 40µg/Well

eingesetzt. Als Radioligand wurde [<sup>3</sup>H]-Pyralmin (1,0nM) bei einer Inkubationszeit von 120 min. verwendet<sup>255</sup>.

### 7.4.3 Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Dopamin-D<sub>2</sub>- und D<sub>3</sub>-Rezeptoren

Der humane D<sub>2</sub>-und D<sub>3</sub>-Rezeptor wurde als Membranpräparation von D<sub>2</sub>R/D<sub>3</sub>R stabil exprimierenden CHO (Chinese Hamster Ovary)-K1 Zellen gewonnen. Die Gewinnung der Membranpräparationen erfolgte analog zu den H<sub>3</sub>R Präparationen (vergl.:7.4.1)

Die Bindungsstudien wurden ebenfalls in 96 Well Platten unter folgenden Bedingungen durchgeführt: 25 µg hD<sub>2</sub>R bzw. 20µg hD<sub>3</sub>R Membranpräparation /Well in 200µl Puffer, [<sup>3</sup>H]-Spiperon 0,2nM, sieben verschiedene Konzentrationen des Testliganden ( max. Konzentration 100µM) und Inkubation für 120 Minuten. Die nicht spezifische Bindung wurde mit 10µM Haloperidol ermittelt Die Aufarbeitung und Auswertung erfolgte wie oben beschrieben, analog zum H<sub>3</sub>R (vergl. 7.4.1 ). Die Bestimmung der K<sub>i</sub> Werte erfolgten jeweils mindestens als Duplikate und in drei verschiedenen Experimenten<sup>105 253</sup>.

### 7.4.4 Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Dopamin-D<sub>1</sub>-Rezeptoren

Der humane D<sub>1</sub>-Rezeptor wurde als Membranpräparation von D<sub>1</sub>R stabil exprimierenden HEK-Zellen gewonnen. Die Gewinnung der Membranpräparationen erfolgte analog zu der H<sub>3</sub>R-Präparationen (vergl.:7.4.1). Die Bindungsstudien erfolgten analog zu dem oben beschrieben Protokoll mit [<sup>3</sup>H]-SCH23390 (0,3 nM), 10µg Protein/Well und 120 min Inkubationszeit<sup>305</sup>.

### 7.4.5 Radioligand-Verdrängungsstudien an humanen Dopamin-D<sub>5</sub>-Rezeptoren

Der humane D<sub>5</sub>-Rezeptor wurde als Membranpräparation von D<sub>5</sub>R stabil exprimierenden HEK-Zellen gewonnen. Die Gewinnung der Membranpräparationen erfolgte analog zu der H<sub>3</sub>R-Präparationen (vergl.:7.4.1). Die Bindungsstudien erfolgten analog zu dem oben beschrieben Protokoll mit [<sup>3</sup>H]-SCH23390 (0,3 nM), 10µg Protein/Well und 120 min Inkubationszeit<sup>305</sup>.

### 7.4.6 Bestimmung der Cholin-Esterase-Inhibition

Die Verbindungen wurden auf ihre inhibitorischen Effekte auf Acetylcholinesterase (AChE) und Butyrylcholinesterase (BuChE) getestet. Hierfür wurde eine modifizierte Ellman-Methode genutzt<sup>306</sup>. Als Enzyme wurden AChE aus *Elektrophorus electricus* (eeAChE, 10 U/ml) und BuChE aus Pferdeserum (eqBuChE, 1 U/ml) verwendet und mit Acetylthiocholinjodid (ACTI) als Substrat und 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoesäure (DTNB) als Ellman's Reagenz versetzt.

DTNB wurde in 96%igem Ethanol gelöst und ATCI unter Lichtausschluss mit deionisiertem Wasser verdünnt. Die Verbindungen wurden in DMSO zu 1 mM und 0,1 mM gelöst. Ein  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Puffer (100 mM, pH 8) diente mit Zusatz von 0,1% BSA zur weiteren Verdünnung der Enzymlösungen und mit Zusatz von 0,1M NaCl-Lösung zur Verdünnung der Inhibitor-Stammlösungen. Im Rahmen des Assays wurden die Verbindungen bei 10  $\mu\text{M}$  und 1  $\mu\text{M}$  als Duplikat getestet (Endkonzentration: 1%). Physostigmin wurde als Positivkontrolle verwendet. Die der Enzym-Endkonzentration wurde auf 2,5 mU/ml eelAChE bzw. 0,2 mU/mL eqBuChE eingestellt.

Die Messung wurde in TPP® 96-Well-Platten (Flachboden) mit einem Endvolumen von 200  $\mu\text{L}$ /Well durchgeführt. 50  $\mu\text{l}$  der jeweiligen Inhibitorverdünnung wurden mit 50  $\mu\text{l}$  der Enzymverdünnung für 30 Minuten bei 36 °C inkubiert. Inhibitor-Blindwerte (ohne Enzym) und Negativkontrollen (ohne Substanz) wurden auf die gleiche Weise behandelt. 100  $\mu\text{L}$  einer DTNB/ATCI-Mischung (Endkonzentration 1000  $\mu\text{M}$  DTNB und 500  $\mu\text{M}$  ATCI) wurden zugegeben. Die Absorptionsmessung bei 412 nm wurde sofort gestartet und über 30 Minuten bei 36 °C mit einem Tecan Infinite M1000Pro Mikroplatten-Reader (Tecan Trading AG, Schweiz) durchgeführt. Die Absorption pro Minute (Abs/min) wurde berechnet und nach Abzug der Inhibitor-Blindwerte auf die Abs/min der Negativkontrolle bezogen. Die statistischen Auswertung der Daten wurden mit GraphPad Prism™ 7 (San Diego, USA) durchgeführt. Die Hemmungswerte in % bezogen auf die Kontrolle sind als Mittelwert  $\pm$  SD dargestellt und wurden in zwei unabhängigen Experimenten erzeugt<sup>255</sup>.

#### **7.4.7 $\text{A}\beta_{1-42}$ -Affinitäts-Messung mit SPR Analyse**

Die Messungen wurden im Arbeitskreis von Prof. Dr. Dieter Willbold (HHU Düsseldorf) durchgeführt

##### **7.4.7.1 Probenvorbereitung**

1 mg jeder Probe wurde eingewogen und in DMSO (Roth, Karlsruhe, Deutschland) bis zu einer Konzentration von 2 mM gelöst. Falls sich die Probe bei Raumtemperatur nicht löst, wurde diese unter leichtem Schütteln auf 50 °C erwärmt bis alles aufgelöst war.

##### **7.4.7.2 Surface Plasmon Resonance (SPR) Spektroskopie**

Die Dissoziationskonstante ( $K_D$ ) der Verbindungen zu  $\text{A}\beta_{1-42}$  (Bachem, Bubendorf, Schweiz) wurde mittels SPR- Spektroskopie auf einem Biacore T200 Spektrometer (GE Healthcare, Uppsala, Schweden) bestimmt.  $\text{A}\beta_{1-42}$  wurde als immobilisierter Ligand verwendet, während die Verbindungen als Analyten eingesetzt wurden.

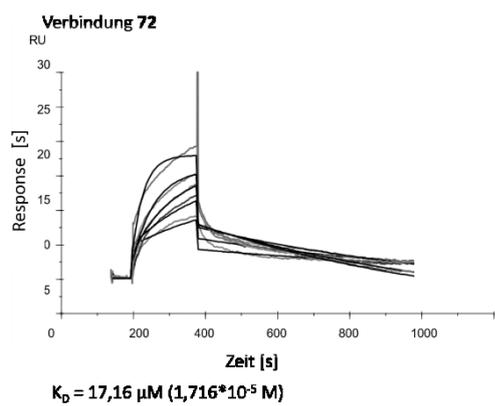
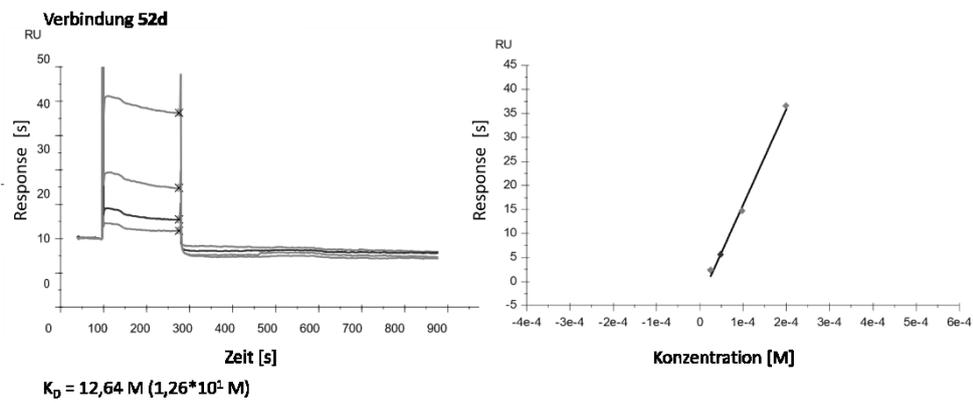
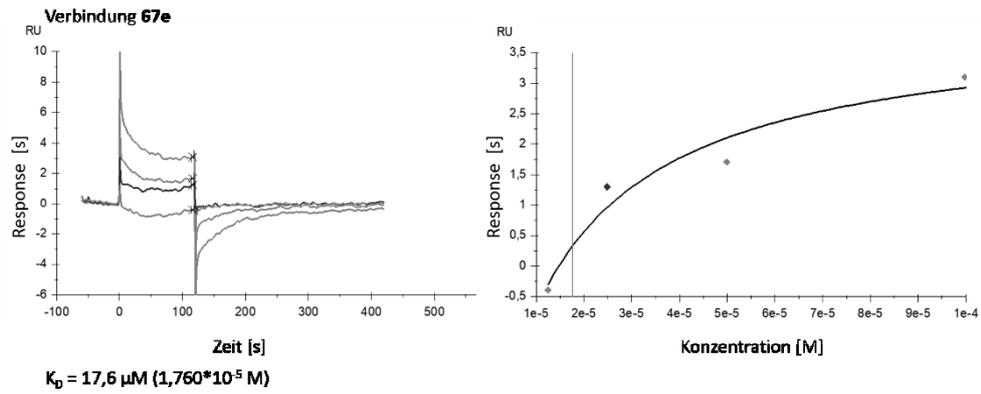
A $\beta_{1-42}$  wurde auf einem Sensorchip der Serie S CM-5 (GE Healthcare, Uppsala, Schweden) durch Aminkopplung immobilisiert. Die Durchflusszellen wurden mit einer Mischung aus 50 mM N-Hydroxysuccinimid (NHS) und 16,1 mM N-Ethyl-N'-(dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) (XanTec, Düsseldorf, Deutschland) für 14 min aktiviert. A $\beta_{1-42}$  wurde bis zu einer Endkonzentration von 50  $\mu\text{g/mL}$  in 10 mM Natriumacetat pH 4,5 gelöst und über eine Durchflusszellen injiziert, bis ein Signal von 5640 RU erreicht war. Nach der Immobilisierung wurden der Ligand und die Referenzfließzellen durch Injektion von 1 M Ethanolamin pH 8,5 (XanTec, Düsseldorf, Deutschland) für 7 min gequenchet.

Für das Screening der Verbindungen wurde jede Verbindung zunächst 1:10 in Laufpuffer ohne DMSO verdünnt, um eine Endkonzentration von 200  $\mu\text{M}$  Verbindung und 10 % DMSO zu erhalten. Für die SPR-Experimente wurden 10 mM HEPES + 150 mM NaCl + 0,005 % Tween 20 + 10 % DMSO pH 7,4 als Laufpuffer bei 25 °C und einer Flussrate von 20  $\mu\text{L/min}$  verwendet. Alle Proben wurden für 120 s über die Durchflusszellen injiziert, gefolgt von einem Dissoziationsschritt von 300. Zu Beginn des Experiments, sowie am Ende und nach jeweils 10 Zyklen wurde vom Gerät eine Lösungsmittelkorrektur mit DMSO-Konzentrationen im Bereich von 9,6 % bis 10,4 % durchgeführt.

Die Referenzdurchflusszelle und die Pufferinjektion ( $c = 0 \mu\text{M}$ ) wurden zur doppelten Referenzierung der Sensorgramme verwendet. Lösungsmittelkorrekturzyklen wurden verwendet, um Bulk-Effekte zu korrigieren, die durch leichte Schwankungen der DMSO-Konzentration verursacht werden. Für die Datenauswertung wurde die Biacore T200 Evaluation Software 3.2 verwendet.

Verbindungen, die eine Bindung an A $\beta_{1-42}$  zeigten, wurden durch Multizyklus-Experimente weiter analysiert. Dabei wurden die Verbindungen mit Laufpuffer ohne DMSO auf 200  $\mu\text{M}$  verdünnt und dann weiter mit Laufpuffer auf 100  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$  und 12,5  $\mu\text{M}$  verdünnt. Die Proben wurden mit dem gleichen Versuchsaufbau wie oben beschrieben injiziert.

