

Bispidin-Derivate als neue
nicotinische Acetylcholinrezeptor-Liganden:
Synthese, In-vitro-Pharmakologie und
Struktur-Wirkungsbeziehungen

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Christoph Eibl

aus Köln

Bonn 2009

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Daniela Gündisch
2. Gutachter: Prof. Dr. Christa E. Müller

Tag der Promotion: 08. Juli 2009

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulserver der ULB Bonn <http://hss.uni-bonn.de/diss-online> elektronisch publiziert.

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Januar 2006 bis März 2009 in der Abteilung Pharmazeutische Chemie des Pharmazeutischen Institutes der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Daniela Gündisch durchgeführt.

Ich danke Frau Prof. Dr. Daniela Gündisch sehr herzlich für die wissenschaftliche Betreuung dieser Arbeit und für ihre hervorragende Unterstützung.

Mein herzlicher Dank gilt ebenfalls Frau Prof. Dr. Christa E. Müller für die freundliche Übernahme des Koreferates.

Für Oxana

Ist man in kleinen Dingen nicht geduldig,
bringt man die großen Vorhaben zum Scheitern.

(Konfuzius, chinesischer Philosoph, 551 - 479 v. Chr.)

1	EINLEITUNG	1
1.1	Der nicotinic Acetylcholinrezeptor	1
1.2	Pathologien	9
1.3	Modulatoren	14
1.4	Pharmakophormodelle	27
2	ZIELSETZUNG DER ARBEIT	33
3	PROJEKT I: SYNTHESE NEUER BISPIDIN-DERIVATE	39
3.1	Allgemeine Bispidinsynthesen und Bispidinderivate	39
3.2	Zielstruktur und Retrosynthese	44
3.3	Synthese der Zielstrukturen	47
3.3.1	Synthese von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon	87
3.3.2	Synthese von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidin	88
3.3.3	Synthese von N-tBoc-Bispidin	93
3.3.4	Derivatisierung von N-tBoc-Bispidin	93
3.3.4.1	Synthese von N-tBoc-Bispidincarbonsäureamiden	99
3.3.4.2	Synthese von N-tBoc-Bispidinsulfonsäureamiden	114
3.3.4.3	Synthese von N-tBoc-Bispidinarnstoffen	118
3.3.5	Abspaltung der tBoc-Schutzgruppe	62
3.3.6	Fällung als Fumarat	63
3.4	Analytik der neue synthetisierten Bispidin-Derivate	65
3.5	Stabilitätstest	69
3.6	Zusammenfassung der Bispidin-Synthesen	71
4	PROJEKT II: SYNTHESE VON CYTISIN-DERIVATEN	73
4.1	(-)-Cytisin	73
4.2	Struktur-Wirkungsbeziehungen von Cytisin-Derivaten	77
4.3	Cytisin und Depressionen	80
4.4	Isolierung von (-)-Cytisin	81

II Inhaltsverzeichnis

4.5	Synthese von N-<i>t</i>Boc-Cytisin	83
4.6	Bromierung von N-<i>t</i>Boc-Cytisin	84
4.7	Synthese mit Mikrowellenstrahlung	85
4.8	Suzuki-Miyaura-Reaktion	88
4.9	Abspaltung der <i>t</i>Boc-Schutzgruppe	92
4.10	Zusammenfassung der Cytisin-Synthesen	93
5	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	95
5.1	<u>Projekt I:</u> Radioligand-Bindungsstudien und Struktur-Wirkungsbeziehungen neuer Bispidin-Derivate	95
5.1.1	N-Benzyl-Bispidin 92 und N- <i>t</i> Boc-Bispidin 93	97
5.1.2	Aliphatisch und cycloaliphatisch substituierte Bispidinamide 144-149	98
5.1.3	Benzoyl-Bispidin 150 und Ortho-substituierte Benzoyl-Bispidinamide 151-154	100
5.1.4	Meta-substituierte Benzoyl-Bispidinamide 155-158	102
5.1.5	Para-substituierte Benzoyl-Bispidinamide 159-166	104
5.1.6	Disubstituiertes Benzoyl-Bispidinamid 167	107
5.1.7	Heteroarylcarbonsäurebispidinamide 168-178	108
5.1.8	Unsubstituierte oder substituierte Cinnamoylbispidinamide 179-186	112
5.1.9	Heteroaromatisch-substituierte Acryloylbispidinamide 187-190	115
5.1.10	Unterschiedlich substituierte und unsubstituierte aromatische oder heteroaromatische Carbonsäure-Bispidinamide 191-199	116
5.1.11	Bispidinsulfonamide 201-206	120
5.1.12	Bispidinarnstoffe 207-209	122
5.1.13	Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen	123
5.2	<u>Projekt II:</u> Funktionelle Testung und in-vivo-Studien von Cytisin-Derivaten	128
6	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	131
7	EXPERIMENTELLER TEIL	141
7.1	Allgemeine Angaben	141
7.2	Synthese von Bispidin-Zwischenprodukten	145
7.2.1	N-Benzyl-N'- <i>t</i> Boc-Bispidinon 88	145
7.2.2	N-Benzyl-N'- <i>t</i> Boc-Bispidin 89	146
7.2.3	N-Benzyl-Bispidin Fumarat 92	148
7.2.4	N- <i>t</i> Boc-Bispidin Fumarat 93	149

7.2.5	N-Carbonylimidazol-N'- <i>t</i> Boc-Bispidin	108	150
7.2.6	N-Carbonylimidazol-pyrrolidin	116a	151
7.2.7	N-Carbonylimidazol-morpholin	116b	152
7.2.8	N-Carbonylimidazol-4-benzylpiperidin	116c	153
7.3	Allgemeine Arbeitsvorschriften für Bispidin-Derivate		154
7.3.1	Allgemeine Arbeitsvorschrift 1 (AAV 1) zur Synthese von N-substituierten N'- <i>t</i> Boc-Bispidin-Derivaten		154
7.3.2	Allgemeine Arbeitsvorschrift 2 (AAV 2) zur Synthese von N-substituierten N'- <i>t</i> Boc-Bispidin-Derivaten		154
7.3.3	Allgemeine Arbeitsvorschrift 3 (AAV 3) zur Synthese von N-substituierten N'- <i>t</i> Boc-Bispidin-Derivaten		154
7.3.4	Allgemeine Arbeitsvorschrift 4 (AAV 4) zur <i>t</i> Boc-Entschützung von N-substituierten N'- <i>t</i> Boc-Bispidin-Derivaten		155
7.3.5	Allgemeine Arbeitsvorschrift 5 (AAV 5) zur <i>t</i> Boc-Entschützung von N-substituierten N'- <i>t</i> Boc-Bispidin-Derivaten		155
7.3.6	Allgemeine Arbeitsvorschrift 6 (AAV 6) zum Fällen von N-substituierten Bispidin-Derivaten als Fumarat		155
7.3.7	Allgemeine Arbeitsvorschrift 7 (AAV 7) zum Fällen von N-substituierten Bispidin-Derivaten als Fumarat		155
7.4	Synthese der Bispidin-Derivate		157
7.4.1	Acetyl-Bispidin Fumarat	144	157
7.4.2	Propionyl-Bispidin Fumarat	145	158
7.4.3	Butyryl-Bispidin Fumarat	146	159
7.4.4	Isobutyryl-Bispidin Fumarat	147	160
7.4.5	Cylopentanoyl-Bispidin Fumarat	148	161
7.4.6	Cyclohexanoyl-Bispidin Fumarat	149	162
7.4.7	Benzoyl-Bispidin Fumarat	150	163
7.4.8	o-Methylbenzoyl-Bispidin Fumarat	151	164
7.4.9	o-Chlorbenzoyl-Bispidin Fumarat	152	165
7.4.10	o-Iodbenzoyl-Bispidin Fumarat	153	166
7.4.11	o-Nitrobenzoyl-Bispidin Fumarat	154	167
7.4.12	m-Fluorbenzoyl-Bispidin Fumarat	155	168
7.4.13	m-Chlorbenzoyl-Bispidin Fumarat	156	169
7.4.14	m-Trifluormethylbenzoyl-Bispidin Fumarat	157	170
7.4.15	m-Nitrobenzoyl-Bispidin Fumarat	158	171
7.4.16	p-Methylbenzoyl-Bispidin Fumarat	159	172
7.4.17	p- <i>tert</i> -Butylbenzoyl-Bispidin Fumarat	160	173
7.4.18	4-Biphenoyl-Bispidin Fumarat	161	174
7.4.19	p-Fluorbenzoyl-Bispidin Fumarat	162	175
7.4.20	p-Chlorbenzoyl-Bispidin Fumarat	163	176
7.4.21	p-Brombenzoyl-Bispidin Fumarat	164	177

IV Inhaltsverzeichnis

7.4.22	p-Nitrobenzoyl-Bispidin Fumarat	165	178
7.4.23	p-Cyanobenzoyl-Bispidin	166	179
7.4.24	o,p-Dimethoxybenzoyl-Bispidin Fumarat	167	180
7.4.25	Nicotinoyl-Bispidin Fumarat	168	181
7.4.26	2-Pyrazinoyl-Bispidin Fumarat	169	182
7.4.27	5-Bromnicotinoyl-Bispidin Fumarat	170	183
7.4.28	2-Furanoyl-Bispidin Fumarat	171	184
7.4.29	2-Thiophenoyl-Bispidin Fumarat	172	185
7.4.30	2-Methylpyrroloyl-Bispidin Fumarat	173	186
7.4.31	2-Indoloyl-Bispidin Fumarat	174	187
7.4.32	3-Indoloyl-Bispidin Fumarat	175	188
7.4.33	2-Chinolinoyl-Bispidin Fumarat	176	189
7.4.34	4-Chinolinoyl-Bispidin Fumarat	177	190
7.4.35	6-Chinolinoyl-Bispidin Fumarat	178	191
7.4.36	Cinnamoyl-Bispidin Fumarat	179	192
7.4.37	1-Naphthylacryloyl-Bispidin Fumarat	180	193
7.4.38	o-Methoxycinnamoyl-Bispidin Fumarat	181	194
7.4.39	m-Chlorcinnamoyl-Bispidin Fumarat	182	195
7.4.40	m-Bromcinnamoyl-Bispidin Fumarat	183	196
7.4.41	m-Nitrocinnamoyl-Bispidin Fumarat	184	197
7.4.42	p-Methoxycinnamoyl-Bispidin Fumarat	185	198
7.4.43	3,4-Dimethoxolancinnamoyl-Bispidin Fumarat	186	199
7.4.44	4-Pyridylacryloyl-Bispidin Fumarat	187	200
7.4.45	3-(Furan-2-yl)acryloyl-Bispidin Fumarat	188	201
7.4.46	3-(Thiophen-2-yl)acryloyl-Bispidin Fumarat	189	202
7.4.47	3-(Thiophen-3-yl)acryloyl-Bispidin Fumarat	190	203
7.4.48	1-Naphthoyl-Bispidin Fumarat	191	204
7.4.49	2-Naphthoyl-Bispidin Fumarat	192	205
7.4.50	Phenylacetyl-Bispidin Fumarat	193	206
7.4.51	Phenylpropionyl-Bispidin Fumarat	194	207
7.4.52	3,4,5-Trimethoxyphenylpropionyl-Bispidin Fumarat	195	208
7.4.53	(3-Methylisoxazol-5-yl)-acetyl-Bispidin Fumarat	196	209
7.4.54	Flurbiprofenoyl-Bispidin Fumarat	197	210
7.4.55	2-Phenylcyclopropanoyl-Bispidin Fumarat	198	211
7.4.56	N-o-Chlorphenoxyacetyl-Bispidin Fumarat	199	212
7.4.57	Mesyl-Bispidin	201	213
7.4.58	Phenylsulfonyl-Bispidin	202	214
7.4.59	Tosyl-Bispidin	203	215
7.4.60	p-Nitrophenylsulfonyl-Bispidin	204	216
7.4.61	p-Cyanophenylsulfonyl-Bispidin	205	217
7.4.62	m-Cyanophenylsulfonyl-Bispidin	206	218
7.4.63	Pyrrolidincarbonyl-Bispidin Fumarat	207	219
7.4.64	Morpholincarbonyl-Bispidin Fumarat	208	220

7.4.65	4-Benzylpiperidincarbonyl-Bispidin Fumarat 209	221
7.5	Stabilitätstest der Bispidin-Derivate	222
7.6	Gewinnung von (-)-Cytisin und Synthese von Zwischenprodukten	223
7.6.1	Isolierung von (-)-Cytisin 34	223
7.6.2	Synthese von N- <i>t</i> Boc-Cytisin 138	225
7.6.3	Bromierung von N- <i>t</i> Boc-Cytisin	227
7.6.4	3-Brom-N- <i>t</i> Boc-Cytisin 139	228
7.6.5	5-Brom-N- <i>t</i> Boc-Cytisin 140	229
7.7	Allgemeine Arbeitsvorschriften für Cytisin-Derivate	230
7.7.1	Allgemeine Arbeitsvorschrift 8 (AAV 8) zur Synthese von substituierten <i>t</i> Boc-geschützten Cytisin-Derivaten mittels Suzuki-Miyaura Kreuzkupplung	230
7.7.2	Allgemeine Arbeitsvorschrift 9 (AAV 9) zur Aufreinigung von <i>t</i> Boc-geschützten Cytisin-Derivaten mittels präparativer HPLC	230
7.7.3	Allgemeine Arbeitsvorschrift 10 (AAV 10) zur <i>t</i> Boc-Entschützung von substituierten N- <i>t</i> Boc-Cytisin Derivaten	230
7.8	Synthese der Cytisin-Derivate	231
7.8.1	3-Br-Cytisin 126	231
7.8.2	5-Br-Cytisin 52	232
7.8.3	3-(Pyridin-3-yl)-N- <i>t</i> Boc-Cytisin 141	233
7.8.4	5-(Pyridin-3-yl)-N- <i>t</i> Boc-Cytisin 142	234
7.8.5	3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin 53	235
7.8.6	5-(Pyridin-3-yl)-Cytisin 54	236
7.9	Radioligand-Bindungsstudien	237
7.9.1	Geräte und Materialien	237
7.9.2	Durchführung der Membranpräparationen	239
7.9.3	Durchführung der Radioligand-Bindungsstudien	240
7.9.4	Auswertung der Radioligand-Bindungsstudien	242
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	243
9	LITERATURVERZEICHNIS	249

1 Einleitung

1.1 Der nicotinsche Acetylcholinrezeptor

Der nicotinsche Acetylcholinrezeptor (nAChR) ist ein ligandgesteuerter Ionenkanal (LGIC), der zusammen mit dem γ -Aminobuttersäure GABA_{A} -, dem GABA_{C} -, dem Glycin- und dem Serotonin 5-HT_3 -Rezeptor zur Unterfamilie der Cys-loop Rezeptoren gehört.^{1, 2} Als gemeinsames Strukturmerkmal besitzen sie in ihrem N-terminalen Ende eine Disulfidbrücke, die eine 15 Aminosäuren lange Schleife bildet, welche Cys-loop genannt wird.³ Die verschiedenen Untereinheiten dieser Rezeptorfamilie weisen eine hohe Sequenzhomologie von 30-70 % auf, wobei die Übereinstimmung der Aminosäuresequenz bei den α -Untereinheiten am größten ist.⁴

Aufgebaut sind die verschiedenen Untereinheiten des Rezeptors aus einem hydrophilen, extrazellulären N-Terminus, 4 transmembranären Domänen (M1-M4), einer größeren intrazellulären Schleife zwischen den Domänen M3 und M4 sowie einem kurzen, hydrophilen C-Terminus (s. Abb. 1.1a).^{5, 6} Der N-Terminus enthält neben dem Cys-loop auch die orthosterische Bindungsstelle für Agonisten und kompetitive Antagonisten. Die vier transmembranären Domänen M1-M4 stellen lipophile Segmente der Aminosäuresequenz dar, wobei hydrophilere Teile der M2-Domäne die Wand des Ionenkanals bilden. Durch die jeweilige Zusammensetzung der Aminosäuren wird bestimmt, welche Ionen den Kanal passieren können.⁶⁻⁹ Die intrazelluläre Schleife enthält einige Phosphorylierungsstellen, die bei der Modulation der Rezeptorfunktion eine Rolle spielen.^{10, 11}

Der nAChR stellt ein integrales Membranprotein dar, das sich aus fünf Untereinheiten zusammensetzt. Diese ordnen sich in der Membran rund um eine wassergefüllte Pore an und bilden einen kationenselektiven Ionenkanal, welcher senkrecht zur Zellmembran verläuft (s. Abb. 1.1b und c).^{2, 5, 6} Der Rezeptor ist etwa 100-140 Å lang und 70-80 Å breit. Ein größerer Teil von etwa 60 Å ragt in den Extrazellulärraum hinaus und etwa 15 Å ragen in den Intrazellulärraum hinein.⁶ Durch die Bindung eines Agonisten kommt es zu einer Reihe von Konformationsänderungen, die schließlich zu einer leichten Rotation der M2-Domäne führen und damit die Eigenschaften der Ionenpore so ändern, dass es zu einem Einstrom von Kationen kommen kann.¹²

2 | Einleitung

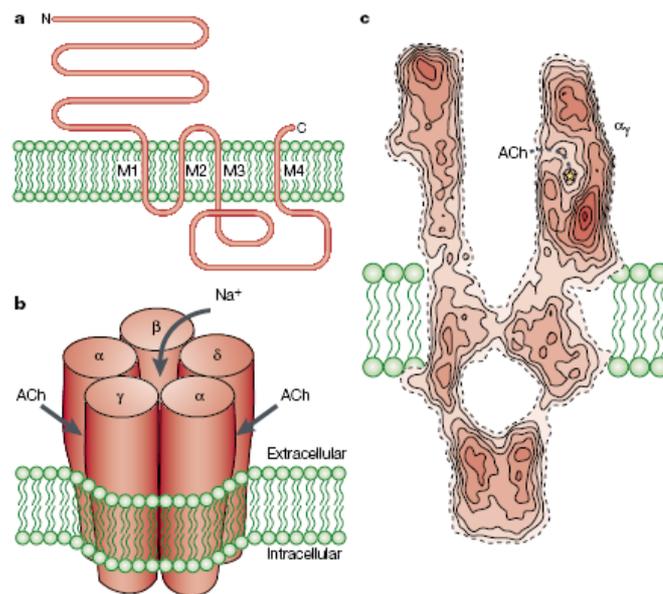


Abb. 1.1: Schematische Struktur und Aufbau des nAChR (muskulärer Subtyp)²
a) Schematische Darstellung einer Untereinheit des nAChR
b) Schematische Darstellung des nAChR (muskulärer Subtyp) in seiner quaternären Struktur in einer Membran
c) Längsschnitt einer elektronenmikroskopischen Aufnahme (Auflösung 4.6 Å) des nAChR von *Torpedo californica* von Miyazawa *et al.*¹³