Die Auswertung erfolgte mit dem Steady-State-Affinitätsmodell, das in der Biacore T200 Evaluations Software 3.2 implementiert ist



#### **7.4.8 In-vivo-Testsysteme von Verbindung 101**

Die In-vivo-Tests und Auswertungen erfolgten in der Arbeitsgruppe von Dr. Bassam Sadek (Department of Pharmacology & Therapeutics, College of Medicine and Health Sciences, United Arab Emirates University, P.O. Box 17666, Al Ain, UAE.

Bzw. Zayed Center for Health Sciences, United Arab Emirates University, P.O. Box 17666, Al Ain, UAE.)

##### **7.4.8.1 Mäuse**

Männliche C57BL/6J (B6) und BTBR *T<sub>u</sub> Itpr3<sup>tf</sup>/J* (BTBR) Mäuse (8-10 Wochen alt, 25-35g schwer) (Jackson Laboratory, Bar Harbor, USA) wurden im „College of Medicine and Health Sciences, United Arab Emirates University“ aufgezogen.

Die Tiere wurden in einem Käfig bei 22-25 °C und einem normalen Tages- Nacht-Rhythmus von 12h Licht/ 12h Dunkelheit gehalten. Die Tagesphase begann um 6 Uhr morgens. Den Tieren war der Zugang zu Nahrung und Trinken in ihren Käfigen frei gewährt. Die Experimente wurden ausschließlich in der Tagesphase durchgeführt. Die Experimente wurden in Übereinstimmung der EU-Empfehlung (European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC)) durchgeführt. Die Experimente hat das „Institutional Animal Ethics Committee in the College of Medicine and Health Sciences/United Arab Emirates“ (Approval No. ERA-2017-5603) überprüft und genehmigt<sup>255</sup>.

##### **7.4.8.2 Y-Maze Test**

Der Test wurde in einem dreiarmligen Y-Labyrinth mit den Maßen 30 cm x 6 cm x 15 cm durchgeführt. Die Arme wurden als A, B und C markiert. Die Mäuse wurden einzeln in der Mitte des Labyrinths gesetzt und durften den Raum für acht Minuten frei entdecken. Die Anzahl und Reihenfolge der Eintritte in die jeweiligen Arme des Labyrinths wurden beobachtet. Als eine spontane Abwechslung der Arme wurde gewertet, dass die Maus in drei hintereinander folgenden Eintritten verschiedene Arme benutzt. Dabei wurden jeweils drei Eintritte überlappend untersucht.

Der Variationsindex in % wurde errechnet aus der Summe der Abwechslungen geteilt durch die gesamte Anzahl an Eintritten. Da Eine Abwechslung nur nach drei Eintritten festgestellt werden kann, wird die Zahl der Eintritte um 2 verringert.

$\% \text{ Variationsindex} = \frac{\text{Summe der Abwechslungen}}{(\text{Summe der Eintritte} - 2)} \times 100$  . Nach jedem Test wurde das Labyrinth mit 70% Alkohol gereinigt<sup>255</sup>.

#### **7.4.8.3 Openfield Test**

Die Mäuse wurden einzeln in eine Box mit den Maßen 45 × 45 × 30 cm gesetzt und durften diese frei Erkunden. Die Mäuse wurden in der Mitte der Kiste platziert und durften hier fünf Minuten verbleiben. In den nächsten zehn Minuten wurde die Zeit gemessen, die die Mäuse im Zentrum oder am Rand der Kiste verbracht haben. Das Zentrum wurde als 23x23 cm Bereich in der Mitte der Kiste definiert. Zur Beobachtung wurde eine CCD camera-assisted motion tracking (EthoVision 3.1, Noldus Information Technology, Niederlande) Apparatur verwendet. Nach jedem Test wurde das Labyrinth mit 70% Alkohol gereinigt<sup>255</sup>.

#### **7.4.8.4 Bestimmung von Malondialdehyd (MDA)**

Mit Hilfe eines Malondialdehyd-Fertigttestsystems (Testkit) wurde die Lipidperoxidation in den Versuchstieren gemessen. Die Durchführung der Messung geschah nach den Vorgaben des Herstellers und wie in der Literatur beschrieben<sup>307</sup>.

Kurzfassung: 250 µL der Probe oder der Kalibriersubstanz wurden mit Thiobarbitursäure inkubiert. Nach 1 h Inkubation bei 60 °C wurde die Mischung bei 10.000× g für 2-3 min zentrifugiert und die Reaktionsmischung in einer Küvette bei 532 nm vermessen. Die Ergebnisse werden als µMMDA/mg Protein angegeben.

#### **7.4.8.5 Quantifizierung von Glutathion (GSH)**

Der Gehalt ans Glutathion (GSH) wurde mit Hilfe eines GSH-Fertigtestsystems (Glutathion-Assay-Kits von Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) gemäß den Angaben des Herstellers und wie in der Literatur beschrieben gemessen<sup>308</sup>.

Kurzfassung: Die Proben wurden zunächst mit 5%iger 5-Sulfosalicylsäure-Lösung versetzt, zentrifugiert und die ausgefallenen Proteine entfernt. Der Überstand wurde zur Bestimmung von GSH verwendet. 10 µl Probe oder Standard wurden mit 150 µl von einem Gemisch aus Testpuffer, 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoesäure (DTNB) und GSH-Reduktase, in 96-Well-Platten, für 5 min inkubiert. Eine verdünnte NADPH-Lösung (50 µl/Well) wurde zugegeben und die Absorption bei 412 nm für 5 min mit dem Mikroplatten-Reader gemessen. Die Ergebnisse werden als µM GSH/mg Protein angegeben<sup>255</sup>.

#### **7.4.8.6 Bestimmung der Enzymaktivität von antioxidativen Enzymen**

Zur Bestimmung der Aktivität der antioxidativen Enzyme Superoxid-Dismutase (SOD) und Katalase (CAT), wurden kommerziell erhältliche Fertigtestsysteme (Cayman Chemicals Company, Ann Arbor, MI, USA), gemäß den Angaben des Herstellers und wie in der Literatur beschrieben, verwendet<sup>308</sup>.

Katalase-Bestimmung: 20µl Probe oder Standard und 30 µL Methanol wurden mit Test-Puffer (100 µL), 20µl Wasserstoffperoxid in 96-Well-Platten für 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Zugaben von 30 µL Kaliumhydroxid beendet die Reaktion. Zugabe von Katalase Purpald (30 µl) und Katalase-Kaliumperiodat (10 µl) und 5 min. Inkubation auf einem Schüttler, wurde gefolgt von der Messung bei 540 nm mit einem Mikroplatten-Reader. Die Katalase-Aktivität wird als nmol/min/mg Protein angegeben.

Superoxid-Dismutase-Bestimmung: 10 µl Probe oder Standard wurden in 96-Well-Platten mit 20µl Xanthinoxidase gemischt. Die Reaktionsmischung wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss inkubiert. Die Absorption wurde bei 450 nm mit einem Mikroplatten-Reader gemessen. Die Aktivität von SOD wurde als U/mg Protein ausgedrückt<sup>255</sup>.

#### **7.4.8.7 Statistik**

Um Signifikante Unterschiede feststellen zu können wurden Tukey post-hoc Test durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit Software SPSS 25.0 (IBM Middle East, Dubai,UAE). Fehlerwerte von  $p < 0,05$  wurden als statistisch signifikant bewertet<sup>255</sup>.

#### **7.4.9 In-vivo-Testsysteme von Verbindung 52e**

Die In-vivo-Tests wurden im Arbeitskreis von Prof. W. Agnieszka Fogel (Dept of Hormone Biochemistry, Medical University of Lodz, Zeligowskiego 7/9,90-752 Lodz, Poland) durchgeführt<sup>248</sup>.

Verbindung **52e** wurde subchronisch an männliche Wistar-Ratten (180-250 g) verabreicht, um seine Eigenschaften beim Überschreiten der Blut-Hirn-Schranke zu untersuchen. Es wurde angenommen, dass wenn die Verbindung die Blut-Hirn-Schranke überwindet und die zerebralen H<sub>3</sub>-Rezeptoren blockiert, Histamin freigesetzt wird und durch die Aktivierung von H<sub>1</sub>-Rezeptoren die Nahrungsaufnahme bei Ratten unterdrückt. Die Ratten wurden einzeln in Stoffwechsellkäfigen (Tecniplast Gazzada, Italien) mit freiem Zugang zu Futter und Wasser untergebracht. Nach einer eintägigen Eingewöhnungsphase wurde die Nahrungsaufnahme in den nächsten drei Tagen täglich überwacht. Anschließend wurde an vier aufeinanderfolgenden Tagen Verbindung **52e** subkutan mit 3mg/kg Körpergewicht verabreicht. Als Referenzsubstanz wurde Ciproxifan 3 mg/kg Körpergewicht verwendet. Der Futter-Verbraucht wurde täglich überwacht. Am fünften Tag erhielten die Ratten eine letzte Injektion und wurden 1 h danach getötet und die Gehirne zur Bestimmung der Histamin-N-Methyltransferase-Aktivitäten durch Radioisotopen-Assays entnommen<sup>309,310</sup>.

#### 7.4.10 In-silico-Bestimmung der Drug-Likeness

Die Berechnung der Drug-Likeness Parameter wie „Lipinskis-Rule of 5“ (Lipinski-Regel), Ghose-Filter und wQED (weighted Quantitative Estimate of Drug-likeness engl.: gewichtete quantitative Abschätzung der Arzneistofftauglichkeit) erfolge mit dem Programm DruLiTo<sup>269</sup>

##### *Lipinski-Regel*<sup>311</sup>

Anforderungen der Regel: Molekulargewicht  $\leq 500$ g/mol, LogP-Wert  $\leq 5$ ,

H-Brücken-Donor  $\leq 5$ , H-Brücken-Akzeptor  $\leq 10$

Aussage: erfüllt = Substanz erfüllt die Regel

Nicht erfüllt = Substanz erfüllt die Regel nicht

##### *Ghose-Filter*<sup>312</sup>

Anforderungen der Regel: Molekulargewicht zwischen 160 g/mol und 480 g/mol

LogP-Wert: -0,4 bis 5,6; Anzahl an Atomen : 20-70, Polarisierbarkeit: 40-130 m<sup>3</sup>/mol

Aussage: erfüllt = Substanz erfüllt die Regel

Nicht erfüllt = Substanz erfüllt die Regel nicht

##### *BBB-Likeness*

Anforderungen: Molekulargewicht  $< 400$ , H-Brücken total  $\leq 8$ , Nummer von Säuregruppen :0

Aussage: erfüllt = Substanz erfüllt die Regel

Nicht erfüllt = Substanz erfüllt die Regel nicht

##### *wQED*<sup>313</sup>

Mit dem QED-Wert, soll die Eignung als Arzneistoffkandidat messbar bewertet werden. Hierzu werden geforderte Parameter als eine Messbare Funktion definiert und ihre Ergebnisse nach folgender Formel zusammengefasst.

$QED = \exp\left(\frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n \ln(di)\right)$  mit  $d_i$ : Ergebnis der geforderten Funktion

Durch eine Gewichtung der Parameter, wird der wQED nachfolgender Formel berechnet

$wQED = \exp\left(\frac{\frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n w_i * \ln(di)}{\sum_{i=1}^n w_i}\right)$  mit  $w_i$ : Gewichtungparameter der Funktion und  $d_i$ : s.o.

Geforderte Funktionen von DruLiTo: Molekulargewicht, LogP, H-Brücken-Akzeptoren, H-Brücken-Donatoren, rotierbare Bindungen, Nummer aromatischer Bindungen, polares Oberflächengebiet (polar surface Area).

Aussage: Werte von 0-1 mit 0= alle Parameter sind unvorteilhaft und 1= alle Parameter sind vorteilhaft.

Zugelassene Arzneistoffe zeigen im Schnitt ein wQED von 0,492 und per oral verfügbare Arzneistoffe ein wQED von 0,539.