Zum heutigen Zeitpunkt sind 17 Gene bekannt, die die verschiedenen Untereinheiten ($\alpha 1$ - $\alpha 10$, $\beta 1$ - $\beta 4$, γ , δ und ϵ) kodieren.¹⁴⁻¹⁶ Die α -Untereinheiten, die die primär ligandbindenden Untereinheiten darstellen, besitzen im N-Terminus eine weitere Disulfidbrücke zweier benachbarter Cysteinreste, die sie von den anderen Untereinheiten (β , γ , δ und ϵ) unterscheidet.⁶ Theoretisch wäre eine riesige Anzahl an unterschiedlichen Kombinationen von je fünf Untereinheiten möglich, doch nur bestimmte Kombinationen bilden auch funktionierende Ionenkanäle.¹⁷

Die nAChR lassen sich in zwei Gruppen einteilen: den muskulären nAChR und die neuronalen nAChR.¹ Der **muskuläre nAChR** kommt in den neuromuskulären Endplatten vor und vermittelt dort die Übertragung von Nervenimpulsen auf die Muskelzellen. Man kann dabei zwei unterschiedliche Formen unterscheiden. In fetalem Gewebe liegt die $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ Form vor, während in adultem Gewebe die γ -Untereinheit gegen eine ϵ -Untereinheit ausgetauscht wird und die $(\alpha 1)_2\beta 1\epsilon\delta$ Form vorliegt (s. Abb. 1.2).^{16, 18, 19} Durch das reiche Vorkommen von Acetylcholinrezeptoren im elektrischen Organ des Zitterrochen *Torpedo* und seiner großen Ähnlichkeit zur fetalen Form $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ des humanen nAChR, ist der muskuläre Rezeptorsubtyp relativ gut charakterisiert.²⁰ Er besitzt zwei Bindungsstellen für Agonisten im extrazellulären N-Terminus, jeweils an der Grenzfläche zwischen einer $\alpha 1$ -Untereinheit und einer benachbarten δ - oder γ bzw. ϵ -Untereinheit.²¹

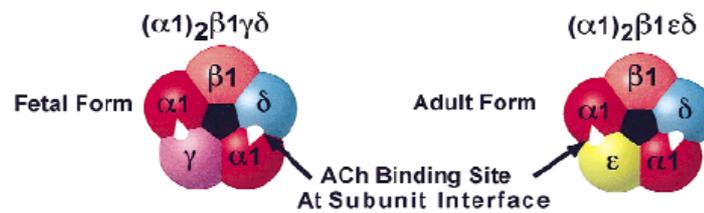


Abb. 1.2: Darstellung der zwei Formen des muskulären nAChR²²

Die zweite Gruppe stellen die **neuronalen nAChR** dar. Diese können aus Kombinationen von neun α - ($\alpha 2$ - $\alpha 10$) und drei β -Untereinheiten ($\beta 2$ - $\beta 4$) bestehen, allerdings sind nur bestimmte Kombinationen möglich. Nach ihrer Fähigkeit, α -Bungarotoxin (α -Bgtx) zu binden, lassen sich innerhalb der neuronalen nAChR zwei Untergruppen bilden. Die erste Untergruppe bindet kein α -Bgtx und bildet Heteromere, die hauptsächlich aus den Untereinheiten $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$ sowie $\beta 2$, $\beta 4$ und meistens in einem Verhältnis aus zwei α - und drei β -Untereinheiten zusammengesetzt sind (s. Abb. 1.3).²³⁻²⁵ Die Untereinheiten $\alpha 5$ und $\beta 3$ kommen selten und nur in Kombination mit den zuerst genannten Untereinheiten in Rezeptoren vor, in denen sie eine β -Untereinheit ersetzen. Sie sind alleine nicht in der Lage, funktionsfähige Rezeptoren zu bilden.^{24, 26} Auch die $\alpha 6$ -Untereinheit kommt selten vor und bildet nur in Verbindung mit mindestens zwei β -Untereinheiten funktionsfähige Rezeptoren.²⁷ Diese heteromeren Rezeptoren besitzen ebenfalls zwei Bindungsstellen für Agonisten an der Grenzfläche zwischen einer α - und einer β -Untereinheit.

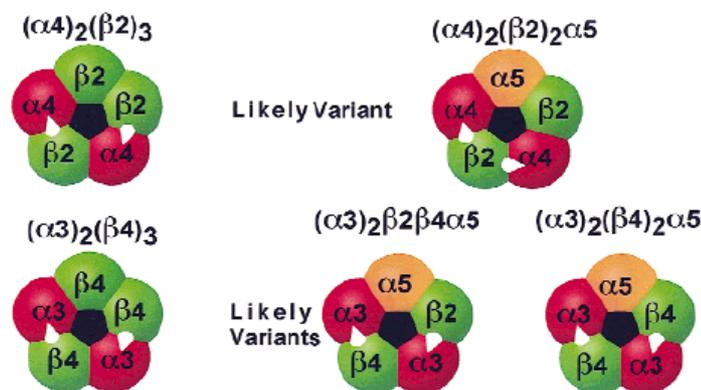


Abb. 1.3: Darstellung der heteromeren Formen der neuronalen nAChR²²

Die zweite Untergruppe der neuronalen nAChR, die sensitiv gegenüber α -Bgtx ist, bildet Homopentamere aus $\alpha 7$ -, $\alpha 8$ - oder $\alpha 9$ -Untereinheiten, sowie seltener Heteropentamere aus Kombinationen von $\alpha 7\alpha 8$ oder $\alpha 9\alpha 10$.²⁸ Die $\alpha 8$ -Untereinheit wurde bisher nur in Vögeln gefunden²⁹ und die $\alpha 10$ -Untereinheit konnte nur funktionierende Ionenkanäle bilden, wenn sie gleichzeitig mit der $\alpha 9$ -Untereinheit exprimiert wird.^{30, 31} Diese Rezeptoren besitzen z. T. andere pharmakologische Eigenschaften, wie ein schnelleres Desensibilisierungsverhalten oder eine höhere Permeabilität für Calciumionen.^{32, 33} Außerdem besitzen homopentamere $\alpha 7^*$ -Rezeptoren fünf gleichwertige Bindungsstellen für Agonisten (s. Abb. 1.4).³⁴

4 | Einleitung

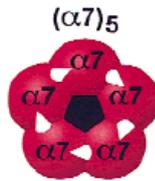


Abb. 1.4: Darstellung eines homopentameren $\alpha 7^*$ -nAChR²²

Die Acetylcholin-Bindungsstelle

Mit unterschiedlichen experimentellen Ansätzen, wie Photoaffinitätsmarkierungen oder Mutagenesestudien, konnte gezeigt werden, dass die α -Untereinheit hauptsächlich für die Bindung von orthosterischen Liganden (principal component) verantwortlich ist.¹⁸ Die Bindungsstelle befindet sich an der Grenzschicht der α -Untereinheit zur Nachbaruntereinheit, die ebenfalls an der Bindung beteiligt ist (complementary component). Auf der Seite der α -Untereinheit sind drei Schleifen (loop A, B, C) für die Bildung der Bindungsstelle verantwortlich. In deren Nähe befinden sich auch die zwei benachbarten Cysteinreste der α -Untereinheiten (s. Abb. 1.5).^{6, 35} Für den muskulären Subtyp bilden vier Schleifen (loop D, E, F, G) die Begrenzung der Bindungstasche der nicht- α -Untereinheit. Die Schleifen bestehen aus aromatischen Aminosäuren, wie z. B. Tyrosin und Tryptophan, und sind, zusammen mit den zwei benachbarten Cysteinresten, hoch konservierte Bereich in den entsprechenden Gensequenzen.^{2, 15} Diese Daten bestätigen, dass es während der Bindung eines Agonisten zu einer Kation- π -Wechselwirkung kommt.³⁶

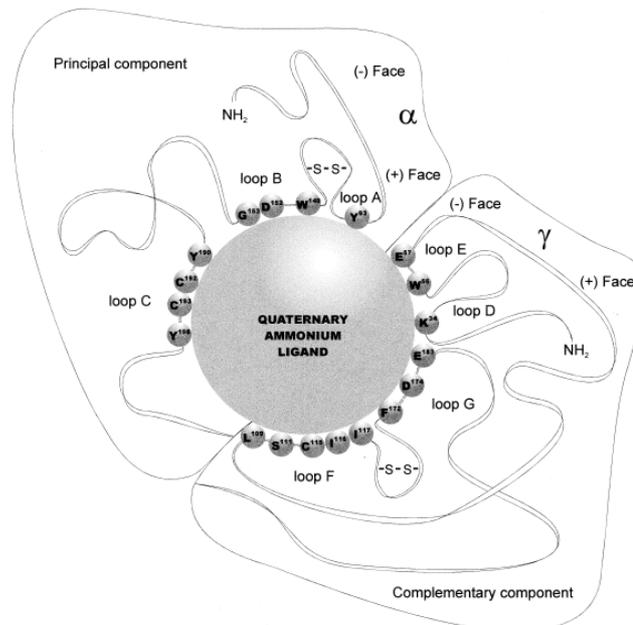


Abb. 1.5: Schematische Darstellung der Acetylcholin-Bindungsstelle des muskulären Subtyps⁶

Für den muskulären Subtyp ergeben sich durch diese Erkenntnisse zwei unterschiedliche Bindungsstellen, die nicht identisch sind. Der endogene Ligand Acetylcholin (ACh) **1** (Formel siehe Abb. 1.8) besitzt eine hohe Affinität zur Bindungsstelle zwischen der α - und der δ -Untereinheit, jedoch nur eine niedrige Affinität zur Bindungsstelle zwischen der α - und der γ -Untereinheit.³⁷ Für die Aktivierung bzw. Öffnung des Ionenkanals müssen beide Bindungsstellen besetzt sein.

Dieses Wissen über die Acetylcholin-Bindungsstelle wurde durch die Entdeckung und die Aufklärung der Kristallstruktur des Acetylcholin-Bindungsprotein (AChBP) bestätigt (s. Abb. 1.6).³⁸ Bei dem AChBP handelt es sich um ein lösliches, homopentameres Homolog zu der N-terminalen Aminosäuresequenz des nAChR. Es wird von Gliazellen der Süßwasserschnecke *Lymnaea stagnalis* (Lymnaeidae) in den synaptischen Spalt abgegeben, wodurch wahrscheinlich die Konzentration an freiem ACh **1** moduliert wird. Auch im AChBP sind Bindungstaschen zwischen den Untereinheiten erkennbar, die ebenfalls durch mehrere Schleifen aus aromatischen Aminosäuren aufgebaut ist.³⁹

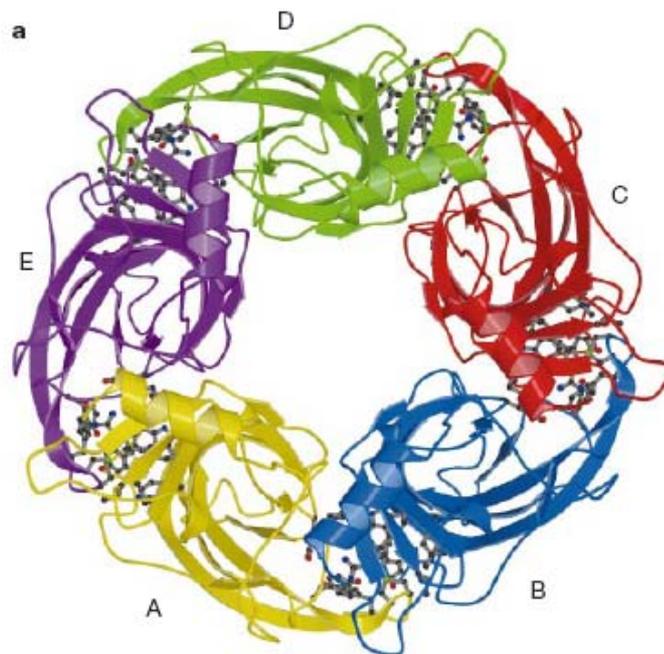


Abb. 1.6: Das AChBP in der Aufsicht. Darstellung der fünf Untereinheiten A-E mit unterschiedlichen Farben³⁹

Allosterische Bindungsstellen

Neben diesen orthosterischen Bindungsstellen existiert eine Reihe weiterer, so genannter allosterischer Bindungsstellen am nAChR, welche im Zusammenhang mit den allosterischen Modulatoren in Kapitel 1.3 besprochen werden.

Rezeptorkonformationen

Der nAChR ist ein allosterisches Rezeptorprotein, welches in verschiedenen Konformationen vorkommen kann und zwischen denen ein Gleichgewicht herrscht.⁴⁰ Durch die Bindung eines Agonisten kommt es zu einer Konformationsänderung, wobei der Rezeptor sehr schnell (wenige Millisekunden) aus einem geschlossenen Ruhezustand in einen aktiven, offenen Zustand überführt wird. Zum offenen Rezeptorzustand hat der Agonist nur noch eine geringe Affinität. Dieses Verhalten kann durch das Monod-Wyman-Changeux-Modell der allosterischen Interaktion beschrieben werden.⁴¹ Durch eine Konformationsänderung des Rezeptorproteins kommt es zur Öffnung des Ionenkanals, wodurch Kationen wie Na^+ oder Ca^{2+} entlang ihres Konzentrationsgradienten in die Zelle einströmen können und zu einer Depolarisierung der Zellmembran führen (s. Abb. 1.7). Nach der Öffnung des Ionenkanals kann es durch die Bindung eines Agonisten zu weiteren Konformationsänderung in einen oder mehrere geschlossene, desensibilisierte (refraktäre) Zustände kommen, in denen der Rezeptor nicht mehr aktivierbar ist (s. Abb. 1.7). Durch eine anhaltende Exposition des Rezeptors mit einem Agonisten kann es sogar zu einer vollständigen Inaktivierung kommen. Aus diesem Zustand kehrt der Rezeptor nur sehr langsam in den aktivierbaren Ruhezustand zurück (s. Abb. 1.7).^{42, 43} Neben diesem vereinfachten Modell werden noch eine Reihe weiterer Zustände bzw. Rezeptorkonformationen vermutet.

Die Rolle, die die Desensibilisierung unter physiologischen Bedingungen spielt, ist nicht restlos geklärt.⁴⁴ Es existieren jedoch Hinweise, dass Veränderungen der Rezeptorzustände Ursache für verschiedene Krankheiten, wie Myasthenia gravis oder bestimmte Formen der Epilepsie, sein könnten.⁴⁵

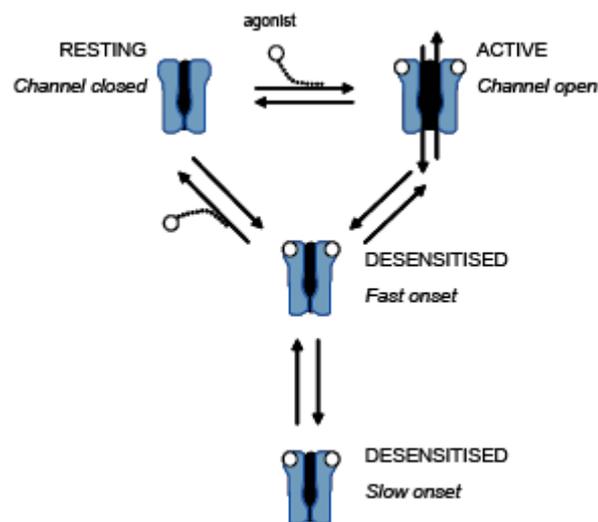


Abb. 1.7: Schematische Darstellung der verschiedenen Rezeptorkonformationen¹

Rezeptordichte

Die längere Exposition eines Rezeptors gegenüber Agonisten führt i. d. R. zu einer Abnahme der Rezeptordichte (down-regulation), wohingegen bei längerer Exposition mit Antagonisten eine Zunahme der Rezeptordichte beobachtet werden kann.⁴⁶ Beim nAChR wird jedoch das Gegenteil beobachtet. Die chronische Gabe eines Agonisten, z. B. von Nicotin **17**, führt zu einer erhöhten Rezeptordichte im Hirngewebe. Dabei scheinen der $\alpha 4\beta 2^*$ - und der $\alpha 7^*$ -Rezeptor besonders sensibel auf die chronische Gabe von Agonisten zu reagieren, denn ihre Rezeptordichte wird besonders erhöht, verglichen beispielsweise mit $\alpha 3$ -enthaltenden Rezeptoren.⁴⁷ Durch die chronische Gabe eines Agonisten kommt es jedoch funktionell zu einer Abnahme der Aktivität des nAChR, trotz erhöhter Rezeptordichte. Es wird vermutet, dass dieser Effekt mitverantwortlich für die Toleranzentwicklung von Nicotin **17** bei Rauchern ist.⁴⁸

Es gibt zwei Theorien, die versuchen, eine Erklärung für das Phänomen der erhöhten Rezeptordichte zu geben. Die „conformational equilibrium“-Theorie postuliert, dass der nAChR in zwei unterschiedlichen Rezeptorkonformationen vorliegen kann, mit einer niedrigen und einer hohen Affinität für Agonisten. Die chronische Gabe eines Agonisten würde demnach zu einer Verschiebung des Gleichgewichtes führen, so dass es einen prozentual höheren Anteil an hochaffinen Rezeptoren gibt. Der „ligand-locked receptor“-Theorie nach werden nAChR relativ schnell von der Zellmembran durch Endozytose recycelt. Durch die chronische Gabe von Agonisten würde sich dieser Prozess verlangsamen und es käme allmählich zu einem vermehrten Einbau von bereits fertigen Rezeptoren aus submembranären Pools, die hochaffine Rezeptoren darstellen.⁴⁹ Die diesen Effekten zugrunde liegenden Mechanismen werden bisher jedoch noch zu wenig und nicht in allen Einzelheiten verstanden.

Rezeptorverteilung in unterschiedlichen Geweben

Die Verteilung der nAChR in verschiedenen Geweben kann mit unterschiedlichen Methoden untersucht werden, z. B. mit radioaktiv markierten Liganden, spezifischen Antikörpern, in situ Hybridisierung oder Knock-out-Mäusen.

Die Untereinheiten $\alpha 1$, $\beta 1$, δ und γ bzw. ϵ konnten bisher nur in den postsynaptischen Bereichen der neuromuskulären Endplatten gefunden werden, wo sie den **muskulären Rezeptorsubtyp** bilden und an der Weiterleitung von Aktionspotentialen vom Nerv auf die Muskelzelle beteiligt sind. Wegen der hohen Konzentration dieses Rezeptors im elektrischen Organ des Zitterrochen *Torpedo californica*, war es möglich, seine Struktur sowie seine Funktion genau zu untersuchen.^{20, 50}

In den autonomen Ganglien des peripheren Nervensystems (PNS) sind die nAChR an der Weiterleitung von Signalen beteiligt. Dort lassen sich größere Mengen an mRNA für $\alpha 3$ - und $\beta 4$ -Untereinheiten finden, sowie kleinere Mengen an mRNA für $\alpha 4$ -, $\alpha 5$ -, $\alpha 7$ - und $\beta 2$ -

8 | Einleitung

Untereinheiten.⁵¹⁻⁵³ Im intrakardialen Ganglion konnten mindestens zwei verschiedene Subtypen festgestellt werden, der $\alpha 3\beta 4^*$ - und der $\alpha 7^*$ -Rezeptorsubtyp.⁵⁴

Die komplexeste Verteilung von Untereinheiten des nAChR findet sich im ZNS. Durch die Untersuchung von $\beta 2$ -Knock-out- und Wild-Typ-Mäusen mit verschiedenen Radioliganden und patch-clamp-Technik, konnten *Zoli et al.* vier verschiedene Subtypen im ZNS unterscheiden.⁵⁵

Rezeptortyp 1, für den die beiden Antagonisten α -Bgtx und MLA hohe Affinität zeigten und dessen Verteilung sich in $\beta 2$ -Knock-out-Mäusen nicht änderte, ist wahrscheinlich der $\alpha 7^*$ -Rezeptor. Dieser kommt neben dem Cortex und dem limbischen System v. a. im Hippocampus und im Hypothalamus sowie in weiteren telencephalialen Regionen vor. Durch Radioligand-Bindungsstudien mit [¹²⁵I] α -Bgtx ($\alpha 7^*$: $K_d = 1$ nM) ließen sich diese Ergebnisse bestätigen.^{56, 57}

Rezeptortyp 2 lässt sich in allen Teilen des Mäusehirns nachweisen und enthält $\beta 2$ -Untereinheiten. Wahrscheinlich bilden diese mit $\alpha 4$ -Untereinheiten den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Man findet ihn v. a. im zerebralen Cortex, im Thalamus, im ventralen tegmentalen Areal (VTA), in der Media habenula sowie in der Substantia nigra. Die Untereinheiten $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 5$ und $\alpha 6$ können ebenfalls mit $\beta 2$ -Untereinheiten zu funktionierenden Rezeptoren kombiniert werden. Dabei kommen $\alpha 3\beta 2^*$ -Rezeptoren v. a. im habenulären System sowie in dopaminergen Neuronen vor, während Rezeptoren mit $\alpha 6$ -Untereinheit in einigen catecholaminergen Nuclei, im Locus coeruleus, im VTA sowie in der Substantia nigra aufzufinden sind. Im Mittelhirn findet man die Untereinheit $\beta 3$, die mit den Untereinheiten $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 6$ oder $\beta 2/\beta 4$ kombiniert werden muss, um funktionsfähige Rezeptoren bilden zu können.⁵⁸⁻⁶⁴

Rezeptortyp 3 enthält keine $\beta 2$ -Untereinheit, er bindet (\pm)-[³H]Epibatidin jedoch mit hoher Affinität. Dieser Subtyp setzt sich wahrscheinlich aus $\alpha 3\beta 4^*$ -Untereinheiten zusammen, wobei $\alpha 5$ -Untereinheiten auch involviert sein können. Diesen Subtyp findet man v. a. in den Ganglien, in der Media habenula, im habenulären-pedunkulären System sowie im Locus coeruleus, in der Area postrema, im Cerebellum und in der Epiphyse.^{60, 61, 64}

Rezeptortyp 4 enthält ebenfalls keine $\beta 2$ -Untereinheit und sowohl (-)-[³H]Cytisin als auch (\pm)-[³H]Epibatidin binden mit sehr hoher Affinität, wohingegen die Affinität zu einigen anderen Liganden fehlt. Dieser Rezeptortyp desensibilisiert leicht und es handelt sich vermutlich um $\alpha 2\beta 4^*$ - und $\alpha 4\beta 4^*$ -Rezeptoren. Diese befinden sich v. a. in der lateralen Habenula und im dorsalen interpeduncularen Nucleus.⁶⁵

Eine besonders begrenzte Verteilung haben die Subtypen $\alpha 9$ und $\alpha 9\alpha 10$. Man findet sie nur in den Haarzellen des Innenohres. Dort sind sie vermutlich an der Weiterleitung von akustischen Signalen beteiligt.^{66, 67}

Es finden sich zunehmend Hinweise, dass die so genannten *neuronalen* nAChR auch außerhalb des ZNS eine wichtige physiologische und pathophysiologische Rolle spielen.⁶⁸ So wurden beispielsweise funktionsfähige Rezeptoren in Keratinozyten,⁶⁹ in Epithelzellen der Bronchien,⁷⁰ in Endothelzellen von Blutgefäßen,⁷¹ in Lymphozyten⁷² und in einigen anderen Zelltypen gefunden. Dabei scheinen sie eine Rolle bei der Entwicklung des Lungenkarzinoms oder respiratorischer Erkrankungen, wie chronischer Bronchitis oder Asthma, zu spielen. Jedoch steht die Erforschung der nAChR, die außerhalb des ZNS vorkommen, noch am Anfang.

1.2 Pathologien

Der nAChR ist an einer Reihe nicht-pathologischer Hirnfunktionen, z. B. Aufmerksamkeit, Gedächtnis, Lernen oder der Angst- und Schmerzwahrnehmung beteiligt.⁷³ Er wird aber auch mit Krankheiten in Verbindung gebracht. Durch sein hauptsächliches Vorkommen in neuronalen Zellen, zählen dazu besonders die Tabakabhängigkeit, Depressionen, Schizophrenie, das Tourette-Syndrom, Morbus Alzheimer oder Morbus Parkinson.⁷⁴ Daneben gibt es auch bei einer Reihe peripherer Erkrankungen, z. B. Entzündungen, zunehmend Hinweise auf eine Beteiligung des nAChR.⁶⁸

Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS)

Das ADHS ist eine psychische Störung, die v. a. im Kindesalter auftritt und von Symptomen wie Ruhelosigkeit, Konzentrationsstörungen und Impulsivität begleitet ist. Seine Ätiologie ist nicht vollständig geklärt, aber es werden sowohl genetische als auch psychische und soziale Faktoren diskutiert.⁷⁵ Derzeit wird ADHS v. a. mit Wirkstoffen wie Methylphenidat oder Atomoxetin behandelt.⁷⁶ Unter ADHS-Patienten gibt es einen erhöhten Anteil an Rauchern (40 %) im Gegensatz zum Bevölkerungsdurchschnitt (26 %). Dies wird als Versuch der ADHS-Patienten interpretiert, die Aufmerksamkeitsdefizite durch Rauchen als einer Art Eigetherapie zu kompensieren.⁷⁷ Tatsächlich konnte gezeigt werden, dass sowohl Nicotin **17** als auch nAChR-Agonisten, wie z. B. ABT-418 **19**, zu einer signifikanten Verbesserung der Symptomatik von ADHS führten.^{78, 79} Jedoch treten häufig Nebenwirkungen auf, so dass abzuwarten bleibt, ob möglicherweise selektivere Substanzen ein weniger starkes Nebenwirkungsprofil zeigen und sich besser für die Therapie des ADHS eignen.⁸⁰

Angstwahrnehmung und Depression

Epidemiologische Untersuchungen konnten zeigen, dass es einen positiven Zusammenhang zwischen Tabakabhängigkeit und einer gestörten Angstwahrnehmung sowie starken Depressionen gibt.⁸¹ Unter den Patienten mit starken Depressionen (DSM-IV) gibt es eine erhöhte Quote an Rauchern (57 % vs. 30 % der Normalbevölkerung).⁸² Diese haben größere

10 | Einleitung

Schwierigkeiten, mit dem Rauchen aufzuhören, als gesunde Menschen.^{83, 84} Ganz ähnlich verhält es sich bei Patienten mit gestörter Angstwahrnehmung.⁸⁵ Das Rauchen wird auch in diesen Fällen als eine Art Eigentherapie betrachtet. In Tiermodellen besitzt Nicotin **17** sowohl anxiolytische als auch anxiogene Effekte, die abhängig davon sind, in welche Hirnregion und in welcher Dosis Nicotin **17** verabreicht wird. Bei Nichtrauchern konnte nach der transdermalen Applikation von Nicotin **17** eine reduzierte Symptomatik der Depression festgestellt werden.⁸⁶ Darüber hinaus konnte kürzlich gezeigt werden, dass sowohl (-)-Cytisin **34** als auch Vareniclin **123**, beides sind Partialagonisten am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp, antidepressive Eigenschaften in Tiermodellen zu antidepressivem Verhalten besitzen.^{87, 88} Aber auch bei der Angstwahrnehmung und Depressionen kann erst die Zukunft zeigen, welcher nAChR-Subtyp in diese Krankheitsgeschehen involviert ist.

Schmerzwahrnehmung

Die analgetische Wirkung von Nicotin **17** kennt man bereits seit Beginn des 20. Jahrhunderts.⁸⁹ Aber erst die Entdeckung des Epibatidin **27** förderte die Erforschung von nAChR-Liganden als potentielle Schmerztherapeutika nachhaltig.⁹⁰ Dabei zeigte Epibatidin **27** eine ca. 200fach stärkere analgetische Wirkung als Morphin, ohne jedoch eine Affinität zu Opioid-Rezeptoren ($K_i > 10 \mu\text{M}$) zu besitzen. Stattdessen besitzt Epibatidin **27** einen K_i -Wert im niedrigen picomolaren Bereich für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.^{91, 92} Seine Toxizität und seine geringe therapeutische Breite lassen jedoch eine Anwendung am Menschen nicht zu.⁹³ Die weitere Forschung brachte jedoch neue Verbindungen hervor, die selektiver und weniger toxisch waren. ABT-594 **26** war lange Zeit ein wichtiger Arzneistoffkandidat, dessen Weiterentwicklung vor einiger Zeit wegen zu schwerer gastrointestinaler Nebenwirkungen gestoppt wurde. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass es möglich war, die toxischen Nebenwirkungen von den gewünschten Wirkungen weitgehend zu trennen. ABT-594 **26** war in Tierversuchen sehr effektiv gegen verschiedene Arten von Schmerzen.^{94, 95} Obwohl die Mitwirkung weiterer Rezeptorsubtypen nicht ausgeschlossen werden kann, sah man in Versuchen mit Knock-out-Mäusen, dass sowohl die $\alpha 4$ - als auch die $\beta 2$ -Untereinheit in Mäusen am antinociceptiven Effekt von Nicotin **17** beteiligt sind.⁹⁶ Es bleibt also abzuwarten, ob es neuen Substanzen mit einer agonistischen Aktivität am nAChR gelingen wird, eine Wirksamkeit in klinischen Studien zu beweisen, bei gleichzeitig reduziertem Nebenwirkungsprofil.

Tabakabhängigkeit

Jährlich sterben mehr als fünf Millionen Menschen an den Folgen des Tabakkonsums. Trotz weltweiter Programme zu dessen Eindämmung steigt der Konsum von Tabakwaren weiter.⁹⁷ Tabakrauch enthält bis zu 4000 verschiedene chemische Substanzen. Von Nicotin **17** wird jedoch angenommen, dass es hauptsächlich für die psychoaktive Wirkung verantwortlich ist.⁹⁸ Das mesolimbische System scheint hauptverantwortlich für die Wirkung von Nicotin **17** und vieler anderer suchterzeugender Stoffe, wie Amphetamine oder Kokain, zu sein. Bei der Aufnahme von Nicotin **17** kommt es zu einer erhöhten Ausschüttung von Dopamin in der Area ventralis tegmentalis (VTA) und im Nucleus accumbens, Teile des so genannten Belohnungs-

systems. Diese und weitere Nervenverschaltungen scheinen an der suchterzeugenden Wirkung von Nicotin **17** und anderer Drogen mitverantwortlich zu sein.⁹⁹⁻¹⁰⁴ Es konnte gezeigt werden, dass die $\beta 2$ -Untereinheit eine entscheidende Rolle bei der Vermittlung dieser Effekte spielt, denn in $\beta 2$ -Knock-out-Mäusen konnte weder eine erhöhte Dopaminfreisetzung durch Nicotin **17** erzeugt werden, noch verabreichten sich diese Mäuse in Tierversuchen das Nicotin **17** selbst.¹⁰⁵ Zur Raucherentwöhnung stehen derzeit die Substitutions- bzw. Nicotin-Ersatz-Therapie (NRT) in Form von Pflastern, Kaugummis oder Nasensprays sowie Bupropion (Zyban®), ein atypisches Antidepressivum und nicht-kompetitiver Antagonist am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor, und seit kurzer Zeit Vareniclin **123** (Champix™), ein Partialagonist für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, zur Verfügung.¹⁰⁶

Schizophrenie

Schizophrenie ist eine i. d. R. schwere psychische Störung des Denkens, der Wahrnehmung und der Affektivität, mit typischen Symptomen wie Halluzinationen und Wahnvorstellungen. Sie entsteht durch das Zusammenspiel vieler Faktoren und beginnt meist im frühen Erwachsenenalter.¹⁰⁷ Unter Patienten mit Schizophrenie ist der Anteil an Rauchern etwa dreimal so hoch (ca. 90 %) wie im Bevölkerungsdurchschnitt (ca. 30 %).¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Auch im Falle der Schizophrenie wird die hohe Prävalenz für Tabakkonsum als eine Art Selbstmedikation mit Nicotin **17** verstanden¹¹¹ und folglich führen Entwöhnungsversuche von Schizophreniepatienten i. d. R. zu einer Verschlimmerung der Symptomatik.⁸⁰ Seit langem besteht die Vermutung, dass der $\alpha 7^*$ -Rezeptor mit in dieses Krankheitsgeschehen involviert ist. Die Gabe von $\alpha 7^*$ -Rezeptorantagonisten α -Bgtx oder MLA **33** lösten im Tierversuch Defizite in der Verarbeitung akustischer Signale aus, von denen angenommen wird, dass sie im Krankheitsgeschehen der Schizophrenie eine Rolle spielen.¹¹² Darüber hinaus konnte in Autoradiographiestudien an Gehirnen von Schizophreniepatienten gezeigt werden, dass diese signifikant weniger Bindungsstellen für α -Bgtx im Hippocampus besaßen.¹¹³ Weitere Unterstützung bekam die Hypothese durch den Befund genetischer Untersuchungen, die eine Dinukleotid-Polymorphismus bei Schizophreniepatienten auf dem Chromosom 15q13-14 am $\alpha 7^*$ -Rezeptor entdeckt haben.¹¹⁴ Auf diesen Gendefekt ist wahrscheinlich die verminderte Gewöhnung an akustische Reize, die bei fast allen Schizophreniepatienten beobachtet wird, zurückzuführen.¹¹⁵ In Laborexperimenten waren sowohl Nicotin **17** als auch der partialagonistische $\alpha 7^*$ -Rezeptor-Ligand GTS-21 **22** in der Lage, diesen Defekt zu lindern.^{116, 117}

Tourette-Syndrom

Das Tourette-Syndrom (auch Gilles-de-la-Tourette-Syndrom) bezeichnet eine neurologische Störung, die durch unwillkürliches Auftreten schneller und heftiger Bewegungen sowie ungewollter, verbaler Äußerungen (so genannte Tics) gekennzeichnet ist.¹¹⁸ Es wird vermutet, dass eine Überfunktion des dopaminergen Systems eine Rolle spielt.¹¹⁹ Als Standardtherapie zur Behandlung des Tourette-Syndroms wird derzeit Haloperidol, ein Dopaminantagonist, eingesetzt. Neue Erkenntnisse zeigen, dass die transdermale Applikation von Nicotin **17** über mehrere Wochen zu einer Verbesserung der Symptomatik führen konnte.¹²⁰ Darüber hinaus

12 | Einleitung

fürte die Gabe von Nicotin **17** in Form von Pflastern oder Kaugummis dazu, dass geringere Dosen an Haloperidol zur Behandlung benötigt wurden.¹²¹⁻¹²⁴ Zusammengenommen ergibt sich dadurch der Hinweis, dass der nAChR am Krankheitsgeschehen des Tourette-Syndroms beteiligt ist, jedoch ist der zugrunde liegende Mechanismus z. Z. noch ungeklärt.¹²⁵

Epilepsie

Die autosomal-dominante nächtliche Frontallappenepilepsie (ADNFLE) ist eine besondere Form der Epilepsie, die v. a. während des Schlafes auftritt und ihren Ursprung in den Frontallappen hat. Sie ist eine relativ milde Form der Epilepsie mit nur geringen neuropsychologischen Beeinträchtigungen.¹²⁶ Die ADNFLE steht im Zusammenhang mit verschiedenen Genmutationen der Gene *CHRNA4*, *CHRNA2* und *CHRNA2*, welche für die $\alpha 4$ -, $\alpha 2$ - bzw. die $\beta 2$ -Untereinheit kodieren. Jedoch sind damit nicht alle Fälle erklärbar, so dass andere Ursachen, möglicherweise andere Gendefekte, nicht ausgeschlossen werden können.¹²⁷ Die genaue Genese dieser Form der Epilepsie bleibt z. Z. noch ungeklärt. Es konnte aber gezeigt werden, dass ein Teil dieser Mutationen zu einer erhöhten Sensibilität gegenüber ACh **1** führt. Dies könnte insgesamt zu einem Ungleichgewicht von erregenden und hemmenden Neurotransmittern führen und auf diese Art die Anfallsleiden verursachen.¹²⁸ Deshalb könnten Antagonisten am nAChR in der Zukunft therapeutische Wirkstoffe für die ADNFLE darstellen.¹²⁹

Morbus Alzheimer

Morbus Alzheimer ist eine progressive neurodegenerative Erkrankung, die mit einem Verlust kognitiver Fähigkeiten sowie des Gedächtnisses einhergeht. Es kommt neben einem allgemeinen Verlust an Neuronen und Hirnmasse, v. a. zu einem Verlust an cholinergen Neuronen des Hippocampus und der Großhirnrinde¹³⁰ sowie zu einer verminderten Aktivität der Cholin Acetyltransferase (ChAT).¹³¹ Auf intrazellulärer Ebene lassen sich Neurofibrillen erkennen, die aus aggregierten Tau-Proteinen bestehen.¹³² Extrazellulär treten aggregierte und unlösliche β -Amyloid-Plaques auf, die aus einem Spaltprodukt des Amyloid-Precursor-Proteins (APP) bestehen.¹³³ Darüber hinaus kommt es zu einer Abnahme von $\alpha 7$ -Rezeptoren,¹³⁴ wohingegen keine Abnahme von muscarinischen Rezeptoren beobachtet wird.¹³⁵ Von β -Amyloid ist bekannt, dass es mit hoher Affinität an den $\alpha 7$ -Rezeptor bindet und dadurch postsynaptische $\alpha 7$ -Rezeptoren im Hippocampus blockiert.¹³⁶⁻¹³⁸ Epidemiologische Studien zeigen, dass Raucher wesentlich seltener an Alzheimer erkranken als Nichtraucher.^{139, 140} Das Krankheitsgeschehen wird jedoch noch nicht vollständig verstanden. Zur Therapie können z. Z. nur Wirkstoffe eingesetzt werden, die die Symptome mildern, die Krankheit aufhalten oder heilen können sie jedoch nicht. Diese Wirkstoffe sind z. B. Hemmstoffe der Acetylcholinesterase, z. B. Galantamin **37** oder Physostigmin **38**. Diese erhöhen die Konzentration von ACh im synaptischen Spalt und wirken auf diese Art der erniedrigten Konzentration an ACh **1** im Gehirn entgegen.