*Kalkulationsdaten*

Verbindung	<b>52e</b>	<b>58</b>	<b>66</b>	<b>101</b>
Molekulargewicht [g/mol]	574,35	371,26	427,21	548,28
LogP	3,272	1,603	2,033	4,033
H-Brücken Akzeptoren	8	5	5	7
H-Brücken Donoren	0	1	0	1
Rotierbare Bindungen	14	7	9	14
Anzahl an Atomen	88	60	66	77
Anzahl aromatischer Ringe	2	1	2	3
Polare Oberfläche	59,08	44,81	36,02	57,28
Polarisierbarkeit [m <sup>3</sup> /mol]	159,41	101,25	127,56	166,53
Nummer von Säuregruppen	0	0	0	0

## Literaturverzeichnis

1. Elek, M. *et al.* Synthesis , in silico , and in vitro studies of novel dopamine D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptor ligands. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. (2021).
2. Si, Z., Sun, L. & Wang, X. Evidence and perspectives of cell senescence in neurodegenerative diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **137**, 111327 (2021).
3. Cummings, J. Disease modification and Neuroprotection in neurodegenerative disorders. *Transl. Neurodegener.* **6**, 1–7 (2017).
4. Proschak, E., Stark, H. & Merk, D. Polypharmacology by Design: A Medicinal Chemist's Perspective on Multitargeting Compounds. *J. Med. Chem.* **62**, 420–444 (2019).
5. Bajda, M. *et al.* Search for new multi-target compounds against Alzheimer's disease among histamine H<sub>3</sub> receptor ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **185**, 1–13 (2020).
6. Lu, J. *et al.* Structure-Based Peptide Inhibitor Design of Amyloid- $\beta$  Aggregation. *Front. Mol. Neurosci.* **12**, 54 (2019).
7. Jokar, S. *et al.* Design of peptide-based inhibitor agent against amyloid- $\beta$  aggregation : Molecular docking , synthesis and in vitro evaluation. *Bioorg. Chem.* **102**, 104050 (2020).
8. Savelieff, M. G., Lee, S., Liu, Y. & Lim, M. H. Untangling amyloid-beta, tau, and metals in Alzheimer's disease. *ACS Chem. Biol.* **8**, 856–865 (2013).
9. Sadek, B. *et al.* Histamine H<sub>3</sub> receptor as a potential target for cognitive symptoms in neuropsychiatric diseases. *Behav. Brain Res.* **312**, 415–430 (2016).
10. Ma, H., Huang, B. & Zhang, Y. Recent advances in multitarget-directed ligands targeting G-protein-coupled receptors. *Drug Discovery Today* **25**, 1682–1692 (2020).
11. Dunkel, P. *et al.* Expert Opinion on Investigational Drugs Clinical utility of neuroprotective agents in neurodegenerative diseases: current status of drug development for Alzheimer's, Parkinson's and Huntington's diseases, and amyotrophic lateral sclerosis. *Expert Opin. Investig. Drugs* **21**, 1267–1308 (2012).
12. Kochunov, P. & Hong, L. E. Neurodevelopmental and Neurodegenerative Models of Schizophrenia: White Matter at the Center Stage. *Schizophr. Bull.* **40**, 721–728 (2014).
13. Dorst, J., Ludolph, A. C. & Huebers, A. Disease-modifying and symptomatic treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* **11**, 175628561773473 (2018).
14. Zhang, L. *et al.* Mitochondrial localization of the Parkinson's disease related protein DJ-

- 1: Implications for pathogenesis. *Hum. Mol. Genet.* **14**, 2063–2073 (2005).
15. West, M. J. et al. Differences in the pattern of hippocampal neuronal loss in normal ageing and Alzheimer's disease. *Lancet* **344**, 769–772 (1994).
16. Singh, E. & Devasahayam, G. Neurodegeneration by oxidative stress : a review on prospective use of small molecules for neuroprotection. *Mol. Biol. Rep.* **47**, 3133–3140 (2020).
17. García-Revilla *et al.* Reformulating Pro-Oxidant Microglia in Neurodegeneration. *J. Clin. Med.* **8**, 1719 (2019).
18. Rehman, K. & Akash, M. S. H. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked? *J. Cell. Biochem.* **118**, 3577–3585 (2017).
19. Dinkova-Kostova, A. T. & Talalay, P. Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. *Molec. Nutri. and Food Research* **52**, S128–S138 (2008).
20. Kuksal, N., Chalker, J. & Mailloux, R. J. Progress in understanding the molecular oxygen paradox - function of mitochondrial reactive oxygen species in cell signaling. *Biol. Chem.* **398**, 1209–1227 (2017).
21. Itoh, K. et al. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev.* **13**, 76–86 (1999).
22. Elfawy, H. A. & Das, B. Crosstalk between mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and age related neurodegenerative disease: Etiologies and therapeutic strategies. *Life Sci.* **218**, 165–184 (2019).
23. Poprac, P. *et al.* Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases. *Trends Pharmacol. Sci.* **38**, 592–607 (2017).
24. Moro, L. Mitochondria at the Crossroads of Physiology and Pathology. *J. Clin. Med.* **9**, 1971 (2020).
25. Wang, Y. et al. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases and the potential countermeasure. *CNS Neurosci. Ther.* **25**, 816–824 (2019).
26. Jucker, M. & Walker, L. C. Propagation and spread of pathogenic protein assemblies in neurodegenerative diseases. *Nat. Neurosci.* **21**, 1341–1349 (2018).
27. Jaunmuktane, Z. & Brandner, S. Invited Review: The role of prion-like mechanisms in neurodegenerative diseases. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **46**, 522–545 (2020).
28. Zhang, Z., Nie, S. & Chen, L. Targeting prion-like protein spreading in neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research* **13**, 1875–1878 (2018).

29. Ma, J., Gao, J., Wang, J. & Xie, A. Prion-like mechanisms in Parkinson's disease. *Front. Neurosci.* **13**, 552 (2019).
30. Tan, S. H. *et al.* Emerging pathways to neurodegeneration: Dissecting the critical molecular mechanisms in Alzheimer's disease, Parkinson's disease. *Biomed. Pharmacother.* **111**, 765–777 (2019).
31. Meisl, G., Knowles, T. P. & Klenerman, D. The molecular processes underpinning prion-like spreading and seed amplification in protein aggregation. *Cur. Opi. in Neurobiol.* **61**, 58–64 (2020).
32. Prusiner, S. B. Biology and Genetics of Prions Causing Neurodegeneration. *Annu. Rev. Genet.* **47**, 601–623 (2013).
33. Anand, A., Patience, A. A. & Khurana, N. The present and future of pharmacotherapy of Alzheimer's disease: A comprehensive review. *Eur. J. Pharmacol.* **815**, 364–375 (2017).
34. Lanoiselée, H.-M. *et al.* APP, PSEN1, and PSEN2 mutations in early-onset Alzheimer disease: A genetic screening study of familial and sporadic cases. *PLOS Med.* **14**, (2017).
35. FINDER, V. H. Alzheimer's disease: A general introduction and pathomechanism. *J. Alzheimer's Dis.* **22**, (2010).
36. Abeysinghe, A., Deshapriya, R. & Udawatte, C. Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions. *Life Sci.* **256**, (2020).
37. Chauhan, V. & Chauhan, A. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Pathophysiology* **13**, 195–208 (2006).
38. Cicero, C. E. *et al.* Metals and neurodegenerative diseases. A systematic review. *Environ. Res.* **159**, 82–94 (2017).
39. Kolarova, M., García-Sierra, F., Bartos, A., Rícný, J. & Ripova, D. Structure and pathology of tau protein in Alzheimer disease. *Int. J. Alzheimers. Dis.* **2012**, (2012).
40. Buée, L. *et al.* Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res. Rev.* **33**, 95–130 (2000).
41. Mietelska-Porowska, A. *et al.* Tau Protein Modifications and Interactions: Their Role in Function and Dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* **15**, 4671–4713 (2014).
42. Fitzpatrick, A. W. P. *et al.* Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer's disease. *Nature* **547**, 185–190 (2017).
43. Falcon, B. *et al.* Structures of filaments from Pick's disease reveal a novel tau protein fold. *Nature* **561**, 137–140 (2018).
44. Muralidar, S., Ambi, S. V., Sekaran, S., Thirumalai, D. & Palaniappan, B. Role of tau

- protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player. *Int. J. Biol. Macromol.* **163**, 1599–1617 (2020).
45. Jouanne, M., Rault, S. & Voisin-Chiret, A. S. Tau protein aggregation in Alzheimer's disease: An attractive target for the development of novel therapeutic agents. *Eur. J. Med. Chem.* **139**, 153–167 (2017).
  46. Gulisano, W. *et al.* Role of Amyloid- $\beta$  and Tau Proteins in Alzheimer's Disease: Confuting the Amyloid Cascade. *J. Alzheimer's Dis.* **64**, S611–S631 (2018).
  47. Roland, J. R. & Jacobsen, H. Alzheimer's disease: From pathology to therapeutic approaches. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **48**, 3030–3059 (2009).
  48. Durell, S. R., Kaye, R. & Guy, H. R. Theory of concentric  $\beta$ -barrel structures: models of amyloid beta 42 oligomers, annular protofibrils, and transmembrane channels. *bioRxiv* 499061 (2018).
  49. Leong, Y. Q., Ng, K. Y. & Koh, R. Y. Mechanisms of action of amyloid-beta and its precursor protein in neuronal cell death. *Metabolic Brain Disease* **35**, 11–30 (2020).
  50. Quinn, D. M. Acetylcholinesterase: Enzyme Structure, Reaction Dynamics, and Virtual Transition States. *Chem. Rev.* **87**, (1987).
  51. Zhang, M. *et al.* Identification of N-phenyl-3-methoxy-4-pyridinones as orally bioavailable H3 receptor antagonists and  $\beta$ -amyloid aggregation inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* **212**, 113096 (2021).
  52. Manzoor, S. & Hoda, N. A comprehensive review of monoamine oxidase inhibitors as Anti-Alzheimer's disease agents: A review. *Eur. J. Med. Chem.* **206**, 112787 (2020).
  53. Marucci, G. *et al.* Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *J. Neuropharm.* 108352 (2020).
  54. Hansen, K. B. *et al.* Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *J. Gen. Physiol.* **150**, 1081–1105 (2018).
  55. Liu, J., Chang, L. & Wu, Y. The role of NMDA receptors in Alzheimer's disease. *Front. Neurosci.* **13**, 43 (2019).
  56. Iacobucci, G. J. & Popescu, G. K. NMDA receptors: Linking physiological output to biophysical operation. *Nat. Rev. Neurosci.* **18**, 236–249 (2017).
  57. Wang, R. & Reddy, P. H. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* **57**, 1041–1048 (2017).
  58. Hawkes, N. Merck ends trial of potential Alzheimer's drug verubecestat. *BMJ* **356**, (2017).
  59. Kelleher, R. J. & Shen, J.  $\gamma$ -Secretase and human disease. *Science* **330**, 1055–1056

- (2010).
60. Sharma, P. *et al.* Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies. *Prog. Neurobiol.* **174**, 53–89 (2018).
  61. Lasser, R. *et al.* Efficacy, Safety and Biomarker Data from SCarlet RoAD—a Global Phase 3 Study of Gantenerumab in Patients with Prodromal AD. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **24**, S161–S162 (2016).
  62. Doody, R. S. *et al.* Phase 3 Trials of Solanezumab for Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **370**, 311–321 (2014).
  63. Pedersen, J. T. & Sigurdsson, E. M. Tau immunotherapy for Alzheimer's disease. *Trends Mol. Med.* **21**, 394–402 (2015).
  64. Khoury, R., Patel, K. & Grossberg, G. T. Recent Progress in the Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease. *Curr. Opin. Drugs Aging* **34**, 811–820 (2017).
  65. Elmaleh, D. R. *et al.* Developing Effective Alzheimer's Disease Therapies: Clinical Experience and Future Directions. *J. Alzheimer's Dis.* **71**, 715–732 (2019).
  66. Cummings, J. L., Tong, G. & Ballard, C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. *J. Alzheimer's Dis.* **67**, 779–794 (2019).
  67. Evaluation of the Efficacy and Safety of Azeliragon (TTP488) in Patients With Mild Alzheimer's Disease. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02080364?term=NCT02080364&rank=1>. (Accessed: 7th January 2021)
  68. To Evaluate the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of Oral NNZ-2591 in Healthy Volunteers. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04379869?term=NNZ-2591.&draw=2&rank=1>. (Accessed: 8th January 2021)
  69. Howard, R. & Liu, K. Y. Questions EMERGE as Biogen claims aducanumab turnaround. *Nat. Rev. Neurol.* **16**, 63–64 (2020).
  70. Schneider, L. A resurrection of aducanumab for Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* **19**, 111–112 (2020).
  71. Guan, J. *et al.* The role for IGF-1-derived small neuropeptides as a therapeutic target for neurological disorders. *Expert Opin. Ther. Targets* **19**, 785–793 (2015).
  72. Guan, J. *et al.* Cyclic glycine-proline regulates IGF-1 homeostasis by altering the binding of IGFBP-3 to IGF-1. *Sci. Rep.* **4**, 1–9 (2014).
  73. Silva-Reis, S. C., V. D. dos Santos, A. C. & Sampaio-Dias, I. E. Bioinspired design for

- the assembly of Glypromate® neuropeptide conjugates with active pharmaceutical ingredients. *New J. Chem.* **44**, 21049 (2020).
74. Bautista-Aguilera, Ó. M. *et al.* Multitarget-Directed Ligands Combining Cholinesterase and Monoamine Oxidase Inhibition with Histamine H3R Antagonism for Neurodegenerative Diseases. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **56**, 12765–12769 (2017).
75. Zhang, M. *et al.* Identification of N-phenyl-3-methoxy-4-pyridinones as orally bioavailable H3 receptor antagonists and  $\beta$ -amyloid aggregation inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* **212**, 113096 (2021).
76. Kaar, S. J., Natesan, S. & Howes, O. D. Antipsychotics : Mechanisms underlying clinical response and side-effects and novel treatment approaches based on pathophysiology. *Neuropharmacology* 107704 (2019).
77. Harrison, P. J. Recent genetic findings in schizophrenia and their therapeutic relevance. *J. Psychopharmacol.* **29**, 85–96 (2015).
78. Lieberman, J. A. *et al.* The early stages of schizophrenia: Speculations on pathogenesis, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Biol. Psychiatry* **50**, 884–897 (2001).
79. Siever, L. J. & Davis, K. L. The Pathophysiology of Schizophrenia Disorders: Perspectives From the Spectrum. *Am. J. Psychiatry* **161**, (2004).
80. Björklund, A. & Dunnett, S. B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* **30**, 194–202 (2007).
81. Schmitt, A., Falkai, P. & Hasan, A. Neurobiologie der Schizophrenie: Aktuelle Befunde von der Struktur zu den Molekülen. *Nervenarzt* **86**, 324–331 (2015).
82. Andreasen, N. C. The diagnosis of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **13**, 9–22 (1987).
83. Crow, T. J. Molecular pathology of schizophrenia: More than one disease process? *Br. Med. J.* **280**, 66–68 (1980).
84. Voce, A., Calabria, B. & McKetin, R. A Systematic Review of the Symptom Profile and Course of Methamphetamine-Associated Psychosis: Substance Use and Misuse. *Subst. Use Misuse* **54**, 549–559 (2019).
85. Hashimoto, K., Falkai, P. & Schmitt, A. Glutamate modulators as potential therapeutic drugs in schizophrenia and affective disorders. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* **263**, 367–377 (2013).
86. McCutcheon, R. A., Krystal, J. H. & Howes, O. D. Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment. *World Psychiatry* **19**, 15–33 (2020).
87. Stahl, S. M. Beyond the dopamine hypothesis of schizophrenia to three neural networks of psychosis: Dopamine, serotonin, and glutamate. *CNS Spectr.* **23**, 187–191 (2018).

88. Hahn, M. Moderne Antipsychotika: Mehr Lebensqualität, bessere Prognose | *Pharm. Ztg.* **17**, (2018).
89. Young, J. W. & Geyer, M. A. Developing treatments for cognitive deficits in schizophrenia: The challenge of translation. *J. Psychopharmacol.* **29**, 178–196 (2015).
90. Maas, D. A., Vallès, A. & Martens, G. J. M. Oxidative stress, prefrontal cortex hypomyelination and cognitive symptoms in schizophrenia. *Transl. Psychiatry* **7**, (2017).
91. Sokoloff, P. & Le Foll, B. The dopamine D3 receptor, a quarter century later. *Eur. J. Neurosci.* **45**, 2–19 (2017).
92. Moghaddam, B. & Javitt, D. From revolution to evolution: The glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. *Neuropsychopharmacology* **37**, 4–15 (2012).
93. McCutcheon, R. A., Krystal, J. H. & Howes, O. D. Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment. *World Psychiatry* **19**, 15–33 (2020).
94. Aringhieri, S. *et al.* Molecular targets of atypical antipsychotics: from mechanism of action to clinical differences. *Pharmacol. Ther.* **192**, 20–41 (2018).
95. Sharma, P., Dadheech, G. & Gautam, S. Evaluation of antioxidant deficit in schizophrenia. *Indian J. Psychiatry* **50**, 16 (2008).
96. Miyamoto, S., Miyake, N. & Lieberman, J. A. Pharmacological treatment of schizophrenia: A critical review of the pharmacology and clinical effects of current and future therapeutic agents. *Mol. Psychiatry* **17**, 1206–1227 (2012).
97. Pierre, J. M. Extrapyramidal symptoms with atypical antipsychotics: Incidence, prevention and management. *Drug Saf.* **28**, 191–208 (2005).
98. Volz, H.-P. D2-Rezeptor-Agonist mit Schwerpunkt Negativsymptomatik. *DNP - Der Neurol. Psychiater* **19**, 32–39 (2018).
99. Gründer, G., Hippus, H. & Carlsson, A. The ‘atypicality’ of antipsychotics: A concept re-examined and re-defined. *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 197–202 (2009).
100. Leucht, S. *et al.* Second-generation versus first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia: a meta-analysis. *Lancet* **373**, 31–41 (2009).
101. Meltzer, H. Y., Matsubara, S. & Lee, J. C. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin<sub>2</sub> pKi values. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **251**, (1989).
102. Seeman, P. An Update of Fast-Off Dopamine D<sub>2</sub> Atypical Antipsychotics. *Artic. Am. J. Psychiatry* **162**, (2005).
103. Cerveri, G., Gesi, C. & Mencacci, C. Pharmacological treatment of negative symptoms

- in schizophrenia: update and proposal of a clinical algorithm. *Neuropsychiatr. Dis. Treatmen* **15**, 1525–1535 (2019).
104. Frankel, J. S. & Schwartz, T. L. Brexpiprazole and cariprazine: distinguishing two new atypical antipsychotics from the original dopamine stabilizer aripiprazole. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* **7**, 29–41 (2017).
105. Frank, A., Kiss, D. J., Keserű, G. M. & Stark, H. Binding kinetics of cariprazine and aripiprazole at the dopamine D3 receptor. *Sci. Rep.* **8**, 1–9 (2018).
106. Dale, H. H. & Laidlaw, P. . The physiological actions of b-imidazol ethylamine. *J. Physiol.* **41**, 318–344 (1910).
107. Best, C. H., Dale, H. H. & Thorpe, W. V. The nature of the vaso-dilator constituents of certain tissue extracts. *J. Physiol.* **62**, 397–417 (1927).
108. Obara, I. et al. Histamine, histamine receptors, and neuropathic pain relief. *Br. J. Pharmacol.* **177**, 580–599 (2019).
109. Panula, P. *et al.* International union of basic and clinical pharmacology. XCVIII. histamine receptors. *Pharmacol. Rev.* **67**, 601–655 (2015).
110. Parsons, M. E. & Ganellin, C. R. Histamine and its receptors. *Br. J. Pharmacol.* **147**, 127–135 (2006).
111. Shahid, M. *et al.* Histamine , Histamine Receptors , and their Role in Immunomodulation : An Updated Systematic Review. *Open Immunol. J.* **2**, 9–41 (2009).
112. Black, J. W. & Ganellin, C. R. Naming of Substituted Histamines. *Experientia* **30**, 111–113 (1974).
113. Akdis, C. A. & Blaser, K. Histamine in the immune regulation of allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* **112**, 15–22 (2003).
114. Marinissen, M. J. & Gutkind, J. S. G-protein-coupled receptors and signaling networks: Emerging paradigms. *Trends Pharmacol. Sci.* **22**, 368–376 (2001).
115. Hilger, D. & Masureel, M. Structure and dynamics of GPCR signaling complexes. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **25**, 4–12 (2018).
116. Venkatakrishnan, A. J. *et al.* Molecular signatures of G-protein-coupled receptors. *Nature* **494**, 185–194 (2013).
117. Isberg, V. et al. Generic GPCR residue numbers - Aligning topology maps while minding the gaps. *Trends Pharmacol. Sci.* **36**, 22–31 (2015).
118. Ballesteros, J. & Weinstein, H. Integrated Methods for the Construction of Three-Dimensional Models and Computational Probing of Structure-Funcion Relations in G-Protein-Coupled Receptors. *Methods Neurosci.* **25**, (1995).

119. Latorraca, N. R., Venkatakrishnan, A. J. & Dror, R. O. GPCR Dynamics: Structures in Motion. *ACS Chem. Rev.* **117**, 139–155 (2017).
120. Vogel, R. *et al.* Functional Role of the ‘Ionic Lock’-An Interhelical Hydrogen-Bond Network in Family A Heptahelical Receptors. *J. Mol. Biol.* **380**, 648–655 (2008).
121. Berg, K. A. & Clarke, W. P. Making sense of pharmacology: Inverse agonism and functional selectivity. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **21**, 962–977 (2018).
122. Gurevich, V. V. & Gurevich, E. V. GPCR signaling regulation: The role of GRKs and arrestins. *Front. Pharmacol.* **10**, 125 (2019).
123. Gregorio, G. G. *et al.* Single-molecule analysis of ligand efficacy in  $\beta$ 2AR-G-protein activation. *Nature* **547**, 68–73 (2017).
124. Neves, S. R., Ram, P. T. & Iyengar, R. G protein pathways. *Science* **296**, 1636–1639 (2002).
125. Milligan, G. & Kostenis, E. Heterotrimeric G-proteins: A short history. *Br. J. Pharmacol.* **147**, S46–S55 (2006).
126. Ma, L. & Pei, G.  $\beta$ -arrestin signaling and regulation of transcription. *J. Cell Sci.* **120**, 213–218 (2007).
127. Latorraca, N. R. *et al.* Molecular mechanism of GPCR-mediated arrestin activation. *Nature* **557**, 452–456 (2018).
128. Wingler, L. M. & Lefkowitz, R. J. Conformational Basis of G Protein-Coupled Receptor Signaling Versatility. *Trends Cell Biol.* **30**, 736–747 (2020).
129. Bologna, Z., Teoh, J. P. & Kim, I. M. Biased g protein-coupled receptor signaling: New player in modulating physiology and pathology. *Biomol. Ther.* **25**, 12–25 (2017).
130. Piekialna-Ciesielska, J. *et al.* Pharmacological Characterization of  $\mu$ -Opioid Receptor Agonists with Biased G Protein or  $\beta$ -Arrestin Signaling, and Computational Study of Conformational Changes during Receptor Activation. *Molecules* **26**, 13 (2021).
131. Leurs, R., Church, M. K. & Tagliatela, M. H<sub>1</sub>-antihistamines: inverse agonism, anti-inflammatory actions and cardiac effects. *Clin. Exp. Allergy* **32**, 489–498 (2002).
132. Díaz, N. F., Flores-Herrera, H. & Molina-Hernández, A. Central Histamine, the H<sub>3</sub>-Receptor and Obesity Therapy. *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets* **18**, 516–522 (2019).
133. Simons, F. E. R. & Simons, K. J. Histamine and H<sub>1</sub>-antihistamines: Celebrating a century of progress. *J. Allergy Clin. Immunol.* **128**, (2011).
134. Handley, D. A., Magnetti, A. & Higgins, A. J. Therapeutic advantages of third generation antihistamines. *Expert Opin. Investig. Drugs* **7**, 1045–1054 (1998).
135. Hu, W. & Chen, Z. The roles of histamine and its receptor ligands in central nervous

- system disorders: An update. *Pharmacol. Ther.* **175**, 116–132 (2017).
136. Shimamura, T. *et al.* Structure of the human histamine H<sub>1</sub> receptor complex with doxepin. *Nature* **475**, 65–72 (2011).
137. Haas, H. L., Sergeeva, O. A. & Selbach, O. Histamine in the nervous system. *Physiol. Rev.* **88**, 1183–1241 (2008).
138. Schneider, E. H., Neumann, D. & Seifert, R. Modulation of behavior by the histaminergic system: Lessons from H<sub>1</sub>R- and H<sub>2</sub>R-deficient mice. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **42**, 252–266 (2014).
139. Strasser, A. & Wittmann, H. J. Molecular modelling approaches for the analysis of histamine receptors and their interaction with ligands. *Handb. Exp. Pharmacol.* **241**, 1–31 (2017).
140. Sander, K., Kottke, T. & Stark, H. Histamine H<sub>3</sub> Receptor Antagonists Go to Clinics. *Biol. Pharm. Bull.* **31**, 2163–2181 (2008).
141. Nieto-Alamilla, G., Marquez-Gomez, R. & Arias-Montano, J.-A. The Histamine H<sub>3</sub> Receptor: Structure, Pharmacology, and Function. *Mol. Pharmacol.* **90**, 649–673 (2016).
142. Nieto-alamilla, G. & Márquez-gómez, R. The Histamine H<sub>3</sub> Receptor: Structure, Pharmacology, and Function. *Mol. Pharmacol.* 649–673 (2016).
143. Ghamari, N. *et al.* Histamine H<sub>3</sub> receptor antagonists/inverse agonists: Where do they go? *Pharmacol. Ther.* **200**, 69–84 (2019).
144. Obara, I., Telezhkin, V. & Chazot, P. L. Histamine, histamine receptors, and neuropathic pain relief. *Br. J. Pharmacol.* (2019).
145. Schneider, E. H. & Seifert, R. Pharmacological characterization of human histamine receptors and histamine receptor mutants in the Sf9 cell expression system. in *Handbook of Experimental Pharmacology* **241**, 1–56 (Springer New York LLC, 2017).
146. Romigi, A., Vitrani, G. & Franco, V. Profile of pitolisant in the management of narcolepsy: Design, development, and place in therapy. *Drug Des. Devel. Ther.* **12**, 2665–2675 (2018).
147. Schneider, E. H. & Seifert, R. The histamine H<sub>4</sub>-receptor and the central and peripheral nervous system: A critical analysis of the literature. *Neuropharmacology* **106**, 116–128 (2016).
148. Buckland, K. F., Williams, T. J. & Conroy, D. M. Histamine induces cytoskeletal changes in human eosinophils via the H<sub>4</sub> receptor. *Br. J. Pharmacol.* **140**, 1117–1127 (2003).
149. Gschwandtner, M., Stark, H. & Gutzmer, R. Profiling of histamine H<sub>4</sub> receptor agonists