Morbus Parkinson

Die Parkinsonsche Krankheit ist ebenfalls eine progressive, neurodegenerative Erkrankung, die durch motorische sowie verschiedene sensorische, psychische und kognitive Störungen gekennzeichnet ist. Die klassischen drei Symptome sind Steifigkeit, Tremor und Akinesie. Ausgelöst wird Morbus Parkinson durch einen Verlust dopaminerger Neuronen in der Substantia nigra und gleichzeitig wird ein Verlust an nAChR beobachtet.¹⁴¹ Die genaue Ursache dieser Krankheit ist jedoch unbekannt.¹⁴² Auch bei Morbus Parkinson haben epidemiologische Studien erwiesen, dass Rauchen vor Parkinson schützen kann.¹⁴³⁻¹⁴⁵ Nicotin **17** wurde deshalb schon vor langer Zeit in der Therapie von Parkinson erfolgreich eingesetzt.¹⁴⁶ In vielen Tiermodellen zeigt Nicotin **17** neuroprotektive Wirkung auf nigrostratale Neuronen.¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Es wird vermutet, dass diese Wirkung auf die Aktivierung von präsynaptischen $\alpha 3$ - und $\alpha 6$ -enthaltende Rezeptoren zurückzuführen ist, denn Tiermodelle für Parkinson bestätigten die deutliche Abnahme dieser beiden Rezeptoruntereinheiten.¹⁵⁰⁻¹⁵²

Entzündungen

Entzündungen sind Gewebsreaktionen auf äußere Reize und Schädigungen, die i. d. R. lokal begrenzt sind. Sie müssen koordiniert ablaufen und der Vagusnerv, ein Teil des parasympathischen Nervensystems, scheint an dieser Koordination beteiligt zu sein. Durch diesen so genannten cholinergen antiinflammatorischen Reflex kann das ZNS schnell, auf die von außen kommenden Reize reagieren. Durch Ausschüttung von ACh **1** kann es die Freisetzung des Tumornekrosefaktors α (TNF α), eines wichtigen Entzündungsmediators, hemmen.¹⁵³ Pharmakologische oder elektrische Aktivierung dieses Reflexes führt ebenfalls zu einer Ausschüttung von ACh **1** und einer verminderten Freisetzung von TNF α .¹⁵⁴ Der $\alpha 7^*$ -Rezeptor auf Makrophagen scheint dabei eine entscheidende Rolle zu spielen.¹⁵⁵ Es konnte gezeigt werden, dass Agonisten am nAChR, wie z. B. ACh **1** oder Nicotin **17**, die Produktion von TNF α aus Macrophagen drosseln können, wohingegen Antagonisten diese Drosselung umkehren.¹⁵⁶ Dies zeigt, dass Agonisten des $\alpha 7^*$ -Rezeptors potentielle Arzneistoffe gegen Sepsis oder andere entzündliche Erkrankungen darstellen.¹⁵⁷

Chronische Darmentzündungen

Einige epidemiologische Studien ergaben, dass Rauchen das Risiko für Colitis ulcerosa senken kann.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ Dagegen wird das Risiko, an Morbus Crohn zu erkranken, durch Rauchen und Passivrauchen deutlich erhöht.^{158, 161} Dabei wird angenommen, dass Nicotin **17** für diese Wirkung verantwortlich ist.¹⁶² Tatsächlich kann die transdermale Applikation von Nicotin **17** den Krankheitsprozess von Colitis ulcerosa verbessern.^{159, 162, 163} Und obwohl der zugrunde liegende Mechanismus nicht genau geklärt ist, zeigen erste Untersuchungen, dass möglicherweise eine Aktivierung des Parasympathikus oder eine Modulation der lokalen Entzündungsreaktion, eine Erklärung für die Wirkung des Nicotins **17** bei Colitis ulcerosa darstellt.¹⁶⁴

Krebs

Auch bei der Krebserkrankung gibt es neue Erkenntnisse, die darauf hindeuten, dass der nAChR an der Entwicklung bestimmter Krebsarten beteiligt ist. Der nAChR kommt auch in nicht-neuronalen Zellen vor und scheint an vielen elementaren biologischen Prozessen wie Differenzierung, Proliferation, Apoptose oder der Organisation des Cytoskeletts beteiligt zu sein.¹⁶⁵ Unter in-vitro-Bedingungen aktiviert Nicotin **17** beispielsweise die DNA-Synthese und fördert die Zellproliferation von Endothelzellen.¹⁶⁶ Daneben stimuliert Nicotin **17** auch die Freisetzung von Wachstumshormonen, wie z. B. des basischen Fibroblasten Wachstumsfaktors (bFGF), besitzt angiogenetische Effekte und scheint das Tumorstadium bestimmter Krebszellen zu fördern.^{167, 168} Der Beteiligung verschiedener nAChR-Subtypen auf die Entstehung von Krebs, wird derzeit ebenso untersucht, wie die Frage nach den intrazellulären Signalwegen, die für den antiapoptischen Effekt des Nicotins **17** verantwortlich sind.¹⁶⁹

1.3 Modulatoren

Die nicht-peptidischen Modulatoren des nAChR lassen nach *Jeffrey D. Schmitt* in fünf strukturell verschiedene Klassen einteilen. Maßgeblich für diese Einteilung sind die zwei wichtigen Strukturmerkmale eines Liganden für den nAChR, dem kationischen Zentrum **N⁺** und dem Wasserstoffbrückenbindungsakzeptorsystem **HBA** bzw. dem **π**-System.¹⁷⁰ Eine wichtige Rolle als Modulatoren am nAChR spielen darüber hinaus einige Peptidliganden¹⁷¹⁻¹⁷⁴ sowie allosterisch wirkende Substanzen.¹⁶

Klasse 1: Acyclisches Kation **N⁺** und acyclisches **HBA/π**-System

In dieser ersten Klasse nicht-peptidischer Liganden des nAChR befinden sich v. a. kleine und flexible Moleküle. Beide Strukturmerkmale, das kationische Zentrum **N⁺** und das **HBA/π**-System, liegen in diesen Molekülen in offenkettigen Formen vor.

Der endogene Ligand und Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) **1** stellt den Prototypen eines Liganden am nAChR dar (s. Abb. 1.8). Er besitzt die beiden Strukturmerkmale Kation **N⁺** und ein **HBA/π**-System in einem kurzen Abstand zueinander. ACh **1** besitzt hohe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 15 \text{ nM}$), zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Subtyp ($K_i = 560 \text{ nM}$) sowie zum muskulären Subtyp ($K_i = 15 \text{ nM}$), jedoch nur geringe zum $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 4000 \text{ nM}$).¹⁷⁵⁻¹⁷⁷ Neben der geringen Selektivität zum nAChR besitzt ACh **1** außerdem nanomolare Affinität zum muscarinischen Acetylcholinrezeptor (mAChR) und eine sehr geringe chemische Stabilität.

Durch Esterasen kann ACh **1** schnell in Cholin **2** und Essigsäure gespalten werden. Um in den Synapsen Cholin **2** wieder für die Herstellung von ACh **1** zur Verfügung zu stellen, wird dieses

polare Molekül mit Hilfe von Transportern aus dem Extrazellulärraum in das Zellinnere befördert.¹⁷⁸ Cholin **2** besitzt nur geringe Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 112 \mu\text{M}$) und den $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 2.2 \text{ mM}$). Es ist jedoch ein voller und selektiver Agonist am $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($EC_{50} = 1.6 \text{ mM}$), der verglichen mit ACh **1** ($EC_{50} = 0.13 \text{ mM}$), nur etwa 10fach weniger wirksam ist.^{179, 180} Daher wird angenommen, dass Cholin **2** auch eine physiologische Bedeutung besitzt.

Cholin **2** und Acetylcholin **1** waren die Leitstrukturen zu einer Reihe neuer Liganden für den nAChR. Durch den Austausch der Estergruppe gegen eine Carbamidsäuregruppe konnten u. a. die Verbindungen Carbachol (CCh) **3**, N-Methylcarbachol (MCC) **4** und N,N-Dimethylcarbachol (DMCC) **5** erhalten werden (s. Abb. 1.8). Dabei zeigte CCh **3** eine höhere Affinität zum mAChR ($K_i = 5 \text{ nM}$, Rattenhirn, [³H]Oxotremorin-M), jedoch nur eine vergleichsweise niedrige Affinität am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 750 \text{ nM}$, Rattenhirn, [³H]Nicotin). Durch den einfach bzw. zweifach methylierten Stickstoff der Carbamidsäuregruppe wurden die Verbindungen MCC **4** ($K_i = 23 \text{ nM}$) und DMCC **5** ($K_i = 20 \text{ nM}$) erhalten, die eine Selektivität zum nAChR besaßen.¹⁸¹

Weitere Veränderungen an der Acetylcholin-Grundstruktur brachten u. a. die Verbindung **6** ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 9 \text{ nM}$) hervor, die eine sehr hohe Affinität und Selektivität zum nAChR gegenüber dem mAChR ($K_i = 3600 \text{ nM}$) besitzt.¹⁸¹ Kürzlich veröffentlichte *Hansen et al.* einige homologe Verbindungen der Verbindung **6** (s. Abb. 1.8), bei denen der Stickstoff der Carbamatgruppe in cyclisierter Form vorliegt. Dabei zeigte Verbindung **7** eine für diese flexiblen Moleküle hohe Affinität und Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 2.1 \text{ nM}$) gegenüber dem $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 23 \mu\text{M}$), dem $\alpha 4\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 190 \text{ nM}$) und einem chimären $\alpha 7/5\text{-HT}_3$ -Rezeptor ($K_i > 1 \text{ mM}$). Im Vergleich zu ACh **1** besaß Verbindung **7** eine partialagonistische Aktivität am $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp (66 %).¹⁸²

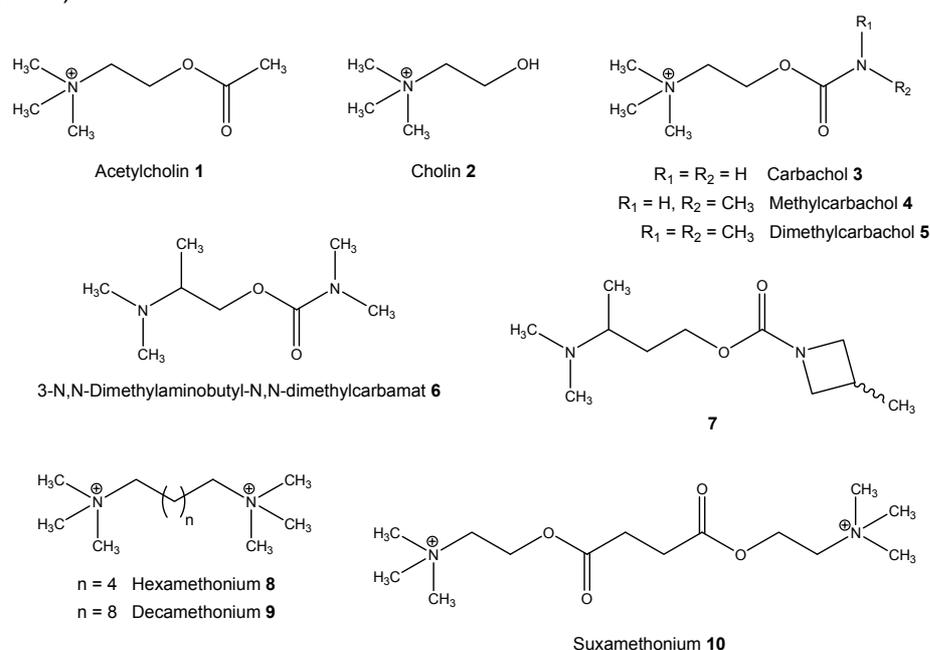


Abb. 1.8: Liganden ACh **1**, Cholin **2**, CCh **3**, MCC **4** und DMCC **5**, Verbindungen **6** und **7** sowie Hexamethonium **8**, Decamethonium **9** und Suxamethonium **10**

16 | Einleitung

Es sind ebenfalls die Affinitäten am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor für die drei Muskelrelaxantien Hexamethonium **8** ($K_i = 75 \mu\text{M}$), Decamethonium **9** ($K_i = 3125 \text{ nM}$) und Suxamethonium **10** ($K_i = 26 \text{ nM}$) bekannt (s. Abb. 1.8). Obwohl Decamethonium **9** über kein HBA/ π -System verfügt, fällt auf, dass es eine relativ hohe Affinität zum nAChR besitzt. Möglicherweise bekommt es durch seine Kettenlänge Zugang zu einer weiteren Bindungsstelle am nAChR.^{170, 183}

Klasse 2: Acyclisches Kation N^+ und cyclisches HBA/ π -System

In der zweiten Klasse der nicht-peptidischen Liganden des nAChR liegt das Kation N^+ in einer acyclischen Form vor, wohingegen das HBA/ π -System in eine cyclische Struktur eingebunden ist.

Glennon und Dukat berichteten bei ihren Untersuchungen zu Pharmakophormodellen für den nAChR von einer Reihe von 3-Pyridyl-Derivaten mit hoher Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Für die zwei Verbindungen **11** und **12** wurden K_i -Werte von 28 nM (**11**) bzw. 18 nM (**12**) angegeben (s. Abb. 1.9). Verbindung **11** stellt ein ringoffenes Analogon von Nicotin **17** ($K_i = 1\text{-}5 \text{ nM}$) dar, dessen Affinität jedoch etwas geringer ist. Sowohl die Verlängerung der Kohlenwasserstoffkette zwischen dem tertiären Stickstoff und dem Pyridinring, als auch der Austausch des Ethyl-Substituenten des Stickstoffes gegen einen Methylrest oder Wasserstoff, führte zu erheblichen Verlusten der Affinität.¹⁸⁴ Substitution an der 6-Position des Pyridinringes wurde toleriert, jedoch verringerten Methyl-Substituenten an der 2- oder 4-Position des Pyridinringes die Affinität erheblich.¹⁸⁵

Einige Stilben-Derivate des Cholins (s. Abb. 1.9), z. B. Verbindung **13**, zeigten nanomolare Affinität am $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 106 \text{ nM}$) mit einer hohen Selektivität gegenüber dem muskulären Subtyp ($K_i = 32 \mu\text{M}$) sowie dem $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 84 \mu\text{M}$).¹⁸⁶ Die Einführung einer Methylgruppe in Nachbarschaft zum quartären Stickstoff wurde toleriert ($\alpha 7^*$: $K_i = 109 \text{ nM}$). Demgegenüber reagierte die Position in direkter Nachbarschaft zum Sauerstoff sehr viel sensibler auf die Einführung einer Methylgruppe, wodurch sich die Affinität zum $\alpha 7^*$ -Rezeptor bis in den mikromolaren Bereich senkte. Funktionelle Experimente ergaben, dass es sich bei diesen Verbindungen um Antagonisten am nAChR handelt.¹⁸⁷

Phenylether des Cholins (s. Abb. 1.9) sind hingegen schon recht lange als Verbindungen mit nicotinähnlichen Wirkungen auf ganglionäre Rezeptoren bekannt.¹⁸⁸ Kürzlich durchgeführte Untersuchungen an neuronalen Subtypen zeigten, dass Verbindung **14** ein potenter aber unselektiver Ligand am nAChR ist ($\alpha 4\beta 2^*$: 22.3 nM, $\alpha 3\beta 4^*$: 135 nM, $\alpha 7^*$: 196 nM, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$: 697 nM).¹⁸⁹

Die Verbindung RJR-2403 **15**, die auch Metanicotin genannt wird, kann ebenfalls als ein ringoffenes Nicotin-Derivat angesehen werden und kommt als Spurenalkaloid in Tabak vor. RJR-2403 besitzt eine etwa 6fach niedrigere Affinität zu $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren ($K_i = 26 \text{ nM}$), ist aber in

der Lage diese mit etwa gleicher Effizienz wie Nicotin **17** zu aktivieren ($EC_{50} = 730 \text{ nM}$). Daneben besitzt es eine gute Selektivität in Bindungsassays sowie in funktionellen Assays gegenüber anderen nAChR-Subtypen und zeigte im Screening keine Affinität zu vielen weiteren Rezeptoren, u. a. Dopamin-, Muscarin- und Opioid-Rezeptoren.^{190, 191} In-vivo-Untersuchungen zeigten, dass RJR-2403 **15** oral wirksam ist und größeres Potential zur Verbesserung kognitiver Fähigkeiten besitzt als Nicotin **17**, v. a. wegen dem selteneren Auftreten von Nebenwirkungen.¹⁹² Es wird in erster Linie als Therapeutikum zur Anwendung bei Alzheimer und anderen Demenzerkrankungen entwickelt,¹⁹³ besitzt darüber hinaus auch viel versprechende analgetische Eigenschaften.¹⁹⁴ Kürzlich wurde entdeckt, dass RJR-2403 **15** ebenfalls anti-inflammatorische Eigenschaften besitzt und damit möglicherweise bei Colitis ulcerosa wirksam sein könnte.¹⁹⁵ TC-2559 **16** stellt eine Weiterentwicklung von RJR-2403 **15** dar (s. Abb. 1.9) und zeigte eine verbesserte Selektivität ($\alpha 4\beta 2^*$: $EC_{50} = 180 \text{ nM}$, $\alpha 3\beta 4^*$: $EC_{50} > 30 \mu\text{M}$, $\alpha 3\beta 2^*$: $EC_{50} > 100 \mu\text{M}$, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$: $EC_{50} > 100 \mu\text{M}$). Im Gegensatz zu RJR-2403 besitzt es jedoch nur partial-agonistische Eigenschaften ($\sim 33\%$).¹⁹⁶ In Tiermodellen ist TC-2559 wirksam und reduziert bei Ratten die Selbstverabreichung von Nicotin **17**.¹⁹⁷

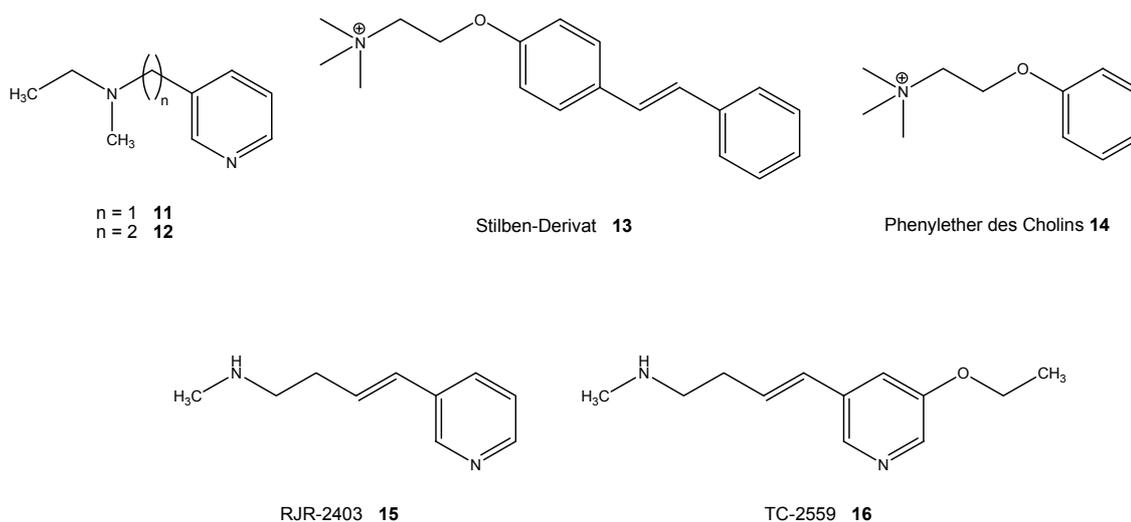


Abb. 1.9: Liganden **11-16** mit acyclischem Kation N^+ und cyclischem HBA/ π -System

Klasse 3: Cyclisches Kation N^+ und cyclisches HBA/ π -System

In der dritten Klasse der nicht-peptidischen Liganden des nAChR liegen sowohl das Kation N^+ als auch das HBA/ π -System in einer cyclischen Form vor.