- in native human monocytes. *Br. J. Pharmacol.* **170**, 136–143 (2013).
150. Capelo, R. *et al.* Cellular analysis of the histamine H<sub>4</sub> receptor in human myeloid cells. *Biochem. Pharmacol.* **103**, 74–84 (2016).
151. Neumann, D., Schneider, E. H. & Seifert, R. Analysis of histamine receptor knockout mice in models of inflammation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **348**, 2–11 (2014).
152. Hartwig, C. *et al.* The histamine H<sub>4</sub>-receptor (H<sub>4</sub> R) regulates eosinophilic inflammation in ovalbumin-induced experimental allergic asthma in mice. *Eur. J. Immunol.* **45**, 1129–1140 (2015).
153. Igel, P., Dove, S. & Buschauer, A. Histamine H<sub>4</sub> receptor agonists. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **20**, 7191–7199 (2010).
154. Werfel, T. *et al.* Efficacy and safety of the histamine H<sub>4</sub> receptor antagonist ZPL-3893787 in patients with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **143**, (2019).
155. Thurmond, R. L. *et al.* Clinical and preclinical characterization of the Histamine H<sub>4</sub> receptor Antagonist JNJ-39758979s. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **349**, 176–184 (2014).
156. Sadek, B. & Stark, H. Cherry-picked ligands at histamine receptor subtypes. *Neuropharmacology* **106**, 56–73 (2016).
157. Bonaventure, P. *et al.* Histamine H<sub>3</sub> receptor antagonists: From target identification to drug leads. *Biochem. Pharmacol.* **73**, 1084–1096 (2007).
158. Jończyk, J., Malawska, B. & Bajda, M. Hybrid approach to structure modeling of the histamine H<sub>3</sub> receptor: Multi-level assessment as a tool for model verification. *PLoS One* **12**, 1–29 (2017).
159. Szczepańska, K. *et al.* Structural modifications in the distal, regulatory region of histamine H<sub>3</sub> receptor antagonists leading to the identification of a potent anti-obesity agent. *Eur. J. Med. Chem.* (2020). doi:10.1016/j.ejmech.2020.113041
160. Ghamari, N. *et al.* Histamine H<sub>3</sub> receptor ligands by hybrid virtual screening, docking, molecular dynamics simulations, and investigation of their biological effects. *Chem. Biol. Drug Des.* **93**, 832–843 (2019).
161. Hung, S. Y. & Fu, W. M. Drug candidates in clinical trials for Alzheimer’s disease. *J. Biomed. Sci.* **24**, 1–12 (2017).
162. Łażewska, D. & Kieć-Kononowicz, K. Progress in the development of histamine H<sub>3</sub> receptor antagonists/inverse agonists: a patent review (2013-2017). *Expert Opin. Ther. Pat.* **28**, 175–196 (2018).
163. Delay-Goyet, P. *et al.* SAR110894, a potent histamine H<sub>3</sub>-receptor antagonist, displays

- disease-modifying activity in a transgenic mouse model of tauopathy. *Alzheimer's Dement. Transl. Res. Clin. Interv.* **2**, 267–280 (2016).
164. Kumar, A. *et al.* Novel Tetrahydroquinazolinamines as Selective Histamine 3 Receptor Antagonists for the Treatment of Obesity. *J. Med. Chem.* **62**, 4638–4655 (2019).
165. Düzel, E. Schwerpunkt Kognition und Gedächtnis. *Klin. Neurophysiol.* **41**, 105–105 (2010).
166. Beaulieu, J.-M. & Gainetdinov, R. The Physiology, Signaling and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacol. Rev.* **63**, 182–217 (2011).
167. Seeman, P. & Van Tol, H. Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci.* **15**, 264–270 (1994).
168. Carlsson, A. A paradigm shift in brain research. *Science* **294**, 1021–1024 (2001).
169. Solís, O. & Moratalla, R. Dopamine receptors: homomeric and heteromeric complexes in l-DOPA-induced dyskinesia. *J. Neural Transm.* **125**, 1187–1194 (2018).
170. Lichter-Konecki, U. & Vockley, J. Phenylketonuria: Current Treatments and Future Developments. *Drugs* **79**, 495–500 (2019).
171. Ayano, G. Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders: Review of Literatures. *J. Ment. Disord. Treat.* **2**, 2–5 (2016).
172. Bromek, E., Haduch, A. & Daniel, W. A. Cytochrome P450 mediates dopamine formation in the brain in vivo. *J. Neurochem.* **118**, 806–815 (2011).
173. Eriksen, J., Jørgensen, T. N. & Gether, U. Regulation of dopamine transporter function by protein-protein interactions: new discoveries and methodological challenges. *J. Neurochem.* **113**, 27–41 (2010).
174. Masato, A., Boassa, D. & Bubacco, L. Impaired dopamine metabolism in Parkinson's disease pathogenesis. *Mol. Neurodegener.* **14**, 1–21 (2019).
175. Meiser, J., Weindl, D. & Hiller, K. Complexity of dopamine metabolism. *Cell Commun. Signal.* **11**, 1–18 (2013).
176. Myöhänen, T. T., Schendzielorz, N. & Männistö, P. T. Distribution of catechol-O-methyltransferase (COMT) proteins and enzymatic activities in wild-type and soluble COMT deficient mice. *J. Neurochem.* **113**, (2010).
177. Schlegel, B. *et al.* Generation of a homology model of the human histamine H3 receptor for ligand docking and pharmacophore-based screening. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **21**, 437–453 (2007).
178. Butini, S. *et al.* Polypharmacology of dopamine receptor ligands. *Progress in Neurobiology* **142**, 68–103 (2016).

179. Ben-Jonathan, N. & Hnasko, R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocrine Reviews* **22**, 724–763 (2001).
180. Mishra, A., Singh, S. & Shukla, S. Physiological and Functional Basis of Dopamine Receptors and Their Role in Neurogenesis: Possible Implication for Parkinson's disease. *J. Exp. Neurosci.* **12**, (2018).
181. Romanelli, R. J., Williams, J. T. & Neve, K. A. Dopamine Receptor Signaling: Intracellular Pathways to Behavior. *Dopamine Recept.* 137–173 (2010).
182. Harding, S. D. *et al.* The IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology in 2018: Updates and expansion to encompass the new guide to Immunopharmacology. *Nucleic Acids Res.* **46**, D1091–D1106 (2018).
183. Felsing, D. E., Jain, M. K. & Allen, J. A. Advances in Dopamine D1 Receptor Ligands for Neurotherapeutics. *Curr. Top. Med. Chem.* **19**, 1365–1380 (2019).
184. Martel, J. C. & Gatti McArthur, S. Dopamine Receptor Subtypes, Physiology and Pharmacology: New Ligands and Concepts in Schizophrenia. *Front. Pharmacol.* **11**, 1–17 (2020).
185. Guitart, X. *et al.* Biased G Protein-Independent Signaling of Dopamine D1-D3 Receptor Heteromers in the Nucleus Accumbens. *Mol. Neurobiol.* **56**, 6756–6769 (2019).
186. Moritz, A. E., Benjamin Free, R. & Sibley, D. R. Advances and challenges in the search for D2 and D3 dopamine receptor-selective compounds. *Cell. Signal.* **41**, 75–81 (2018).
187. Frank, A., Kiss, D. J., Keserü, G. M. & Stark, H. Binding kinetics of cariprazine and aripiprazole at the dopamine D3 receptor. *Sci. Rep.* **8**, 1–9 (2018).
188. Iarkov, A., Barreto, G. E. & Echeverria, V. Strategies for the Treatment of Parkinson's Disease: Beyond Dopamine. *Front. Aging Neurosci.* **12**, 4 (2020).
189. Armstrong, M. J. & Okun, M. S. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *J. Am. Med. Assoc.* **323**, 548–560 (2020).
190. Ellis, J. M. & Fell, M. J. Current approaches to the treatment of Parkinson's Disease. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **27**, 4247–4255 (2017).
191. Lutsenko, K., Hagenow, S. & Stark, H. Rasagiline derivatives combined with histamine H3 receptor properties. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **29**, 126612 (2019).
192. Affini, A., Marco-Contelles, J. & Stark, H. Novel indanone derivatives as MAO B/H3R dual-targeting ligands for treatment of Parkinson's disease. *Eur. J. Med. Chem.* **148**, 487–497 (2018).
193. Mccall, R. B., Lookingland, K. J. & Huff, R. M. Sumanirole , a Highly Dopamine D 2 - Selective Receptor Agonist : In Vitro and in Vivo Pharmacological Characterization and

- Efficacy in Animal Models of Parkinson ' s Disease. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **314**, 1248–1256 (2005).
194. Barone, P., Lamb, J., Ellis, A. & Clarke, Z. Sumanitrole versus placebo or ropinirole for the adjunctive treatment of patients with advanced Parkinson ' s disease. *Mov. Disord.* **22**, 483–489 (2007).
195. Mierau, J. *et al.* Pramipexole binding and activation of cloned and expressed dopamine D2, D3 and D4 receptors. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol.* **290**, 29–36 (1995).
196. Pugsley, T. A. *et al.* Neurochemical and functional characterization of the preferentially selective dopamine D3 agonist PD 128907. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **275**, 1355–1366 (1995).
197. Kiss, B. *et al.* Neuronal Dopamine D3 Receptors: Translational Implications for Preclinical Research and CNS Disorders. *Biomolecules* **11**, 104 (2021).
198. Martel, J. C. & Gatti McArthur, S. Dopamine Receptor Subtypes, Physiology and Pharmacology: New Ligands and Concepts in Schizophrenia. *Front. Pharmacol.* **11**, 1003 (2020).
199. Cerveri, G., Gesi, C. & Mencacci, C. Pharmacological treatment of negative symptoms in schizophrenia: Update and proposal of a clinical algorithm. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **15**, 1525–1535 (2019).
200. Wang, S. *et al.* Structure of the D2 dopamine receptor bound to the atypical antipsychotic drug risperidone. *Nature* **555**, 269–273 (2018).
201. Chien, E. Y. T. *et al.* Structure of the human dopamine D3 receptor in complex with a D2/D3 selective antagonist. *Science (80-. ).* **330**, (2010).
202. Sibley, D. R. & Monsma, F. J. Molecular biology of dopamine receptors. *Trends Pharaml. Sci.* **13**, 61–69 (1992).
203. Bueschbell, B., Barreto, C. & Moreira, I. A Complete Assessment of Dopamine Receptor- Ligand Interactions through Computational Methods. *Molecules* **24**, 1196 (2019).
204. Appiah-Kubi, P., Olotu, F. A. & Soliman, M. E. S. Exploring the structural basis and atomistic binding mechanistic of the selective antagonist blockade at D3 dopamine receptor over D2 dopamine receptor. *J. Mol. Recognit.* 1–15 (2021).
205. Fan, L. *et al.* Haloperidol bound D2 dopamine receptor structure inspired the discovery of subtype selective ligands. *Nat. Commun.* **11**, 1–11 (2020).
206. Hackling, A. *et al.* N-( $\omega$ )-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)alkyl)carboxamides as dopamine D2 and D3 receptor ligands. *J. Med. Chem.* **46**, 3883–3899 (2003).

207. Ferruz, N. *et al.* Dopamine D3 receptor antagonist reveals a cryptic pocket in aminergic GPCRs. *Sci. Rep.* **8**, 1–10 (2018).
208. Cao, Y. *et al.* Design, synthesis, and evaluation of bitopic arylpiperazine-phthalimides as selective dopamine D3 receptor agonists. *Medchemcomm* **9**, 1457–1465 (2018).
209. Fan, L. *et al.* Haloperidol bound D2 dopamine receptor structure inspired the discovery of subtype selective ligands. *Nat. Commun.* **11**, 1–11 (2020).
210. Frieg, B., Willbold, D. & Gohlke, H. Binding Modes of Thioflavin T and Congo Red to the Fibril Structure of Amyloid- $\beta$ (1–42). *Chem. Commun.* 18–21 (2020).
211. Guan, J. *et al.* Cyclic glycine-proline regulates IGF-1 homeostasis by altering the binding of IGFBP-3 to IGF-1. *Sci. Rep.* **4**, 1–9 (2014).
212. Walters, W. P., Murcko, A. & Murcko, M. A. Recognizing molecules with drug-like properties. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **3**, 384–387 (1999).
213. Jia, C. Y., Li, J. Y. & Yang, G. F. A drug-likeness toolbox facilitates ADMET study in drug discovery. *Drug Discov. Today* **25**, 248–258 (2020).
214. Morphy, R., Kay, C. & Rankovic, Z. From magic bullets to designed multiple ligands. *Drug Discov. Today* **9**, 641–651 (2004).
215. Cornacchia, C. *et al.* 2,5-Diketopiperazines as Neuroprotective Agents. *Mini-Reviews Med. Chem.* **12**, 2–12 (2012).
216. Ji Ram, V., Sethi, A. & Pratap, R. *Six-Membered Heterocycles. The Chemistry of Heterocycles* (Elsevier Ltd., 2019).
217. Wu, Y. J. Heterocycles and Medicine. A Survey of the Heterocyclic Drugs Approved by the U.S. FDA from 2000 to Present. *Prog. Heterocycl. Chem.* **24**, 1–53 (2012).
218. Apodaca, R., Carruthers, N. I. & Dvorak, C. A. Non-Imidazole Aryloxyalkylamines. *United States Pat.* **US2008/030**, (2008).
219. Faghieh, R. *et al.* Structure-activity relationships of non-imidazole H3 receptor ligands. Part 2: Binding preference for D-amino acids motifs. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **12**, 2035–2037 (2002).
220. Szczepanska, K., Kuder, K. & Kiec-Kononowicz, K. Histamine H3 Receptor Ligands in the Group of (Homo)piperazine Derivatives. *Curr. Med. Chem.* **25**, 1609–1626 (2018).
221. Williamson, A. Ueber die Theorie der Aetherbildung. *Ann. der Chemie und Pharm.* **77**, 37–49 (1851).
222. Finkelstein, H. Darstellung organischer Jodide aus den entsprechenden Bromiden und Chloriden. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **43**, 1528–1532 (1910).
223. Pace, R. D. & Regmi, Y. The Finkelstein reaction: Quantitative reaction kinetics of an

- SN2 reaction using nonaqueous conductivity. *J. Chem. Educ.* **83**, 1344–1348 (2006).
224. Aziz, A. A. & Amtul, Z. Developing Trojan horses to induce, diagnose and suppress Alzheimer's pathology. *Pharmacol. Res.* **149**, 104471 (2019).
225. Wang, H. & Germanas, J. P. 4-Alkyl-2-trichloromethyloxazolidin-5-ones: Valuable precursors to enantiomerically pure C- and N-protected  $\alpha$ -alkyl prolines. *Synlett* **1**, 33–36 (1999).
226. Montalbetti, C. A. G. N. & Falque, V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron* **61**, 10827–10852 (2005).
227. Fischer, P. M. Diketopiperazines in peptide and combinatorial chemistry. *J. Pept. Sci.* **9**, 9–35 (2003).
228. Borthwick, A. D. 2,5-diketopiperazines: Synthesis, reactions, medicinal chemistry, and bioactive natural products. *Chem. Rev.* **112**, 3641–3716 (2012).
229. Valeur, E. & Bradley, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. *Chem. Soc. Rev.* **38**, 606–631 (2009).
230. Schöllkopf, U., Hartwig, W. & Groth, U. Enantioselective Synthese von  $\alpha$ -Methyl- $\alpha$ -amino-carbonsäuren durch Alkylierung des Lactimeters von cyclo-(L-Ala-L-Ala). *Angew. Chemie* **91**, 922–923 (1979).
231. González, J. F., De La Cuesta, E. & Avendaño, C. Improvements in aldol reactions with diketopiperazines. *Synth. Commun.* **34**, 1589–1597 (2004).
232. Yamazaki, Y. *et al.* Synthesis and structure-activity relationship study of antimicrotubule agents phenylahistin derivatives with a didehydropiperazine-2,5-dione structure. *J. Med. Chem.* **55**, 1056–1071 (2012).
233. Palladino, M., Lloyd, G. K. & Hayashi, Y. Analogs of dehydrophenylahistins and their therapeutic use. *United States Pat.* **US2008/022**, (2008).
234. Oba, M., Terauchi, T. & Nishiyama, K. Stereo-divergent synthesis of L-threo- and L-erythro-[2,3-2H<sub>2</sub>] amino acids using optically active dioxopiperazine as a chiral template. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1**, 1275–1281 (1998).
235. Padrón, J. M. *et al.* Enantiospecific synthesis of  $\alpha$ -amino acid semialdehydes: A key step for the synthesis of unnatural unsaturated and saturated  $\alpha$ -amino acids. *Tetrahedron Asymmetry* **9**, 3381–3394 (1998).
236. Ivkovic, J., Lembacher-fadum, C. & Breinbauer, R. A rapid and efficient one-pot method for the reduction of N-protected  $\alpha$ -amino acids to chiral. *Org. Biomol. Chem.* **13**, 10456–10460 (2015).
237. Ducry, L. & Roberge, D. M. Dibal-H reduction of methyl butyrate into butyraldehyde

- using microreactors. *Org. Process Res. Dev.* **12**, 163–167 (2008).
238. Patiño-Molina, R., Herranz, R., García-López, M. T. & González-Muñiz, R. Stereoselective reductive amination of  $\beta$ -keto esters derived from dipeptides. Stereochemical and mechanistic studies on the formation of 5-carboxymethyl-2-oxopiperazine derivatives. *Tetrahedron* **55**, 15001–15010 (1999).
239. Myers, A. G. & Kung, D. W. A concise, stereocontrolled synthesis of (-)-saframycin A by the directed condensation of  $\alpha$ -amino aldehyde precursors. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 10828–10829 (1999).
240. Duarte, C., Barreiro, E. & Fraga, C. Privileged Structures: A Useful Concept for the Rational Design of New Lead Drug Candidates. *Mini-Rev. Med. Chem.* **7**, 1108–1119 (2007).
241. Cacciatore, I. *et al.* GPE and GPE Analogues as Promising Neuroprotective Agents. *Mini-Reviews Med. Chem.* **12**, 13–23 (2011).
242. Rothe, J., Hormes, J., Schild, C. & Pennemann, B. X-Ray Absorption Spectroscopy Investigation of the Activation Process of Raney Nickel Catalysts. *J. Catal.* **191**, 294–300 (2000).
243. Sekio, M. & Shin, I. Stereochemistry and Mechanisms of Catalytic Hydrogenolysis and Hydrogenation. I. Catalytic Hydrogenolysis of Optically Active Compounds with Raney Nickel. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **34**, (1961).
244. Moritz, A. E. *et al.* Discovery, Optimization, and Characterization of ML417: A Novel and Highly Selective D3 Dopamine Receptor Agonist. *J. Med. Chem.* **63**, 5526–5567 (2020).
245. Bosma, R., Mocking, T. A. M., Leurs, R. & Vischer, H. F. *Ligand-Binding Kinetics on Histamine Receptors.* (2017). doi:10.1007/978-1-4939-6843-5\_5
246. Yung-Chi, C. & Prusoff, W. H. Relationship between the inhibition constant (KI) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I50) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **22**, 3099–3108 (1973).
247. Reiner, D. & Stark, H. Ligand binding kinetics at histamine H3 receptors by fluorescence-polarization with real-time monitoring. *Eur. J. Pharmacol.* **848**, 112–120 (2019).
248. Fogel, W. A., Stasiak, A., Falkenstein, M., Reiner, D. & Stark, H. Histamine H3 receptor antagonism as a valuable component for multitarget directed ligands (MTDL). in *Book of the Abstracts COST Action CA15135 4. Meeting*, (2020).
249. Zhang, M. *et al.* Identification of N-phenyl-3-methoxy-4-pyridinones as orally

- bioavailable H3 receptor antagonists and  $\beta$ -amyloid aggregation inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* **212**, 113096 (2020).
250. Ziehm, T., Buell, A. K. & Willbold, D. Role of Hydrophobicity and Charge of Amyloid-Beta Oligomer Eliminating d -Peptides in the Interaction with Amyloid-Beta Monomers. *ACS Chem. Neurosci.* **9**, 2679–2688 (2018).
251. Schartmann, E. *et al.* In vitro potency and preclinical pharmacokinetic comparison of all-d-enantiomeric peptides developed for the treatment of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer's Dis.* **64**, 859–873 (2018).
252. Klein, A. N. *et al.* Optimization of d -Peptides for A $\beta$  Monomer Binding Specificity Enhances Their Potential to Eliminate Toxic A $\beta$  Oligomers. *ACS Chem. Neurosci.* **8**, 1889–1900 (2017).
253. Schübler, M., Sadek, B. & Stark, H. Synthesis, Molecular Properties Estimations, and Dual Dopamine D2 and D3 Receptor Activities of Benzothiazole-Based Ligands. *Front. Chem.* **5**, 64 (2017).
254. Amodeo, D. A., Jones, J. H., Sweeney, J. A. & Ragozzino, M. E. Differences in BTBR T+ tf/J and C57BL/6J mice on probabilistic reversal learning and stereotyped behaviors. *Behav. Brain Res.* **227**, 64–72 (2012).
255. Eissa, N. *et al.* The Multi-Targeting Ligand ST-2223 with Histamine H3 Receptor and Dopamine D2 / D3 Receptor Antagonist Properties Mitigates Autism-Like Repetitive Behaviors and Brain Oxidative Stress in Mice. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 1947 (2021).
256. Amodeo, D. A. *et al.* Differences in the expression of restricted repetitive behaviors in female and male BTBR T+ tf/J mice. *Behav. Brain Res.* **372**, (2019).
257. Prut, L. & Belzung, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *Eur. J. Pharmacol.* **463**, 3–33 (2003).
258. Szczepańska, K. *et al.* Structural modifications and in vitro pharmacological evaluation of 4-pyridyl-piperazine derivatives as an active and selective histamine H3 receptor ligands. *Bioorg. Chem.* **91**, 103071 (2019).
259. Li, X. *et al.* Determination of absolute configuration and conformation of a cyclic dipeptide by NMR and chiral spectroscopic methods. *J. Phys. Chem. A* **117**, 1721–1736 (2013).
260. Roche, O. & Rodríguez Sarmiento, R. M. A new class of histamine H3 receptor antagonists derived from ligand based design. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17**, 3670–3675 (2007).
261. Rai, B. K., Tawa, G. J. & Humblet, C. Modeling G protein-coupled receptors for

- structure-based drug discovery using low-frequency normal modes for refinement of homology models: Application to H3 antagonists. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **78**, 457–473 (2010).
262. Hamzeh-Mivehroud, M., Khoshnavan-Azar, Z. & Dastmalchi, S. QSAR and molecular docking studies on non-imidazole-based histamine h3 receptor antagonists. *Pharm. Sci.* **26**, 165–174 (2020).
263. Wingen, K. *et al.* Benzylpiperidine variations on histamine H3 receptor ligands for improved drug-likeness. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **24**, 2236–2239 (2014).
264. Ziehm, T., Buell, A. K. & Willbold, D. Role of Hydrophobicity and Charge of Amyloid-Beta Oligomer Eliminating d -Peptides in the Interaction with Amyloid-Beta Monomers. *ACS Chem. Neurosci.* **9**, 2679–2688 (2018).
265. Klein Herenbrink, C. *et al.* Molecular Determinants of the Intrinsic Efficacy of the Antipsychotic Aripiprazole. *ACS Chem. Biol.* **14**, 1780–1792 (2019).
266. Ehrlich, K. *et al.* Dopamine D2, D3, and D4 selective phenylpiperazines as molecular probes to explore the origins of subtype specific receptor binding. *J. Med. Chem.* **52**, 4923–4935 (2009).
267. Newman, A. H. *et al.* Molecular determinants of selectivity and efficacy at the dopamine D3 receptor. *J. Med. Chem.* **55**, 6689–6699 (2012).
268. Bautista-Aguilera, Ó. M. *et al.* Multitarget-Directed Ligands Combining Cholinesterase and Monoamine Oxidase Inhibition with Histamine H3R Antagonism for Neurodegenerative Diseases. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **56**, 12765–12769 (2017).
269. Bharatam, P. V. Drug Likeness Tool (DruLiTo 1). Available at: [http://www.niper.gov.in/pi\\_dev\\_tools/DruLiToWeb/DruLiTo\\_index.html](http://www.niper.gov.in/pi_dev_tools/DruLiToWeb/DruLiTo_index.html). (Accessed: 21st December 2020)
270. Daniele, S. *et al.* Lead Optimization of 2-Phenylindolylglyoxylyldipeptide Murine Double Minute (MDM)2/Translocator Protein (TSPO) Dual Inhibitors for the Treatment of Gliomas. *J. Med. Chem.* **59**, 4526–4538 (2016).
271. Gluckman, P. D. & *et al.* Effects of glycyl-2 methyl prolyl glutamate on neurodegeneration. *United States Pat.* **US 7605177**, (2009).
272. Noe, C. R., Weigand, A. & Pirker, S. Studies on Cyclic Dipeptides , I: Aryl Modifications of cyclo-[Phe-His]. *Monatsh. Chem.* **127**, 1081–1097 (1996).
273. Sander, K., Kottke, T. & Stark, H. Kojic Acid Derivatives as Histamine H3 Receptor Ligands. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **58**, 1353–1361 (2010).
274. Zhang, R., Wu, X. & Hasinoff, B. B. Design, synthesis, and biological evaluation of a