(-)-Nicotin **17** ist das Hauptalkaloid der Tabakpflanze *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) und ein Prototyp dieser Klasse von Liganden (s. Abb. 1.10). Es verfügt über eine hohe Affinität zu neuronalen nAChR ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 0.84 \text{ nM}$, $\alpha 3\beta 4^*$: $K_i = 84 \text{ nM}$, $\alpha 7^*$: 127 nM , $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$: $1 \mu\text{M}$) und ist ein selektiver Ligand für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.^{198, 199} Sowohl die Methylgruppe als auch die (S)-Konformation des Stereozentrums sind wichtige Strukturmerkmale, die wichtig für eine hohe

18 | Einleitung

Affinität sind. Das (*R*)-Enantiomer ist etwa 10-30fach weniger affin als das natürlich vorkommende (*S*)-Enantiomer.²⁰⁰ Nicotin **17** wird aus dem Tabakrauch ins Blut aufgenommen und gelangt von dort in sehr kurzer Zeit ins Gehirn, wo es leicht die Blut-Hirn-Schranke passiert. Im Gehirn erhöht es die Ausschüttung von Dopamin im so genannten Belohnungszentrum, was für die suchterzeugende Wirkung verantwortlich gemacht wird.^{201, 202} In Radioligand-Bindungsstudien wird [³H]Nicotin auch als Radioligand benutzt, es hat jedoch die Nachteile, dass es chemisch nicht sehr stabil ist. Außerdem ist es lichtempfindlich und hat eine verhältnismäßig hohe nicht-spezifische Bindung.²⁰³

Veränderungen am Pyrrolidinring des Nicotins **17** führten i. d. R. nicht zu größerer Affinität oder Selektivität.²⁰⁴ Dagegen konnte durch Veränderung am Pyridinring die Verbindung SIB-1508Y **18** erhalten werden, die in der 5-Position einen Ethinylrest trägt. SIB-1508Y **18** wird auch Altiniclin genannt und ist ähnlich stark wirksam ($EC_{50} = 1.8 \mu\text{M}$), wie Nicotin **17** selber ($EC_{50} = 4.6 \mu\text{M}$). Es ist in Tiermodellen von Morbus Parkinson gut wirksam und zeigt weniger Nebenwirkungen als Nicotin **17**.²⁰⁵⁻²⁰⁷ Derzeit wird in klinischen Studien die Anwendung an Parkinson-Patienten untersucht.²⁰⁸

ABT-418 **19** ist ein weiteres Derivat von Nicotin **17**. Es wurde durch den Austausch des Pyridinrings gegen einen Methylisoxazolring erhalten (s. Abb. 1.10). Es zeigt eine hohe Affinität am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 3 \text{ nM}$) und kaum Affinität am $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i > 10 \mu\text{M}$). Es ist etwa 10fach wirksamer als Nicotin **17** in Modellsystemen zur Lernfähigkeit und zeigte darüber hinaus neuroprotektive und anxiolytische Effekte.²⁰⁹⁻²¹¹ ABT-418 **19** wurde zur möglichen Anwendung bei Alzheimer untersucht, die Weiterentwicklung musste in klinischen Prüfungen jedoch eingestellt werden.

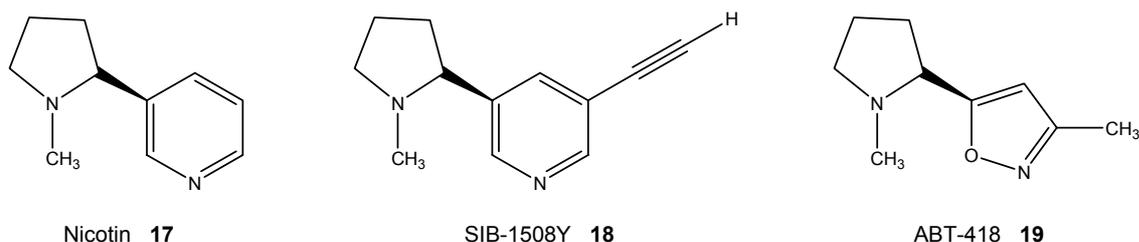


Abb. 1.10: nAChR-Liganden Nicotin **17**, SIB-1508Y **18** und ABT-418 **19**

Erweitert man den Pyrrolidinring des Nicotins **17** um eine CH_2 -Gruppe und entfernt die Methylgruppe am Stickstoff, erhält man Anabasin **20**, welches auch als Nebenalkaloid im Tabak vorkommt (s. Abb. 1.11).²¹² Durch die Dehydrierung von Anabasin **20** kann man wiederum Anabasein **21** erhalten, welches sich aus dem marinen Wurm *Paranemertes peregrina*²¹³ und aus der Ameisen-Art *Aphaenogaster rudis*²¹⁴ isolieren lässt. Beide Verbindungen **20** und **21** besitzen dabei eine niedrigere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor (**20**: $K_i = 32 \text{ nM}$, **21**: $K_i = 260 \text{ nM}$) im Vergleich zu Nicotin **17** ($K_i = 0.84 \text{ nM}$), aber eine höhere Affinität zum $\alpha 7^*$ -Rezeptor (**20**: $K_i = 58 \text{ nM}$, **21**: 58 nM , Nicotin **17**: 400 nM). Und beide Substanzen besitzen auch eine erhöhte Wirk-

samkeit am $\alpha 7^*$ -Rezeptor (**20**: $EC_{50} = 16.8 \mu M$, **21**: $EC_{50} = 6.7 \mu M$) im Vergleich zu Nicotin **17** ($EC_{50} = 47 \mu M$). Es sind volle Agonisten am $\alpha 7^*$ -Rezeptor, jedoch Partialagonisten am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.²¹⁵

Aufgrund der verbesserten Wirkung am $\alpha 7^*$ -Rezeptor diente Anabasein **21** v. a. als Leitstruktur zur Entwicklung von $\alpha 7^*$ -selektiven Verbindungen. GTS-21 **22** ist aus dieser Entwicklung hervorgegangen und zeigte eine ähnlich hohe, nanomolare Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ - und den $\alpha 7^*$ -Rezeptor. Jedoch wirkt GTS-21 **22** nur am $\alpha 7^*$ -Rezeptor als Agonist. An anderen neuronalen Rezeptorsubtypen hatte Verbindung **22** nur einen marginalen Effekt.²¹⁶ Es zeigte neuroprotektive Wirkung und verbesserte kognitive Fähigkeiten und wird derzeit für die Indikationen Alzheimer und Schizophrenie klinisch untersucht.^{217, 218}

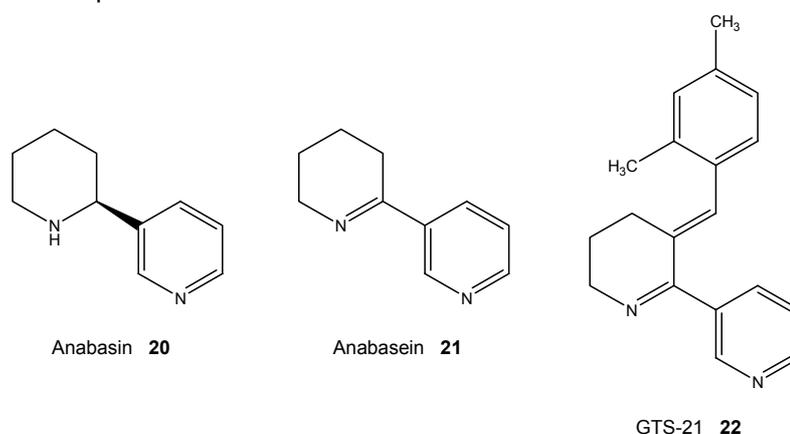


Abb. 1.11: nAChR-Liganden Anabasin **20**, Anabasein **21** und GTS-21 **22**

Vom Nicotin **17** leiten sich auch die so genannten Pyridylether ab (s. Abb. 1.12), die eine Cholin-Teilstruktur beinhalten. Eine schon länger bekannte Verbindung dieser Reihe ist ABT-089 **23**, die zusätzlich zur Einführung des Sauerstoffatoms einen Methyl-Substituenten am Pyridinring trägt. In Radioligand-Bindungsstudien zeigte ABT-089 **23** eine hohe Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 16.7 \text{ nM}$) im Vergleich zum $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 10 \mu M$) und dem muskulären Subtyp ($K_i > 1 \mu M$). Darüber hinaus besaß es eine geringe Aktivität am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($EC_{50} = 150 \mu M$), ist oral bioverfügbar und erzeugte in Tierversuchen nur geringe Nebenwirkungen.^{219, 220} Aufgrund seiner Wirksamkeit in Tiermodellen zur Verbesserung kognitiver Fähigkeiten sowie seiner neuroprotektiven Eigenschaften, wird es derzeit in klinischen Studien bei ADHS untersucht.^{221, 222}

A-85380 **24** ist eine weitere Substanz aus dieser Reihe der Pyridylether (s. Abb. 1.12). Sie trägt statt einem Pyrrolidin- einen Azetidinring. In Radioligand-Bindungsstudien zeigte A-85380 **24** eine extrem hohe Affinität und gute Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 50 \text{ pM}$) gegenüber dem $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 148 \text{ nM}$) und dem $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Subtyp ($K_i = 314 \text{ nM}$). In funktionellen Assays erkannte man, dass A-85380 **24** ein sehr effektiver Agonist an $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren ($EC_{50} = 0.7 \mu M$) als auch am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptoren ($EC_{50} = 0.8 \mu M$) ist. Außerdem wurde eine Dopaminfreisetzung bereits bei einem EC_{50} -Wert von 3 nM beobachtet.²²³ A-85380 **24** besitzt

Substanz am nAChR, mit EC_{50} -Werten im mittleren bis niedrigen nanomolaren Bereich.²³⁰ Die hohe Affinität v. a. zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor machte das radioaktiv markierte [3H]Epibatidin ($K_d = 8$ pM) zu einem wertvollen Radioliganden für die Untersuchung der neuronalen nAChR.¹⁹⁸ Aufgrund der wenig ausgeprägten Subtypselektivität und des sehr engen therapeutischen Fensters kann Epibatidin **27** selbst nicht als Analgetikum eingesetzt werden, stimulierte jedoch in hohem Maße die weitere Erforschung von Epibatidin-Analoga als potenzielle Schmerztherapeutika.²³¹

Zahlreiche Veröffentlichungen mit chemisch veränderten Strukturen basierend auf dem Epibatidin **27**, führten schließlich zu der Entwicklung von Epiboxidin **28**, das einen 3-Methylisoxazolring statt dem Chlorpyridinring des Epibatidins trägt (s. Abb. 1.13). Obwohl es eine etwas geringere Affinität ($K_i = 600$ pM) als Epibatidin **27** ($K_i = 8$ pM) am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor besaß, war die funktionale Wirksamkeit, gemessen als ^{22}Na -Einstrom in PC12-Zellen, nur etwa halbiert ($EC_{50} = 180$ nM) verglichen mit (+)-Epibatidin ($EC_{50} = 70$ nM) bzw. (-)-Epibatidin ($EC_{50} = 110$ nM). Im Tierversuch war Epiboxidin **28** zwar etwa 10fach schwächer wirksam als Epibatidin **27**, verursachte jedoch weniger Nebenwirkungen bei analgetisch wirksamen Dosen.⁹¹

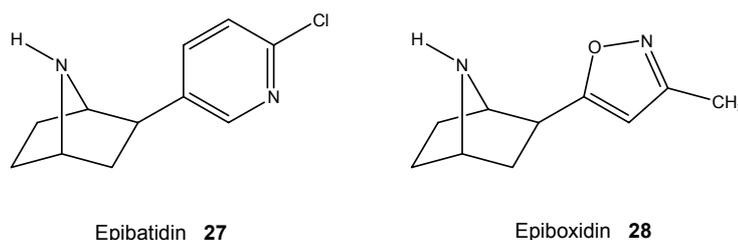


Abb. 1.13: nAChR-Liganden Epibatidin **27** und Epiboxidin **28**

Klasse 4: Cyclisches Kation N^+ und acyclisches HBA/ π -System

In dieser vierten Klasse der nicht-peptidischen Liganden des nAChR liegt das Kation N^+ in einer cyclischen Form vor, während das HBA/ π -System in einer offenkettigen Form vorliegt.

Das lipophile Alkaloid (-)-Lobelin **29** lässt sich aus indischem Tabak *Lobelia inflata* (Campanulaceae) isolieren (s. Abb. 1.14). Es bindet mit hoher Affinität an den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 1.4$ -2 nM) und sehr niedriger an den $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 10$ μ M). Strukturvariationen des Lobelins **29** führten zu geringeren Affinitäten am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, wobei sich zeigte, dass beide Aromaten und die Carbonylfunktion für die Interaktion mit dem Rezeptor von großer Bedeutung sind.²³² Das pharmakologische Profil ist sehr komplex und Lobelin **29** zeigt sowohl agonistische als auch antagonistische Effekte.²³³ In in-vitro-Versuchen agiert es als kompetitiver Antagonist und inhibiert die durch Nicotin **17** ausgelöste Dopaminfreisetzung aus Neuronen.²³⁴ Auf der andere Seite zeigte es in in-vivo-Versuchen viele, aber nicht alle Effekte des Nicotins **17**. So wirkt es sich z. B. positiv auf das Lernverhalten von Ratten aus und zeigt darüber hinaus anxiolytische Eigenschaften. Beide Wirkungen waren nicht durch die vorherige Gabe der nAChR-Antagonisten Mecamylamin **39** oder Dihydro- β -erythroidin **35** zu unterdrücken.^{235, 236}

22 | Einleitung

Lobelin **29** wurde des Weiteren auch als Tabakentwöhnungsmittel eingesetzt.²³⁷ Darüber hinaus konnte vor kurzer Zeit gezeigt werden, dass Derivate des Lobelins den vesikulären Monoamintransporter-2 (VMT-2) mit K_i -Werten im nanomolaren Bereich hemmen.²³⁸⁻²⁴⁰

(+)-Anatoxin-a **30** ist ebenfalls ein natürlich vorkommendes Alkaloid, welches aus dem Süßwasser-Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae* isoliert werden kann (s. Abb. 1.14).²⁴¹ Es bindet mit nanomolarer Affinität sowohl an $\alpha 4\beta 2^*$ - ($K_i = 1.1$ nM) als auch an $\alpha 7^*$ -Rezeptoren ($K_i = 90$ nM),²⁴² wobei die Bindungsdaten in der Literatur stark schwanken.^{204, 243, 244} Anatoxin-a **30** ist ein voller Agonist an $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren ($EC_{50} = 48$ nM) und damit etwa 150fach wirksamer als (-)-Nicotin **17** und 20fach wirksamer als ACh **1**. Am $\alpha 7^*$ -Rezeptor wurden dagegen nur EC_{50} -Werte im unteren mikromolaren Bereich gemessen.²⁴⁵ Das Anatoxin-a-Analogon UB-165 **31**, welches statt dem Acetylrest den 6-Chlorpyridylrest des Epibatidins **27** trägt, ist ein partieller Agonist an $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren mit ebenfalls sehr hoher Affinität für den nAChR ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 0.04$ nM, $\alpha 7^*$: $K_i = 12$ nM, $\alpha 3\beta 4^*$: $K_i = 1.3$ nM).²⁴⁶⁻²⁴⁸

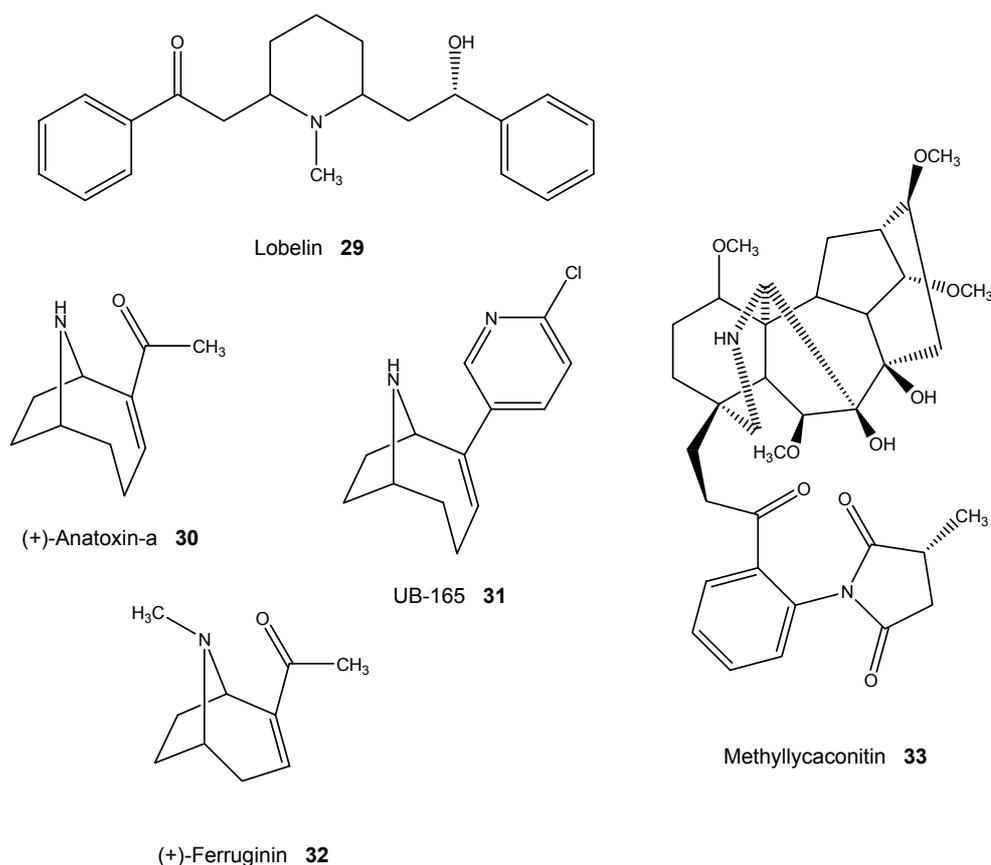


Abb. 1.14: nAChR-Liganden Lobelin **29**, Anatoxin-a **30**, UB-165 **31**, Ferruginin **32** und MLA **33**

(+)-Ferruginin **32** ist ein agonistisch wirkendes Neurotoxin am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, das in der braunen Seideneiche *Darlingiana darlingiana* F. Muell und *Darlingiana ferruginea* J. F. Bailey (Proteaceae) vorkommt (s. Abb. 1.14).^{249, 250} Es besitzt nur eine schwach ausgeprägte Selektivität.

tät zum $\alpha 4\beta 2^*$ - ($K_i = 120$ nM) im Vergleich zum $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 330$ nM). Das demethylierte Ferruginin zeigt jedoch eine vergleichsweise hohe Selektivität ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 94$ nM, $\alpha 7^*$: $K_i = 110$ μ M). Weitere Strukturmodifikationen, wie der Austausch der Acetylgruppe gegen Pyridazin- und Pyrimidinringe, erzeugte neue Norferruginin-Derivate mit hoher Subtypselektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.^{242, 251}

Das Norditerpenoid-Alkaloid Methyllycaconitin (MLA) **33** lässt sich aus Rittersporn-Arten *Delphinium ssp.* (Fabaceae) isolieren²⁵² und ist ein selektiver und kompetitiver Antagonist für $\alpha 7^*$ -Rezeptoren ($K_i = 1.4$ nM) (s. Abb. 1.14).²⁵³ MLA **33** ist etwa 30fach schwächer wirksam am $\alpha 4\beta 2^*$ - als auch am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor sowie am muskulären Subtyp.²⁵⁴ Es interagiert jedoch auch mit $\alpha 3$ - und $\alpha 6$ -enthaltenden Rezeptoren mit K_i -Wert im niedrigen nanomolaren Bereich.²⁵⁵ Wegen seiner hohen Affinität zum $\alpha 7^*$ -Rezeptor ist [³H]MLA ein wichtiger Radioligand zur Erforschung des nAChR geworden.²⁵⁶

Klasse 5: Kation N^+ und HBA/ π -System in einem kondensierten Ringsystem

In der letzten Gruppe der nicht-peptidischen Liganden des nAChR liegen die zwei Strukturmerkmale Kation N^+ und HBA/ π -System in einem einzigen kondensierten Ringsystem vor.

Das Alkaloid (-)-Cytisin **34** (s. Abb. 1.15) ist ein Prototyp dieser Klasse von Liganden und kommt in vielen Pflanzenarten der Familie der *Fabaceae* (Schmetterlingsblütler) vor. Es besitzt hohe Subtypselektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 0.122$ nM) mit picomolarer Affinität.²⁵⁷ Da es Gegenstand dieser Arbeit ist, wird es in Kapitel 4.1 ausführlicher beschrieben.

Dihydro- β -erythroidin (DH β E) **35** (s. Abb. 1.15) ist ebenfalls ein natürlich vorkommendes Alkaloid. Es lässt sich aus den Samen verschiedener Arten der Gattung *Erythrina* (Korallenbäume) isolieren und wirkt als kompetitiver Antagonist an neuronalen nAChR. Es besitzt ein Präferenz zu heteromeren nAChR ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 14.8$ nM) verglichen mit homomeren nAChR ($\alpha 7^*$: $K_i = 9000$ nM). Dies gilt auch für funktionelle Experimente.²⁵⁸⁻²⁶⁰ Es ist ebenfalls in vivo wirksam und wird in Tierversuchen dazu benutzt, die $\alpha 4\beta 2^*$ -vermittelten Effekte von Nicotin **17** selektiv zu inhibieren und von den $\alpha 7^*$ -vermittelten Effekten zu trennen.^{261, 262}

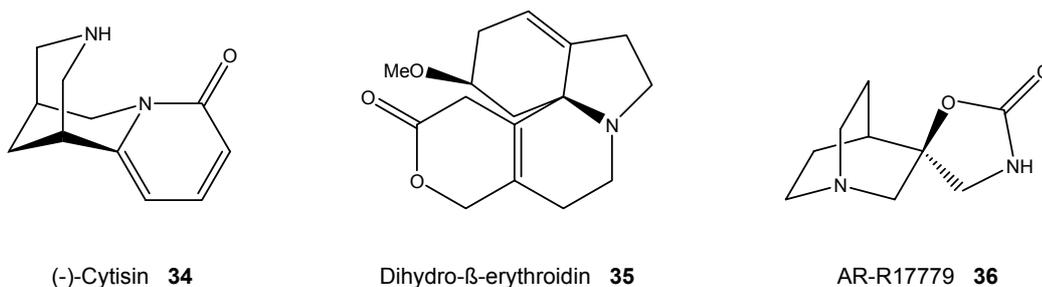


Abb. 1.15: nAChR-Liganden Cytisin **34**, Dihydro- β -erythroidin **35** und AR-R17779 **36**

Wie viele selektive $\alpha 7^*$ -Liganden besitzt auch das Spiroazabicyclooxazolidinon-Derivat AR-R17779 **36** ein Chinuclidin-Grundgerüst (s. Abb. 1.15). Es ist ein sehr selektiver Ligand am $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 92$ nM), verglichen mit dem $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 16$ μ M), und ein selektiver und voller Agonist für diesen Rezeptorsubtyp.²⁶³ In Tierversuchen zeigte AR-R17779 **36** positive Effekte auf das Lernverhalten und Erinnerungsvermögen, jedoch keine positiven Effekte auf das Aufmerksamkeitsverhalten.²⁶⁴⁻²⁶⁶

Peptidliganden

Neben den oben beschriebenen nicht-peptidischen Liganden gibt es auch eine kleine Anzahl von Peptidliganden, die eine große Bedeutung für den nAChR besitzen.

α -Bungarotoxin (α -Bgtx) ist ein Bestandteil im Gift des Vielbindenbungars *Bungarus multicinctus*, der auch Krait genannt wird. Dieser ist eine weit verbreitete Giftschlagenart aus der Familie der *Elapidae* (Giftnattern) und kommt in tropischen und subtropischen Gegenden in Südostasien vor.²⁶⁷ Das Gift des Vielbindenbungars enthält eine Mischung aus basischen Neurotoxinen, das α -Bungarotoxin, das β -Bungarotoxin sowie das κ -Bungarotoxin.²⁶⁸ Das etwa 8 kDa große α -Bgtx ist ein kompetitiver Antagonist mit hoher Affinität und Selektivität für den $\alpha 7^*$ -Rezeptor sowie den muskulären Subtyp ($K_i = 0.35$ nM bzw. $K_i = 3.5$ nM).^{256, 269} Außerdem ist es seit langem ein sehr wichtiges pharmakologisches Werkzeug für die Charakterisierung des muskulären nAChR.²⁷⁰ Darüber hinaus interagiert α -Bgtx auch mit $\alpha 8^*$ - und $\alpha 9^*$ -enthaltenden Rezeptoren. Zu den weiteren neuronalen nAChR, die aus verschiedenen α - und β -Untereinheiten aufgebaut sind, besitzt α -Bgtx jedoch keine Affinität.³⁴ Große Bedeutung besitzt heute noch der Radioligand [¹²⁵I] α -Bgtx, der einen K_D -Wert von 0.7 nM am $\alpha 7^*$ -Rezeptor besitzt.^{256, 271}

α -Conotoxine (α -Ctx) sind kurze Polypeptide aus 12-30 Aminosäuren, die im Gift verschiedener Arten der Familie der *Conidae* (Kegelschnecken) vorkommen. Kegelschnecken findet man in fast allen tropischen Meeren und sie benutzen ihr Gift zur Jagd nach Würmern, Schnecken oder kleinen Fischen. Dabei kann dieses Gift auch für Menschen gefährlich werden. Strukturell haben die α -Conotoxine das gemeinsame Merkmal von 4 konservierten Cysteinresten, die jeweils 2 Disulfidbrücken bilden und zwar zwischen dem ersten und dem dritten sowie zwischen dem zweiten und dem vierten Cystein.²⁷² α -Conotoxine besitzen oft bemerkenswerte Selektivitäten zu einzelnen Subtypen ligandgesteuerter sowie spannungsabhängiger Ionenkanäle. Diese hohe Subtypselektivität lässt sich einer Hypothese nach durch einen „dock-und-lock“-Mechanismus erklären. Danach soll es nach einem ersten Kontakt einer „dock“-Erkennungsregion mit einer komplementären Struktur auf Rezeptorseite zu einer Konformationsänderung innerhalb des Peptides kommen. Erst diese Konformationsänderung führte dann zu der entsprechenden Bindung zwischen der „lock“-Region und einer komplementären Struktur auf Rezeptorseite.^{273, 274}

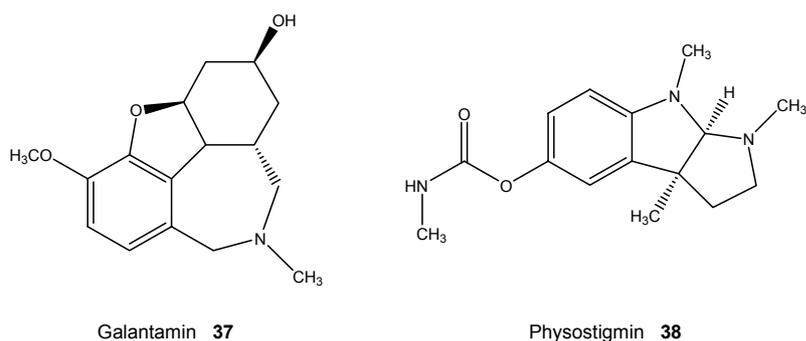
Die Conotoxine lassen sich nach ihren Zielstrukturen und nach ihrer eigenen Struktur in verschiedene Familien und Überfamilien einteilen. Benannt werden die Conotoxine mit Kürzeln, die ihren Artnamen repräsentieren.²⁷⁵ Einige wichtige Vertreter dieser Antagonisten am nAChR sind α -Ctx MII, α -Ctx PIA, α -Ctx AulB und α -Ctx IMI. α -Conotoxin MII, das aus der Spezies *Conus magnus* isoliert werden konnte, zeigte hohe Affinität und Selektivität zu $\alpha 3\beta 2^*$ - sowie $\alpha 6\beta 2^*$ -Rezeptoren, die in *Xenopus laevis* Oocyten exprimiert wurden.²⁷⁶⁻²⁷⁸ Kürzlich wurde das neue α -Ctx PIA entdeckt, welches in *Conus purpurascens* vorkommt, und eine höhere Affinität zu $\alpha 6$ -enthaltende Rezeptoren aufweist als zu $\alpha 3$ -enthaltenden. Dies ist insofern bemerkenswert als beide Untereinheiten ein hohes Maß an Homologie aufweisen.²⁷⁹ Das α -Ctx IMI, welches im Gift von *Conus imperialis* vorkommt, erwies sich als selektiver Antagonist am $\alpha 7^*$ -Rezeptor. Daneben besitzt es eine etwa 8fach schwächere Affinität zum $\alpha 9^*$ -Rezeptor, eine sehr schwache Affinität zum muskulären Subtyp, jedoch keine Affinität zu anderen Subtypen, die aus verschiedenen Kombinationen aus α - und β -Untereinheiten zusammengesetzt sind.^{280, 281} Das α -Ctx AulB, das in *Conus aulicus* gefunden wurde, ist das bisher einzige Conotoxin, das eine selektive Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor aufweist.²⁸²

Diese und weitere Conotoxine stellen nicht nur wichtige pharmakologische Werkzeuge dar, sondern wurden auch auf einen möglichen therapeutischen Einsatz hin untersucht. Ziconotid (Prialt®) ist ein Wirkstoff, der aus dieser Forschung hervorgegangen ist. Es handelt sich um ein synthetisch hergestelltes ω -Conotoxin MVIIA, das aus 25 Aminosäuren besteht und das selektiv spannungsabhängige Calciumkanäle vom so genannten N-Typ hemmt. Es zeigt eine 10000fach stärkere analgetische Wirkung als Morphin, ohne die typischen Nebenwirkungen der Opiate, wie Toleranz oder Abhängigkeit, zu besitzen. Ein Nachteil ist allerdings die Applikation als intrathekale Dauerinfusion. Ziconotid ist zugelassen zur Schmerzbehandlung bei Patienten mit starken Schmerzen.^{283, 284} Ein weiteres Indikationsgebiet für Conotoxine, das z. Z. untersucht wird, ist Epilepsie.²⁸⁵

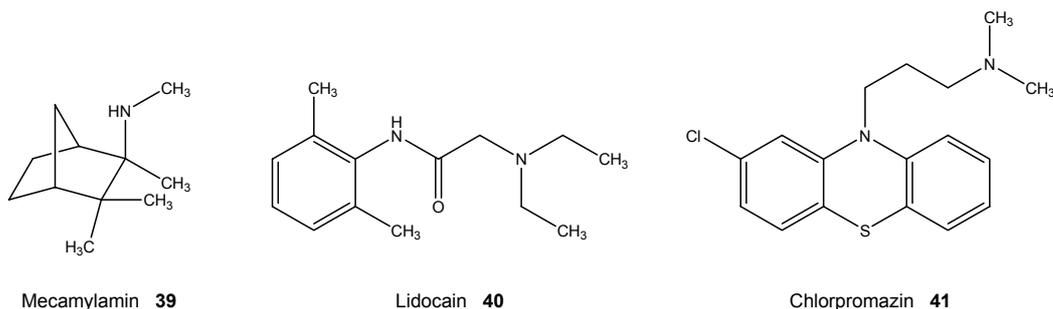
Allosterische Modulatoren

Während die oben erwähnten Liganden alle eine Affinität zur orthosterischen Bindungsstelle zeigen, besitzen einige Verbindungen Affinität zu verschiedenen allosterischen Bindungsstellen. Man kann diese allosterisch wirkenden Verbindungen in positive und negative allosterische Modulatoren einteilen, je nachdem wie die Funktion des Rezeptors durch ihre Bindung beeinflusst wird. Dabei scheint der nAChR über verschiedene allosterische Bindungsstellen zu verfügen.¹⁶

Von den beiden Acetylcholinesterase-Inhibitoren Galantamin **37** und Physostigmin **38** sowie von dem Anthelminthikum Ivermectin ist bekannt, dass sie **positive allosterische Modulatoren** am nAChR darstellen (s. Abb. 1.16). Es wird vermutet, dass sich diese Bindungsstelle auf einer α -Untereinheit befindet.⁸⁰

Abb. 1.16: Positiv allosterische Modulatoren Galantamin **37** und Physostigmin **38**

Demgegenüber gehören Substanzen wie Mecamylamin **39**, einige Lokalanästhetika wie z. B. Lidocain **40** und das Neuroleptikum Chlorpromazin **41** zu einer Gruppe von **negativ allosterischen Modulatoren**, die auch nicht-kompetitive Inhibitoren oder Blocker genannt werden (s. Abb. 1.17). Man geht davon aus, dass sie eine hochaffine Bindungsstelle in der zweiten transmembranären Domäne besitzen, die die äußere Begrenzung des eigentlichen Ionenkanals bildet. Daneben werden viele weitere niedrigaffine allosterische Bindungsstellen vermutet.²⁸⁶ Während die Anwesenheit eines Modulators im Ionenkanal die Passage auch durch die sterische Hinderung versperrt bzw. einengt, wird für alle allosterischen Bindungsstellen eine erhöhte Stabilität des desensibilisierten Zustandes angenommen.²⁸⁷

Abb. 1.17: Negativ allosterischen Modulatoren Mecamylamin **39**, Lidocain **40** und Chlorpromazin **41**

Mecamylamin **39** ist eine besonders interessante Verbindung, weil sie ursprünglich als Bluthochdrucktherapeutikum entwickelt wurde, zwischenzeitlich vom Markt genommen wurde, aber mittlerweile als solches auch wieder verwendet wird. Im Zusammenhang mit ihren antagonistischen Eigenschaften am nAChR, wird derzeit eine Reihe von weiteren Indikationen für Mecamylamin **39** untersucht.²⁸⁸ Es gibt einige Hinweise, dass Mecamylamin **39** auch antidepressive Eigenschaften besitzt²⁸⁹ und bei Krankheiten wie Tabakabhängigkeit^{290, 291} oder Tourette-Syndrom²⁹² wirksam sein könnte.

Weiterhin scheint es Bindungsstellen für sehr lipophile Moleküle zu geben, die an der Grenzfläche zwischen dem Rezeptorprotein und der Zellmembran vermutet werden. Dort sollen u. a. längere n-Alkohole, Fettsäuren und Barbiturate gebunden werden.^{286, 293} Auch Steroidhormone sind als allosterische Modulatoren bekannt, die vermutlich wiederum eine andere Bindungs-

stelle besitzen.²⁸⁷ Die modulierenden Eigenschaften der Steroide lassen sich schwer verallgemeinern, denn sie haben abhängig von den experimentellen Bedingungen und dem getesteten Rezeptorsubtyp sehr unterschiedliche Auswirkungen auf den nAChR.²⁹⁴⁻²⁹⁷ In den meisten Experimenten treten sie jedoch als negative allosterische Modulatoren auf.¹⁶ Weiterhin können auch Calciumionen²⁹⁸⁻³⁰⁰ sowie das endogene Lynx-1-Protein³⁰¹ die agonistischen Effekte von ACh **1** erhöhen.

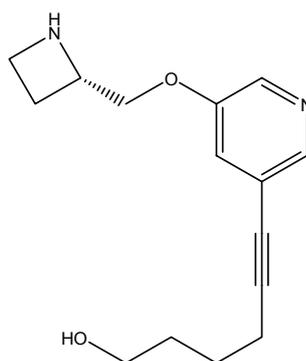
Sazetidin A **42**

Abb. 1.18: Ein so genannter stiller Desensibilisierer Sazetidin A **42**

Eine interessante Verbindung stellt die Verbindung Sazetidin A **42** dar, die sehr hohe Affinität am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor zeigte ($K_i = 0.41 \text{ nM}$) und nur eine sehr geringe Bindung zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 10 \text{ }\mu\text{M}$) aufwies (s. Abb. 1.18). Sie aktiviert den nAChR nicht, sondern reduziert die Aktivität von Nicotin **17** sehr stark, wenn der Rezeptor mit Sazetidin A präinkubiert wird. Es wird angenommen, dass Sazetidin A **42** das Gleichgewicht zwischen den Rezeptorzuständen stark auf die Seite des desensibilisierten Zustandes verschieben kann, ohne den Rezeptor zu aktivieren.³⁰² In-vivo-Versuche mit Ratten konnten kürzlich zeigen, dass Sazetidin A **42** auch analgetische Eigenschaften besitzt, ohne dabei neurologische Nebenwirkungen zu produzieren.³⁰³

1.4 Pharmakophormodelle

Durch das Fehlen konkreter Strukturdaten für die Bindungsstelle der verschiedenen nAChR-Subtypen, beispielsweise aus Kristallstrukturen oder NMR-Experimenten, ist eine strukturbasierte Suche nach neuen Liganden für den nAChR nur mit Einschränkungen möglich. Bereits vor einigen Jahren wurde das so genannte Acetylcholin-Bindungsprotein (AChBP), ein lösliches Polypeptid-Pentamer, das der extrazellulären Domäne des nAChR ähnelt, in der Süßwasserschnecke *Lymnaea stagnalis* entdeckt und seine Kristallstruktur bestimmt.^{38, 39} Es ähnelt be-

sonders dem $\alpha 7^*$ -Rezeptor. Seine Kristallstruktur kann als Homologiemodell benutzt werden, um neue Liganden für den nAChR durch computergestützte Verfahren zu suchen.³⁰⁴

Auf der anderen Seite können durch Strukturvergleiche aus einer Gruppe von Liganden diejenigen gemeinsamen Merkmale herausgefiltert werden, die für die Affinität oder Aktivität dieser Substanzen an einem bestimmten Rezeptor essentiell sind. Man bezeichnet dabei die räumliche Anordnung dieser essentiellen funktionellen Gruppen und Molekülbestandteile als ein Pharmakophor.³⁰⁵ Es stellt somit eine Art Schablone bzw. Anforderungsprofil dar, die für das Design und die Synthese von neuen Liganden nützliche Hilfestellung bieten kann.