- novel series of bisintercalating DNA-binding piperazine-linked bisanthrapyrazole compounds as anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem.* **19**, 7023–7032 (2011).
275. Carter, D. S. & et al. Arylpiperazine derivatives and uses thereof. *United States Pat. US2009/020*, (2009).
276. Shallal, H. M., Faridi, J. S. & Russu, W. A. Anti-tumor pyrimidinylpiperazines bind to the prosurvival Bcl-2 protein family member Bcl-XL. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **21**, 1325–1328 (2011).
277. Tomasch, M., Schwed, J. S. & Stark, H. Bodilisant-a novel fluorescent, highly affine histamine h3 receptor ligand. *ACS Med. Chem. Lett.* **4**, 269–73 (2013).
278. Crossland, R. K. & Servis, K. L. A Facile Synthesis of Methanesulfonate Esters. *J. Org. Chem.* **35**, 3195–3196 (1970).
279. De Oliveira, C. S. *et al.* Synthesis, molecular properties prediction, and anti-staphylococcal activity of N-acylhydrazones and new 1,3,4-oxadiazole derivatives. *Molecules* **17**, 5095–5107 (2012).
280. Lo Monte, F. *et al.* Structure-based optimization of oxadiazole-based GSK-3 inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **61**, 26–40 (2013).
281. Chollet, A. *et al.* Design, synthesis and evaluation of new GEQ derivatives as inhibitors of InhA enzyme and Mycobacterium tuberculosis growth. *Eur. J. Med. Chem.* **101**, 218–235 (2015).
282. Carpino, L. A. *et al.* Polystyrene-Based Deblocking-Scavenging Agents for the 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl Amino-Protecting Group. *J. Org. Chem.* **48**, (1983).
283. Leahy, J. W. *et al.* Discovery of a novel series of potent and orally bioavailable phosphoinositide 3-kinase  $\gamma$  inhibitors. *J. Med. Chem.* **55**, 5467–5482 (2012).
284. Li, Y. & et al. 2-Phenoxy-and 2-phenylsulfonamide derivatives with CCR3 antagonistic activity for Treatment of asthma and other inflammatory or immunological disorders. *Int. Appl. Publ. WO2004/084*, (2004).
285. Sivanathan, S., Körber, F. & Scherkenbeck, J. Enantiomerically Pure 3-Aryl- and 3-Hetaryl-2-hydroxypropanoic Acids by Chemoenzymatic Reduction of 2-Oxo Acids. *J. Org. Chem.* **80**, 2554–2561 (2015).
286. Dominguez, X. A., Lopez, I. C. & Franco, R. Notes: Simple Preparation of a Very Active Raney Nickel Catalyst. *J. Org. Chem.* **26**, 1625 (1961).
287. Artman, G. D., Davis, M. M. & Brummond, K. M. (3R,7aS)-3-(Trichloromethyl)tetrahydropyrido[1,2-C]oxazol-1(3H)-one: An AIR and Moisture stable Reagent for the Synthesis of optically active  $\alpha$ -branched Prolines. *Org. synth.* **86**,

- 262 (2009).
288. Harris, P. W. R. *et al.* Synthesis of proline-modified analogues of the neuroprotective agent glycyl-L-prolyl-glutamic acid (GPE). *Tetrahedron* **61**, 10018–10035 (2005).
289. Khalil, E. M., Subasinghe, N. L. & Johnson, R. L. An efficient and high yield method for the N-tert-butoxycarbonyl protection of sterically hindered amino acids. *Tetrahedron Lett.* **37**, 3441–3444 (1996).
290. Schröder, E. Synthese des all-D-Val-Angiotensin 2-Asp-β-amids. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **252**, (1966).
291. James, M. & Still, I. A simple, high-yielding synthesis of nt butoxycarbonyl a amino esters: Precursors for a-amino aldehydes. *Synth. Commun.* **22**, 979–985 (1992).
292. Oikawa, T. Acetic Acid Catalyzed Diketopiperazine Synthesis. *Chem. Pharm. Bull.* **29**, 233–237 (1981).
293. Stark, T. & Hofmann, T. Structures, sensory activity, and dose/response functions of 2,5-diketopiperazines in roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*). *J. Agric. Food Chem.* **53**, 7222–7231 (2005).
294. Cao, X. *et al.* Proline-based reduced dipeptides as recyclable and highly enantioselective organocatalysts for asymmetric Michael addition. *Org. Biomol. Chem.* **9**, (2011).
295. Giovannini, R., Hamprecht, D., Kistler, B. & Lingard, I. Bicyclic Ring system substituted amide functionalised phenols as medicaments. *United States Pat. US2012/032*, (2012).
296. Chambers, M. S. & *et al.* Bicyclic Heteroaryl-alkylene-(Homo)Piperazinones and Thione Analogues thereof, their preparation, and their use of as selective Agonists of 5HT1 like receptors. *United States Pat. US00599841*, (1991).
297. Banerji, B., Bhattacharya, M. & Iqbal, J. Synthesis of cyclic β-turn mimics from L-Pro-Phe/Phe-L-Pro derived di- and tripeptides via ring closing metathesis: The role of chirality of the Phe residue during cyclization. *Tetrahedron Lett.* **43**, 6473–6477 (2002).
298. Menon, S. R. *et al.* Structure-antimutagenic activity relationship study of plicatin B. *J. Nat. Prod.* **62**, 102–106 (1999).
299. Gatti McArthur, S., Hertel, C., Plancher, J.-M. & Roche, O. Naphtaline derivatives useful as histamine 3 receptor ligands. *Int. Appl. Publ. Under Pat. Coop. Treaty WO2005/117*, (2005).
300. Kubo, A., Saito, N., Yamato, H. & Kawakami, Y. Preparations and Reactions of ( Z ) - 3-Arylidene-6-arylmethyl- 2 , 5-piperazinediones Having Highly Oxygenated Benzene Rings. *Chem. Pharm. Bull.* 2525–2532 (1987).

301. Best, D., Bruton, G., Heightman, T. & Orlek, B. Aryloxyalkylamine derivatives as H3 receptor ligands. *Int. Appl. Publ. Under Pat. Coop. Treaty* **WO2004/037**, (2004).
302. Ancliff, R., Eldred, C., Fogden, Y. & Hancock, Ashlex, P. Substituted piperazines as histamine H1 and/or H3 antagonists or H3 reverse antagonists. *Int. Appl. Publ. Under Pat. Coop. Treaty* **WO2004/035**, (2004).
303. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248–254 (1976).
304. Kottke, T. *et al.* Receptor-specific functional efficacies of alkyl imidazoles as dual histamine H3/H4 receptor ligands. *Eur. J. Pharmacol.* **654**, 200–208 (2011).
305. Reiner, D. *et al.* Epigenetics meets GPCR: inhibition of histone H3 methyltransferase (G9a) and histamine H3 receptor for Prader–Willi Syndrome. *Sci. Rep.* **10**, 1–8 (2020).
306. Ellman, G. L., Courtney, K. D. & Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **7**, 88–95 (1961).
307. Eissa, N. *et al.* The dual-active histamine H3 receptor antagonist and acetylcholine esterase inhibitor E100 ameliorates stereotyped repetitive behavior and neuroinflammation in sodium valproate induced autism in mice. *Chem. Biol. Interact.* **312**, 108775 (2019).
308. Javed, H., Azimullah, S. & Haque, M. E. Neuroprotective effect of nerolidol against neuroinflammation and oxidative stress induced by rotenone. *BMC Neurosci.* **17**, (2016).
309. Stasiak, A. *et al.* Effects of Novel Monoamine Oxidases and Cholinesterases Targeting Compounds on Brain Neurotransmitters and Behavior in Rat Model of Vascular Dementia. *Curr. Pharm. Des.* **20**, (2014).
310. Staszewski, M. *et al.* Design, synthesis, and: In vitro and in vivo characterization of 1-{4-[4-(substituted)piperazin-1-yl]butyl}guanidines and their piperidine analogues as histamine H3 receptor antagonists. *Med. Chem. Comm.* **10**, 234–251 (2019).
311. Lipinski, C. A., Lombardo, F. & Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **23**, 3–25 (1997).
312. Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N. & Wendoloski, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *J. Comb. Chem.* **1**, 55–68 (1999).
313. Bickerton, G. R. *et al.* Quantifying the chemical beauty of drugs. *Nat. Chem.* **4**, (2012).

## Abkürzungsverzeichnis

5-HTR	Serotoninrezeptor
5-HT	Serotonin, 5-Hydroxytryptamin
A $\beta$	Amyloid-Beta
AC	Adenylatcyclase
ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AChE-Inh.	Acetylcholinesterase-Inhibitoren
AChR	Acetylcholinrezeptoren
ACN	Acetonitril
AD	Morbus Alzheimer (engl.: Alzheimers Disease)
ALDH	Aldehyddehydrogenase
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazolpropionsäure
APCI	Atmospheric-pressure-chemical-Ionisation
APP	Amyloid Precursor Protein
ARE	Antioxidans Responsive Element
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
CAT	Katalase
CDK5	Cyclin-Dependent Protein Kinase-5
cGP	cyclisches Glycin-Prolin
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CRE	cAMP-Responsive-Element
CREB	cAMP-Responsive-Element-Binding-Protein
D <sub>2</sub> R	Dopaminrezeptor Typ 2
D <sub>3</sub> R	Dopaminrezeptor Typ 3
DA	Dopamin
DAG	Diacylglycerin
DAO	Diaminoxidase
DCM	Dichlormethan
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
Diboc	di- <i>tert</i> -Butydicarbonat
DMD	Disease Modifying Drug
DMF	Dimethylformamid
DMT	Disease Modifying Therapy
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure
DOPAL	3,4-Dihydroxyphenylelessigaldehyd
Drp1	Dynamamin-related-proteine

---

EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EMA	European Medicine Agency
EPS	extrapyramidale Störungen
ER	endoplasmatisches Reticulum
ESI	Elektronenspray-Ionisation
EtOH	Ethanol
FAD	Flavinadenindinukleotid
FDA	Food and Drug Administration
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
GDP	Guanosindiphosphat
GIRK	G-Protein-aktivierter Kaliumkanal
GRK	GPCR-Kinase
GPCR	G-Protein-coupled-Receptor
GPE	Glycin-Prolin-Asparaginsäure
G-Protein	GTP-bindendes Protein
GPx	Glutathionperoxidase
GST	Glutathion-S-Transferase
GSH	Glutathion
GSK3	Glykogen Synthase Kinase 3
GTP	Guanosintriphosphat
H <sub>1</sub> R	Histaminrezeptor Typ 1
H <sub>2</sub> R	Histaminrezeptor Typ 2
H <sub>3</sub> R	Histaminrezeptor Typ 3
H <sub>4</sub> R	Histaminrezeptor Typ 4
HDC	Histidindecaboxylase
HNMT	Histamin-N-Methyltransferase
HOBt	Hydroxybenztriazol
HVA	Homovanilinsäure
IGF <sub>1</sub>	Insulin-like-growth-Faktor 1
IGF <sub>1</sub> BP	Insulin-like-growth-Faktor 1 Bindungsprotein
IP <sub>3</sub>	Inositol-1,4,5-triphosphat
JNK	C-Jun amino-terminal kinase
LC-MS	Liquid-Chromatography-Mass-Spectrometry
LDA	Lithiumdiisopropylamid
L-DOPA	L-DOPA
MAO B	Monoaminoxidase B
MAP	Mikrotubuli-assoziierte Proteine
MAPK	Mitogen-Activated-Protein-Kinase
MeOH	Methanol
Mfn1/2	Mitofusin 1 /2
MTDL	Multi Target Directed Ligand

NAD(P)	Nicotinamidadeninukleotid (Phosphat)
NFT	Neurofibrillary-Tangles
NMDA	<i>N</i> -Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
NQO1	Quinonoxidreduktase
NRF2	Nukleärer-Faktor 2
PD	Morbus Parkinson (engl.: Parkinsons Disease)
PDPK	Prolin directed Protein Kinasen
PGC1 $\alpha$	PPAR $_{\gamma}$ coactivator 1 $\alpha$
PHF	Paired-helical-Filaments
PI <sub>3</sub> K	Phosphoinositid-3-Kinase
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PLC $_{\beta}$	Phospholipase C
pTau	Phosphoryliertes Tau
RNS	Reaktive Stickstoffspezies (engl.: Nitrogen)
ROESY	Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies (engl.: Oxygen)
RSS	Reaktive Schwefelspezies
RT	Raumtemperatur
SOD	Superoxiddismutase
SPR	Surface Plasmon Resonance
THF	Tetrahydrofuran
TMD	Transmembrandomän
ZNS	Zentrales Nervensystem