Pharmakophormodelle wiederum können dazu benutzt werden, Rückschlüsse auf die Bindungsstellen an Rezeptorproteinen zu ziehen, ohne dessen Struktur zu kennen. Für den nAChR wurde das erste Pharmakophormodell 1970 von *Beers und Reich* beschrieben. Durch den Vergleich verschiedener Liganden des nAChR filterten sie die zwei wesentlichen Strukturmerkmale heraus, die eine Bindung zum nAChR bewirken: ein kationischer Stickstoff (N^+ oder Oniumgruppe) und ein Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor (**HBA**, z. B. der Sauerstoff einer Carbonylgruppe oder der Stickstoff eines Pyridinrings) in einem Abstand von 5.9 Å zueinander (s. Abb. 1.19).³⁰⁶

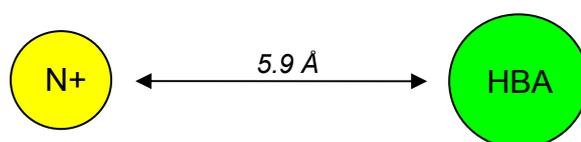


Abb. 1.19: Pharmakophormodell nach *Beers und Reich*³⁰⁶

Einige Jahre später wurde dieses Modell von *Sheridan et al.* um ein drittes Strukturmerkmal erweitert, den so genannten „dummy point“ **C** (s. Abb. 1.20). Dieser Punkt **C** markiert das andere Ende eines Dipols, z. B. das Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe im Cytisin **34** (s. Abb. 1.15) oder das Zentrum des Pyridinrings im Nicotin **17** (s. Abb. 1.10), und definiert so die Richtung der Wasserstoffbrückenbindung. Die Abstände zwischen diesem Punkt **C** und dem **HBA** bzw. dem kationischen Zentrum N^+ sollen idealerweise 1.2 Å bzw. 4.0 Å betragen, während der Abstand des **HBA** zum Kation N^+ 4.8 Å groß sein soll.³⁰⁷

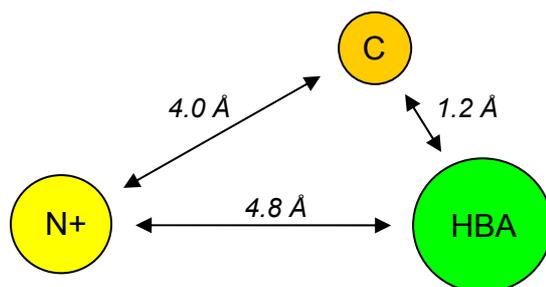


Abb. 1.20: Pharmakophormodell nach *Sheridan*³⁰⁷

Holladay et al. erweiterten dieses 3-Punkt-Modell zu einem 4-Punkt-Modell, in dem sie den beiden Stickstoffen **(1)** und **(2)** des Nicotins **17** zwei komplementäre pharmakophore Elemente **(3)** und **(4)** auf Rezeptorseite gegenüberstellten (s. Abb. 1.21). Für den Abstand dieser beiden Stickstoffe wurde ein Optimum von 4.85 Å vorgeschlagen. Sie betonten außerdem die Notwendigkeit eines eigenen Pharmakophormodells für jeden Rezeptorsubtyp und bezogen sich mit ihrem Modell auf den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.³⁰⁸

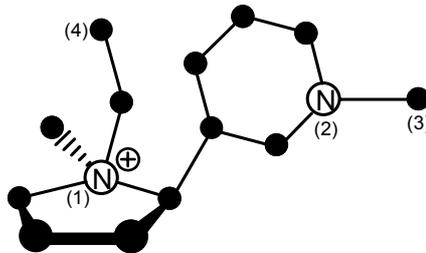


Abb. 1.21: Pharmakophormodell nach *Holladay et al.*³⁰⁸

Im Jahre 1999 wurde das Vektormodell von *Tønder et al.* eingeführt. Dieses schlägt vor, dass die zwei pharmakophoren Elemente **N+** und **HBA** der Liganden einen optimalen Abstand von 2.9 Å zu zwei korrespondierenden pharmakophoren Elementen **A** und **B** des Rezeptors haben (s. Abb.1.22). Der Abstand zwischen **A** und **B** von 7-8 Å konnte die Bindung von Liganden zum nAChR besser beschreiben als der schon damals kontrovers diskutierte Abstand der Elemente **N+** und **HBA**.³⁰⁹

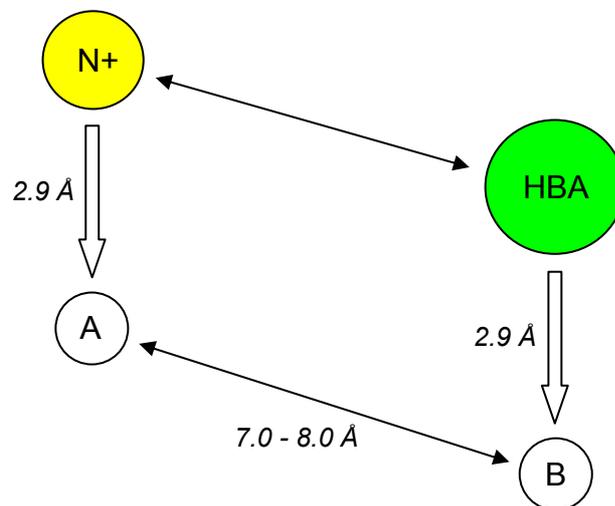


Abb. 1.22: Pharmakophormodell nach *Tønder et al.*³⁰⁹

Wenig später wurde dieses Vektormodell von denselben Autoren überarbeitet und um einen Punkt **C** erweitert. Dieser stellt dabei das Zentrum eines Heteroaromaten oder einer Carbonylgruppe dar. Für den Abstand dieses Punktes **C** zum Punkt **A** wurde darüber hinaus ein optimaler Abstand von 6.5-7.4 Å postuliert, sowie ein Winkel von 30-35 ° zwischen den Achsen **A-B** und **A-C** (s. Abb. 1.23).^{310, 311}

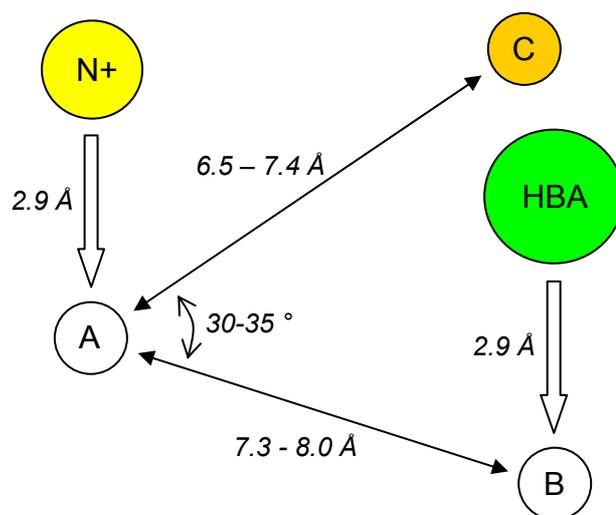
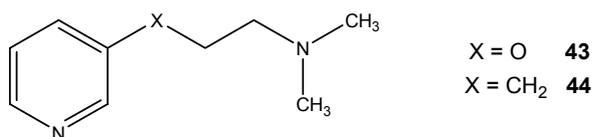


Abb. 1.23: Erweitertes Pharmakophormodell nach Tønder *et al.*^{310, 311}

Alle diese Pharmakophormodelle stellen interessante und viel versprechende Ansätze dar, die Strukturvoraussetzungen für Liganden in einem Modell zu verallgemeinern. Allerdings entstehen viele dieser Modelle aus einer sehr geringen Anzahl von Liganden oder es werden Bindungsdaten sowohl von Agonisten als auch von Antagonisten benutzt.³⁰⁶⁻³⁰⁸ Außerdem werden nicht selten Daten aus verschiedenen Arbeitsgruppen miteinander verglichen, bei deren Erzeugung teilweise sehr unterschiedliche Bedingungen oder Radioliganden zum Einsatz kamen.¹⁷⁰

Weiterhin können diese Pharmakophormodelle z. T. sehr unterschiedliche Effekte von sehr ähnlichen Verbindungen nicht erklären. Der schon erwähnte Abstand von 4.8 Å der zwei pharmakophoren Stickstoffe³⁰⁷ konnte beispielsweise nicht die extrem hohe Affinität von Epibatidin **27** erklären, für das zunächst ein N-N-Abstand von 5.5 Å gefunden wurde.³¹² Spätere Berechnungen konnten jedoch zeigen, dass es weitere Konformere mit sehr niedriger Energie gibt, deren N-N-Abstand zwischen 4.6 und 5.6 Å liegt.³¹³ Dies zeigt, dass die Frage in welcher energetisch günstigen Konformation ein Ligand an seinen Rezeptor bindet, immer wieder auftritt und schwer zu beantworten bleibt. Ferner gibt es Liganden für die N-N-Abständen > 8 Å angenommen werden und die eine gute Affinität zum nAChR aufweisen.^{314, 315} Der N-N-Abstand alleine scheint damit nicht geeignet zu sein, Bindungsdaten unterschiedlicher Substanzen zu erklären oder vorherzusagen.

Auch das Vektormodell nach Tønder *et al.* kann für bestimmte Daten keine Erklärungen liefern. So kann es beispielsweise nicht erklären, warum der Austausch eines Sauerstoffatoms in Verbindung **43** gegen eine Methylengruppe (Verbindung **44**) die Abnahme des K_i -Wertes um mehr als das 500fache bewirkt (s. Abb. 1.24). Verbindung **43** besitzt einen K_i -Wert von 21 nM am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, während für Verbindung **44** ein K_i -Wert > 10 μ M für diesen Rezeptorsubtyp beschrieben wurde.

Abb. 1.24: Verbindungen **43** und **44**

Ein möglicher Erklärungsansatz für sehr unterschiedliche und bisher nicht erklärbare Resultate, könnte der Einbau von Wassermolekülen in die Bindung zwischen Ligand und Rezeptor sein. Dabei wird ein Wassermolekül in die Bindung zwischen dem protonierten Stickstoff und dem π -System des Rezeptors oder zwischen der Bindung des HBA-Systems und dem Rezeptor interkaliert. Obwohl sich einige Daten damit elegant erklären ließen, ist dies bisher lediglich eine Hypothese.³¹⁴

Ein interessanter Ansatz für die Entwicklung von neuen Pharmakophormodellen ist die Verwendung von Bindungsdaten und funktionellen Daten in einem Modell. Ein solches 3D-QSAR-Modell bietet sowohl Informationen über die strukturellen Voraussetzungen einer hohen Affinität als auch darüber, welche Strukturen für das funktionelle Profil von Liganden wichtig sind. *Tosco et al.* publizierte kürzlich ein solches Modell für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, das aus mehreren Gruppen von Pyridin enthaltenden Verbindungen, wie z. B. A-85380 **24**, erstellt wurde. Der Nachteil dieses Modells war jedoch die geringe Anzahl an Verbindungen, die viele Standardliganden für den nAChR, wie z. B. Acetylcholin **1**, Nicotin **17** oder Epibatidin **27**, nicht beinhaltete.³¹⁶

Allgemeine Akzeptanz herrscht jedoch über die zwei grundsätzlichen pharmakophoren Elemente **N⁺** und **HBA**. Aber bereits bei deren Abstand zueinander ergeben sich aus den Modellen größere Unterschiede. Es wird sich also erst in der Zukunft zeigen, ob neue Modelle in der Lage sein werden, noch widersprüchliche Ergebnisse in einem Modell zu erklären.

2 Zielsetzung der Arbeit

Nicotinische Acetylcholinrezeptoren werden mit einer Reihe von physiologischen Vorgängen, wie dem Lernen und der Schmerzwahrnehmung, sowie pathophysiologischen Prozessen, wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson oder der Schizophrenie, in Zusammenhang gebracht und stellen daher wichtige Targets für die Arzneistoffforschung dar.^{68, 80, 168, 317} Dabei sind die genaue Zusammensetzung, die Verteilung in verschiedenen Geweben und die Funktionen der nAChR noch unzureichend bekannt bzw. verstanden. Während im ZNS die Subtypen $\alpha 4\beta 2^*$ und $\alpha 7^*$ am häufigsten vorkommen, sind die Funktionen weiterer Untereinheiten des nAChR im ZNS, wie z. B. $\alpha 5$ oder $\beta 3$, noch weitgehend unklar.²⁸ Die Entwicklung subtypselektiver Liganden stellt dabei eine Möglichkeit dar, diese Zusammenhänge von Rezeptorzusammensetzung, -verteilung und -funktion zu untersuchen.

Im Hinblick auf eine therapeutische Verwendung sind durch das große akademische und industrielle Interesse bereits einige potentielle Arzneistoffkandidaten gegen ADHS (ABT-089 **23**), Morbus Alzheimer (GTS-21 **22**, RJR-2403 **15**) und Morbus Parkinson (SIB-1508Y **18**) bis in die Phase der klinischen Prüfung gekommen. Auch für weitere Indikationen, wie z. B. Tabakabhängigkeit, Schmerzen oder Depressionen, sind Wirkstoffe in der klinischen oder prä-klinischen Entwicklung. Für die Behandlung der Tabakabhängigkeit steht bereits seit einigen Jahren das Vareniclin **123** (Champix™) zur Verfügung.

Ein wichtiger Ligand für den nAChR ist das Alkaloid (-)-Cytisin **34**. Es besitzt picomolare Affinität und Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 120 \text{ pM}$).³¹⁸ (-)-Cytisin **34** wurde bereits in vielen Arbeiten als Ausgangspunkt oder Leitstruktur für die Synthese neuer Substanzen mit größerer Subtypselektivität genutzt.^{257, 319-322} Daneben zeigt (-)-Cytisin **34** auch interessante pharmakologische Eigenschaften. In Bulgarien wird es bis heute als Tabakentwöhnungsmittel (Tabex®) eingesetzt,^{323, 324} und in Russland wurde (-)-Cytisin **34** als respiratorisches Analeptikum verwendet.³²⁵ Kürzlich konnte außerdem in Tiermodellen eine antidepressive Wirkung für dieses Alkaloid gezeigt werden.⁸⁷

Das Cytisinmolekül **34** kann man als ein Bispidinmolekül **45** mit anelliertem 2-Pyridonring **46** auffassen (s. Abb. 2.1). Dabei stellt das Bispidinmolekül **45** ein semirigides Grundgerüst dar, welches im (-)-Cytisin **34** die sekundäre Aminogruppe trägt, die eine wichtige Rolle für die Interaktion mit dem Rezeptor spielt.

34 | Zielsetzung der Arbeit

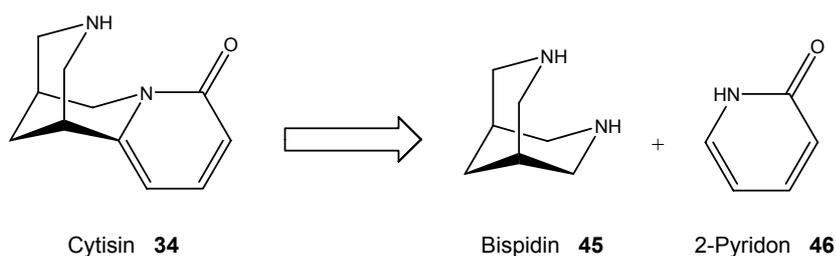
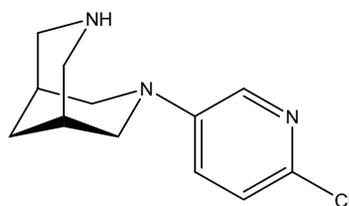


Abb. 2.1: Aufbau des Cytisins **34** aus einem Bispidin-Grundgerüst **45** und 2-Pyridon **46**

Über Bispidin-Derivate als Liganden für den nAChR ist in der Literatur bisher wenig bekannt. In Patenten finden sich nur wenige Bispidin-Derivate, wie z. B. Verbindung **47**, jedoch ohne Angabe von biologischen Daten. Viele dieser Bispidin-Derivate tragen einen substituierten Pyridinring, der direkt mit dem Stickstoff des Bispidinmoleküls verknüpft ist (s. Abb. 2.2).³²⁶



Bispidin-Derivat **47**

Abb. 2.2: Bispidin-Derivat **47** mit einem 6-Chlor-3-Pyridinring als Substituenten³²⁶

Es sollten deshalb neue Bispidin-Derivate **48** synthetisiert und auf ihre Affinität zum nAChR untersucht werden. Ein Stickstoff des Bispidins muss dabei protonierbar sein oder als quartäres Ammoniumion vorliegen, um eine Interaktion mit dem Rezeptor zu ermöglichen. Für eine ZNS-Aktivität sollte er jedoch in seiner Funktionalität sekundär oder tertiär sein. Der zweite Stickstoff kann substituiert werden und sollte Teil eines Linkers sein, der unterschiedliche Substituenten mit dem Bispidin-Grundgerüst verbindet (s. Abb. 2.3). Um aus dieser allgemeinen Struktur eine breite Vielfalt möglicher Zielstrukturen zu erhalten, sollten sowohl verschiedene Linker als auch unterschiedliche Substituenten verwendet werden.

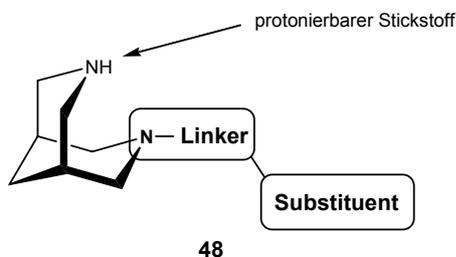


Abb. 2.3: Allgemeine Formel **48** der neuen Bispidin-Derivate

In einem ersten Projekt sollten Bispidin-Derivate mit einem Carbonsäureamid-Linker synthetisiert werden. Diese funktionelle Gruppe ist auch im (-)-Cytisin **34** als Teilstruktur enthalten (s. Abb. 2.4). Mit der Synthese dieser Bispidinamide **49**, wären auch die zwei wichtigen Forderungen aus den Pharmakophormodellen erfüllt, das Vorhandensein eines protonierbaren Stickstoffes N^+ und eines **HBA/ π** -Systems. Mit Hilfe der Daten aus Radioligand-Bindungsstudien kann dann der Einfluss der unterschiedlichen Substituenten an der Carbonylgruppe auf die Bindung zum nAChR untersucht werden.