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Waage für oxidativen Stress; .....	4
Abbildung 2: Abbau des Amyloid Precursor Proteins (APP) .....	9
Abbildung 3: Kaskade der Alzheimerpathogenese; 10	
Abbildung 4: AD Therapieansätze: .....	11
Abbildung 5: IGF <sub>1</sub> Homöostase und Intervention mit NNZ-2591; .....	15
Abbildung 6: Dopaminerge Verschaltung in der Schizophrenie modifiziert nach Hahn <sup>88</sup> .....	17
Abbildung 7: Antipsychotika verschiedener Generationen .....	19
Abbildung 8: Biosynthese und Metabolisierung von Histamin, Histamin-Nomenklatur nach Black und Ganelli .....	22
Abbildung 9: Vergleich der Kristallstrukturen von GPCR .....	26
Abbildung 10: H <sub>1</sub> R-Antihistaminika der Generationen 1, 2A und 2B .....	28
Abbildung 11: Auswahl an zugelassenen H <sub>2</sub> R-Antagonisten .....	31
Abbildung 12: Effekte und Signalkaskaden vom H <sub>3</sub> R, nach Sadek et.al <sup>9</sup> .....	32
Abbildung 13: Synapse mit präsynaptischem H <sub>3</sub> R und postsynaptischen Histaminrezeptoren und nicht Histaminrezeptoren (nHR) .....	33
Abbildung 14: H <sub>4</sub> R-Liganden .....	34
Abbildung 15: Imidazolbasierte H <sub>3</sub> R-Liganden .....	35
Abbildung 16: SAR von nicht imidazolhaltigen H <sub>3</sub> R-Antagonisten .....	36
Abbildung 17: Biosynthese und Metabolismus von Dopamin .....	39
Abbildung 18: Strukturvergleich von D <sub>2</sub> R- und D <sub>3</sub> R-Agonisten, .....	43
Abbildung 19: Strukturvergleich von D <sub>2</sub> R- und D <sub>3</sub> R-Antagonisten, .....	45
Abbildung 20: Varianten eines MTDL, modifiziert nach Stark et al. <sup>4</sup> .....	51
Abbildung 21: 2,5-Diketopiperazingrundgerüst mit SAR nach Cornacchia et al. <sup>209</sup> .....	52
Abbildung 22: Leit- und Zielstrukturen, JNJ-Verbindung 53 .....	53
Abbildung 23: Retrosynthese der Zielstruktur .....	53
Abbildung 24: Arzneistoffe mit Piperazinstrukturelementen .....	54
Abbildung 25: Piperazinhaltige H <sub>3</sub> R-Antagonisten mit hH <sub>3</sub> R-K <sub>i</sub> -Werten <sup>212-214</sup> .....	55
Abbildung 26: Grundkörper der Piperazinderivate .....	55
Abbildung 27: Räumliche Struktur verschiedener 2,5-Diketopiperazine nach Borthwick <sup>207</sup> ..	61
Abbildung 28: 2,5-Diketopiperazine mit H <sub>3</sub> R-Pharmakophorelement .....	61
Abbildung 29: Isomerisierungen von Aminosäuren bei Peptidkopplungen .....	62
Abbildung 30: Tautomere Formen des Glycinanhydrids und des 1,4-Diacetylglycinanhydrids .....	65

Abbildung 31: N,N-Diacetylglycinanhydrid Strukturdarstellung mit Chem3D .....	68
Abbildung 32: ROESY- <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum von Verbindung <b>54</b> , 600MHz, DMSO-d <sub>6</sub> .....	69
Abbildung 33: Abwandlungen von 2,5-Diketopiperazinen zu 2-Ketopiperazinen.....	70
Abbildung 34: Umwandlung von Trofinitid® zu einem Piperazinderivat.....	78
Abbildung 35: Substitutionsmuster am Piperazin .....	82
Abbildung 36: Fusion der H <sub>3</sub> R- und D <sub>2</sub> R/ D <sub>3</sub> R-Strukturelemente.....	83
Abbildung 37: SAR nach Moritz et al <sup>244</sup> .....	86
Abbildung 38: Literatur-Referenzwerte für die Affinität zum hH <sub>3</sub> R, 90	
Abbildung 39: SPR-Sensorgramme und K <sub>D</sub> -Plot.....	103
Abbildung 40: In-vivo-Ergebnisse von <b>52e</b> , 104	
Abbildung 41: Literatur-Referenzwerte für die Affinität zum hD <sub>2</sub> R/ hD <sub>3</sub> R, 105	
Abbildung 42: Variationsindex des Y-Maze-Test, 108	
Abbildung 43: Zeit im Zentrum eines Open Field Tests, 109	
Abbildung 44: Ausgewählte 2,5-Diketopiperazine und K <sub>i</sub> -Werte am hH <sub>3</sub> R .....	112
Abbildung 45: Gestapelte Struktur von 2,5-Diketopiperazinen und die planar fixierte Struktur ungesättigter 2,5-Diketopiperazine .....	113
Abbildung 46: Ausgewählte α,β-ungesättigte 2,5-Diketopiperazine und deren Affinität zum hH <sub>3</sub> R .....	113
Abbildung 47: Ausgewählte 2-Ketopiperazine und Ciproxifan mit K <sub>i</sub> -Wert zum hH <sub>3</sub> R.....	114
Abbildung 48: Vorgeschlagene Interaktion in der H <sub>3</sub> R-Bindetasche von Verbindung <b>58</b> ....	115
Abbildung 49: C-substituierte Piperazine mit K <sub>i</sub> -Wert zum hH <sub>3</sub> R .....	115
Abbildung 50: Gemeinsames Strukturmerkmal der N-substituierte Piperazine .....	116
Abbildung 51: Erweitertes H <sub>3</sub> R-Pharmakophor für MTDL.....	117
Abbildung 52: Struktur und Affinitäten der Aβ <sub>(1-42)</sub> -interagierenden Strukturen, Thioflavin T und die Aminosäuresequenz von Aβ <sub>(1-42)</sub> .....	118
Abbildung 53: Struktur und Rezeptorprofil von Aripiprazol, Cariprazin, Verbindung <b>100</b> und <b>101</b> .....	121
Abbildung 54: H <sub>3</sub> R-Antagonist <b>52e</b> , <sup>13</sup> .....	124
Abbildung 55: SAR von Verbindung <b>58</b> .....	125
Abbildung 56: SAR von Verbindung <b>66</b> .....	126
Abbildung 57: SAR von Verbindung <b>101</b> .....	126

## Verzeichnis über die Reaktionsschemata

Schema 1: Synthese von H <sub>3</sub> -Pharmakophor-Vorstufen .....	57
Schema 2: Synthese von N-Boc- $\alpha$ -L-allylprolin, .....	58
Schema 3: Synthese von Piperazin-2,5-dion .....	59
Schema 4: Williamson-Ethersynthese mit Finkelstein-Austausch .....	60
Schema 5: Reaktionsmechanismus der EDC- und HOBt-vermittelten Amidbildung .....	63
Schema 6: Synthese von Verbindung <b>12</b> und <b>53-55</b> .....	66
Schema 7: Synthese von Verbindung <b>14</b> , <b>15</b> , <b>56</b> und <b>57</b> .....	67
Schema 8: Vorgeschlagener Reaktionsmechanismus der Aldol-Kondensation .....	68
Schema 9: Reduktion von Prolin zu Prolinal .....	71
Schema 10: Synthese von Verbindung <b>9a</b> , <b>9b</b> , <b>10</b> und <b>16-17</b> .....	72
Schema 11: Synthese von Verbindung <b>58</b> und <b>60</b> .....	72
Schema 12: Synthese von Verbindung <b>61</b> und <b>62</b> .....	73
Schema 13: Synthese von 2-Ketopiperazin .....	74
Schema 14: Synthese von Verbindung <b>63-66</b> .....	74
Schema 15: Synthese von Piperazinderivaten <b>67a</b> , <b>d</b> , <b>e</b> , <b>f</b> und <b>68</b> .....	75
Schema 16: Synthese von Verbindung <b>70</b> und <b>72</b> .....	77
Schema 17: Synthese von Verbindung <b>74-77</b> .....	78
Schema 18: Synthese von Verbindung <b>78</b> , <b>82</b> , <b>86</b> und <b>87</b> .....	79
Schema 19: Synthese von Allylprolinderivat <b>83</b> und <b>84</b> .....	79
Schema 20: Synthese von Verbindung <b>79-81</b> ; Strukturvergleich mit Rasagilin .....	80
Schema 21: Synthese von Verbindung <b>91-93</b> .....	80
Schema 22: Synthese von Zimtsäureamiden .....	81
Schema 23: Synthese des D <sub>2</sub> R/ D <sub>3</sub> R-Pharmakophors .....	84
Schema 24: Synthese von Verbindung <b>101-104</b> .....	84
Schema 25: Synthese von Verbindung <b>98</b> und <b>99</b> .....	85
Schema 26: Synthese von Vorstufen <b>29-32</b> und Endverbindung <b>104</b> .....	87
Schema 27: Synthese von Verbindung <b>105</b> und <b>106</b> .....	87

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über Arzneistoffkandidaten in der klinischen Testung für AD .....	13
Tabelle 2: Rezeptorprofile von Antipsychotika .....	21
Tabelle 3: Eigenschaften der Histaminrezeptoren.....	27
Tabelle 4: Interaktionen von H <sub>3</sub> R und Liganden .....	36
Tabelle 5: Eigenschaften der Dopamin Rezeptoren .....	41
Tabelle 6: Drehwerte von 2,5-Diketopiperazinen .....	64
Tabelle 7: Affinität von 2,5-Diketopiperazinen am hH <sub>3</sub> R .....	91
Tabelle 8: Affinität von $\alpha,\beta$ -ungesättigten 2,5-Diketopiperazinen am hH <sub>3</sub> R.....	93
Tabelle 9: Affinität von 2-Ketopiperazinen am hH <sub>3</sub> R .....	94
Tabelle 10: Affinität von C-substituierten Piperazinen am hH <sub>3</sub> R.....	95
Tabelle 11: Affinität von N-substituierte Piperazinen am hH <sub>3</sub> R.....	96
Tabelle 12: Affinität von Zimtsäureamiden und Analoga am hH <sub>3</sub> R.....	99
Tabelle 13: Referenzwerte für A $\beta$ -Aggregations-Inhibitoren .....	100
Tabelle 14: Affinität von 2,5-Diketopiperazinen und C-substituierten Piperazinen am hH <sub>3</sub> R und A $\beta$ <sub>1-42</sub> .....	101
Tabelle 15: K <sub>D</sub> -Werte z. A $\beta$ (1-42), K <sub>i</sub> -Werte z. hH <sub>3</sub> R von 2-Ketopiperazinen und N-substituierten Piperazinen .....	102
Tabelle 16: K <sub>i</sub> zum hH <sub>3</sub> R sowie K <sub>i</sub> zum hD <sub>2</sub> R/ hD <sub>3</sub> R von hD <sub>2</sub> R/ hD <sub>3</sub> R-Antagonisten .....	106
Tabelle 17: Rezeptor-Selektivität und Cholinesterase-Inhibition von Verbindung <b>101</b> .....	107
Tabelle 18: K <sub>i</sub> zum hH <sub>3</sub> R sowie K <sub>i</sub> zum hD <sub>2</sub> R/ hD <sub>3</sub> R von hD <sub>2</sub> R/ hD <sub>3</sub> R-Agonisten .....	107
Tabelle 19: Level an oxidativen und antioxidativen Spezies .....	110
Tabelle 20: Mögliche Interaktionen zwischen Ligand und A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> .....	118

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich versichere an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation von mir selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt wurde.

Die Dissertation wurde in der vorliegenden oder in einer ähnlicher Form bei keiner anderen Fakultät eingereicht. Es gab kein vorherige Promotionsversuche.

---

Düsseldorf, 16.03.2021

Markus Falkenstein

## Publikationsliste

### *Veröffentlicht*

N.Eissa, K.Venkatachalam, P.Jayaprakash, M.Falkenstein, M.Dubiel, A.Frank, D.Reiner-link, H.Stark, B.Sadek The Multi-Targeting Ligand ST-2223 with Histamine H<sub>3</sub> Receptor and Dopamine D<sub>2</sub> / D<sub>3</sub> Receptor Antagonist Properties Mitigates Autism-Like Repetitive Behaviors and Brain Oxidative Stress in Mice. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 1947 (2021)

M.Falkenstein, H.Stark Sartane: Beratungswissen zu Wirkungen, Nebenwirkungen und Interaktionen *Deutsche Apotheker Zeitung* **11** 160 (2020)

M.Falkenstein, H.Stark Hilfe für die wenigen-Noch immer fehlen Orphan Drugs *Deutsche Apotheker Zeitung* **34** 158 (2018)

### *Manuskriptform*

M.Falkenstein [...] D.Willbold, H.Stark Histamine H<sub>3</sub> receptor antagonists with peptidomimetic structure to inhibit A $\beta$  oligomerisation

M.Falkenstein, M.Elek, H.Stark Chemical probes for histamine receptor subtypes (Review)

H.Stark, G.Radau, A.Link, M.Falkenstein Arbeitsbuch Arzneistoffsynthese (Lehrbuch)