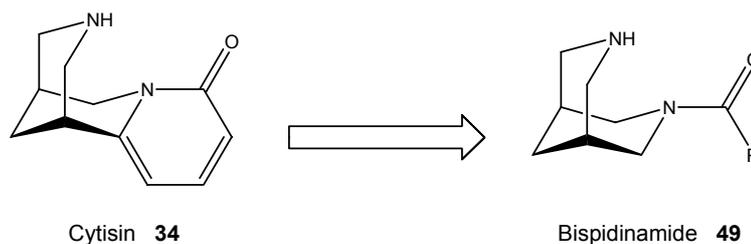


Abb. 2.4: Herleitung der allgemeinen Struktur der Bispidinamide **49** aus dem Cytisinmolekül **34**

In einem Teilprojekt sollten Bispidinamid-Derivate mit einem Vinyl-Spacer zwischen dem Carbonsäureamid-Linker und aromatischen oder heteroaromatischen Substituenten hergestellt werden (s. Abb. 2.5). Dadurch könnte der Einfluss des Abstandes zwischen dem Bispidin-Grundgerüst und den Substituenten untersucht werden. Außerdem reduziert dieser Vinyl-Spacer die Flexibilität der Substituenten.

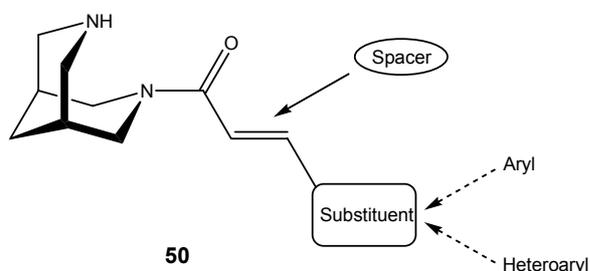


Abb. 2.5: Allgemeine Struktur von Bispidinamiden **50** mit einem Vinyl-Spacer

In einem weiteren Teilprojekt sollte der Einfluss des Linkers auf die Bindung zum nAChR untersucht werden. Dabei könnte die Carbonsäureamidgruppe durch eine Sulfonsäureamidgruppe oder eine Harnstoffgruppe ersetzt werden. Die Daten aus Radioligand-Bindungsstudien sollten zeigen, welchen Einfluss der Austausch des Linkers auf die Interaktion mit dem nAChR besitzt. So würde sich insgesamt eine Vielzahl unterschiedlicher Bispidin-Derivate **50** herstellen lassen, die sich sowohl durch den Linker als auch durch den Substituenten voneinander unterscheiden (s. Abb. 2.6).

36 | Zielsetzung der Arbeit

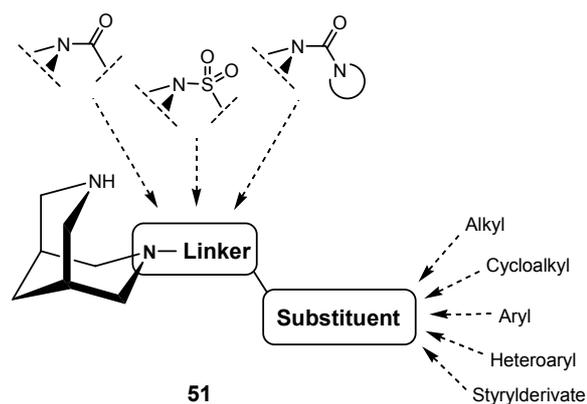


Abb. 2.6: Allgemeine Formel **51** für neue Bispidin-Derivate

Im Rahmen eines zweiten Projektes sollten bereits bekannte Cytisin-Derivate hergestellt werden, deren Synthese in unserem Arbeitskreis bereits etabliert werden konnten.³²⁰ Von (-)-Cytisin **34** weiß man, dass es ein Partialagonist am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ist.³²⁷ Es konnte vor kurzer Zeit gezeigt werden, dass (-)-Cytisin **34** auch antidepressive Eigenschaften in Tiermodellen besitzt.⁸⁷ Des Weiteren ist von einigen Cytisin-Derivaten bekannt, dass sie partialagonistische Eigenschaften am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor besitzen, z. B. 5-Brom-Cytisin **52**.³²⁸ Um Erkenntnisse darüber zu erlangen, ob dieser partialagonistische Effekt am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor mit den antidepressiven Eigenschaften in Verbindung steht, und ob sich durch subtypselektive Liganden, wie das Cytisin-Derivat **53** ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 0.91$ nM, $\alpha 3\beta 4^*$: $K_i = 119$ nM) oder **54** ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 10.9$ nM, $\alpha 3\beta 4^*$: $K_i = 4300$ nM), eine bessere Wirksamkeit in Tiermodellen erzeugen lässt, sollten die Verbindungen **52**, **53** und **54** synthetisiert und auf ihre funktionellen Eigenschaften am $\alpha 4\beta 2^*$ -, $\alpha 3\beta 4^*$ und $\alpha 7^*$ -Rezeptor sowie in Tiermodellen auf ihre antidepressive Wirkung untersucht werden.

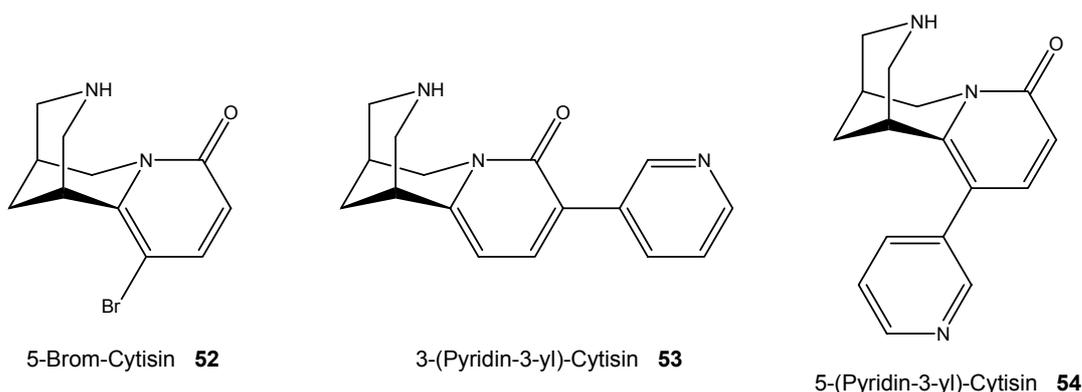


Abb. 2.7: Strukturformeln für die Cytisin-Derivate **52**, **53** und **54**

Die Synthesen der Cytisin-Derivate waren bereits beschrieben³²⁰ und beinhalteten folgende Schritte: Isolierung von (-)-Cytisin **34** aus Goldregensamen, Einführung einer *t*Boc-Schutzgruppe an das sekundäre Amin des (-)-Cytisin **34**, Bromierung des Pyridonringes, Suzuki-Miyaura Kreuzkupplung zur Einführung des 3-Pyridin-Substituenten und Entfernen der *t*Boc-Schutzgruppe. Im Hinblick auf mögliche Tierversuche und weitere in-vitro-Untersuchungen

sollten die Synthesen auf die Möglichkeit eines „Upscaling“ untersucht werden, um eine effizientere Reaktionsführung zu erreichen.

Die funktionellen Eigenschaften sollten im Labor von *Roger Papke* (University of Florida, Gainesville, USA) mit Hilfe von patch-clamp-Experimenten an *Xenopus laevis* Oocyten untersucht werden, die den $\alpha 4\beta 2^*$ -, $\alpha 3\beta 4^*$ - und $\alpha 7^*$ -Rezeptorsubtyp exprimierten. Die Tierversuche sollten in Kooperation mit *Marina Picciotto* (Yale University, New Haven, USA) an C57/BL6 Mäusen in drei verschiedenen Modellen zu antidepressivem Verhalten (tail suspension test, forced swim test, novelty-suppressed test) durchgeführt werden.

3 Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

3.1 Allgemeine Bispidinsynthesen und Bispidinderivate

Die ersten Synthesen von Bispidin-Derivaten gehen auf *Guthzeit und Jahn* zurück, die 1902 das synthetische Verhalten von Dicarboxyglutarsäureestern mit Ammoniak und Anilin beschrieben. Sie setzten dabei Propan-1,1,3,3-tetracarbonsäureethylester **55** mit wässriger Ammoniaklösung bzw. Anilin um. Bei Verwendung wässriger Ammoniaklösung erhielten sie zunächst das entsprechende Tetraamid **56**, das sich beim Erwärmen unter vermindertem Druck und unter Abspaltung von Ammoniak in das Tetraoxobispidin **57** umwandeln ließ (s. Abb. 3.1). Das Diimid **57** zeigte saure Eigenschaften und konnte mit verschiedenen Kationen als Salz gefällt werden.³²⁹

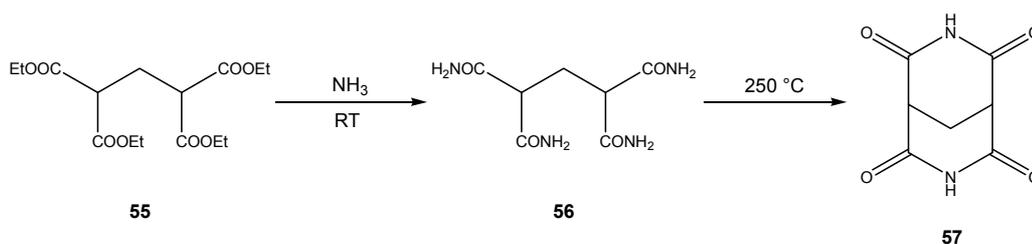


Abb. 3.1: Synthese von Tetraoxobispidin **57** nach *Guthzeit und Jahn*³²⁹

Ein ähnliches Verfahren, welches ebenfalls auf einer intramolekularen Cyclisierung beruht, wurde später von *Stetter*^{330, 331} und *Hoerlein*^{332, 333} dazu benutzt, neue Bispidin-Derivate herzustellen. Ausgehend von 2,6-Dioxo-3,5-dicyanopiperidin-Derivaten **58**, kam es dabei im Säuren zu einem Ringschluss, welcher 2,4,6,8-Tetraoxo-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-Derivate **59** lieferte. In einem nachfolgenden Reaktionsschritt konnten diese Derivate zu den sauerstofffreien Bispidin-Derivaten **60** reduziert werden (s. Abb. 3.2). Interessant an diesem Syntheseverfahren war, dass sich auf diese Weise Bispidin-Derivate herstellen ließen, die verschiedene Alkyl-Substituenten am Kohlenstoff der Position 9 trugen sowie einen Substituenten an einem der beiden Stickstoffatome.

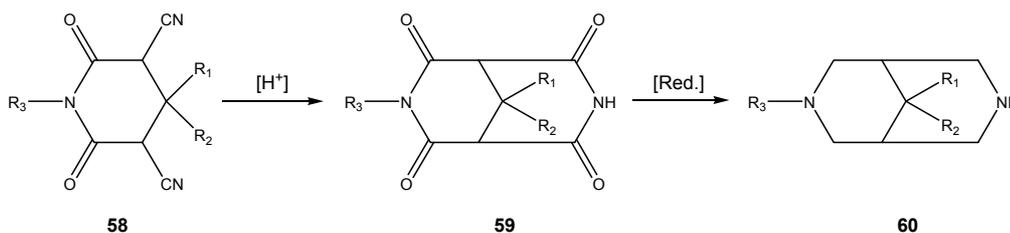


Abb. 3.2: Synthese von Bispidin-Derivaten **60** nach *Hoerlein*³³²

40 | Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

Die Synthese von Tetraoxobispidin **57** (s. Abb. 3.1) wurde in den letzten Jahren dazu benutzt, neue Spartein-Analoga herzustellen, die als asymmetrische Katalysatoren Anwendung finden sollen.^{334, 335} Das natürlich vorkommende (-)-Spartein kann in einer Vielzahl von enantioselektiven Synthesen als chiraler Ligand eingesetzt werden und auf diese Weise den stereochemischen Ausgang der Reaktionen beeinflussen.³³⁶ Chirale Bispidin-Derivate sowie vom Cytisin abgeleitete Diamine finden deshalb großes Interesse als Spartein-Analoga, z. B. für metallkatalysierte, enantioselektive Synthesen.³³⁷⁻³⁴¹

Galinovsky und Langer beschrieben 1955 eine weitere Möglichkeit Bispidin-Derivate herzustellen. Sie erhielten, ausgehend von Dinicotinsäurediethylester **61**, zunächst das hydrierte Piperidin-Derivat **62**, welches sich mit Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH_4) in das Diol **63** umwandeln ließ. Diese Diol **63** konnte mit Bromwasserstoff zum Brom-Derivat **64** umgesetzt werden, welches wiederum anschließend mit Ammoniak im Autoklav zu Bispidin (3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan) **45** reagierte (s. Abb. 3.3). Auch diese Synthese beruht auf einem intramolekularen Ringschluss und durch eine weitere Umsetzung des Bispidins **45** mit Formaldehyd konnte Diazaadamantan **65** erhalten werden.³⁴²

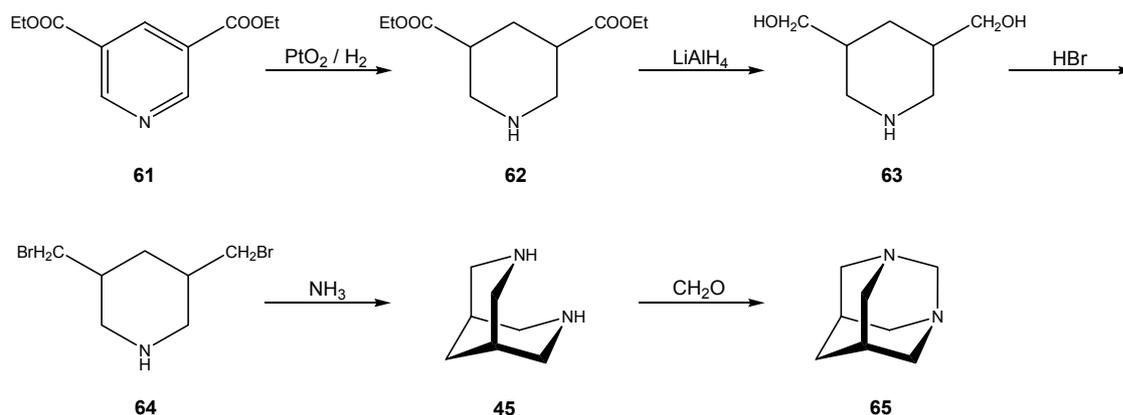
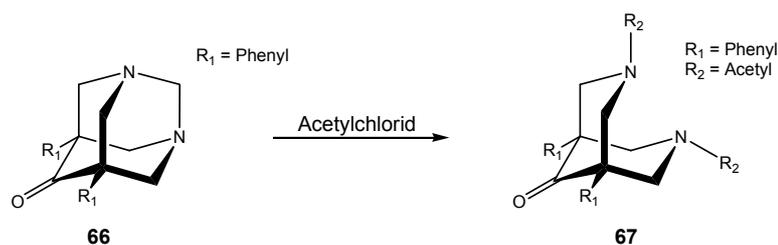
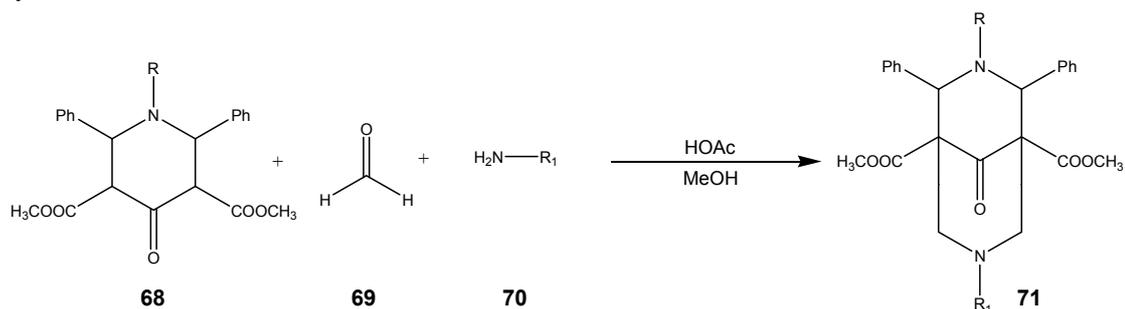


Abb. 3.3: Synthese von Bispidin **45** und Diazaadamantan **65** nach *Galinovsky und Langer*³⁴²

Auf dem umgekehrten Weg kann man auch durch die Spaltung von Diazaadamantan-Derivaten zu Bispidin-Derivaten gelangen. So konnte aus 5,7-Diphenyl-1,3-diazaadamantan-6-on **66** durch die Reaktion mit Acetylchlorid oder Essigsäureanhydrid 3,7-Diacetyl-1,5-diphenyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on **67** hergestellt werden. Durch die Reaktion mit Benzoylchlorid konnte das entsprechende Benzoesäure-Derivate in gleicher Weise hergestellt werden.³⁴³ Zur Synthese von neuen Bispidin-Derivaten ist dieser Syntheseweg jedoch wenig geeignet, da Bispidin-Derivate erst nach einer mehrstufigen Synthese aus den komplexen Diazaadamantan-Derivaten hergestellt werden könnten (s. Abb. 3.4).

Abb. 3.4: Synthese des Bispidin-Derivates **67** aus dem Diazaadamantan-Derivat **66**³⁴³

Namensgebend für den Bicyclus des Bispidins **45** war jedoch *Mannich*, der das 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan-Grundgerüst als einen kondensierten Bicyclus zweier Piperidinringe auffasste und ihm den Name **Bispidin** (von **Bispiperidin**) gab.^{344, 345} Die von ihm entwickelte Synthese beruht auf der Kondensation eines substituierten Piperidon-Derivates **68** mit Formalddehyd **69** und einem primären Amin **70** und liefert alkylierte Bispidinon-Derivate **71** (s. Abb. 3.5) Der Mechanismus dieses Syntheseverfahrens trägt noch heute den Namen Mannich-Reaktion und ist zu einer so genannten Namensreaktion geworden.^{346, 347} Zur Synthese von Bispidin-Derivaten wurde die Mannich-Reaktion im Laufe der Jahre wohl am häufigsten eingesetzt, weil man durch dieses Verfahren Bispidinon-Derivate, z. B. **71**, in einem einzigen Syntheseschritt herstellen konnte.

Abb. 3.5: Synthese von Bispidinon-Derivaten **71** nach *Mannich*^{344, 345}

Die Mannich-Reaktion wurde auch von *Waldmann et al.* als Syntheseverfahren genutzt, um neue Bispidin-Derivate herzustellen. Diese Phosphoramidat-Bispidine trugen chirale Substituenten und kamen in einer Reihe von kupferkatalysierten, enantioselektiven Synthesen als chirale Liganden zur Anwendung.³⁴⁸⁻³⁵¹

Anfang der 1950er Jahre wurde zum ersten Mal die lokalanästhetische Wirkung einiger Bispidin-Derivate beschrieben. Diese wurden in Tiermodell an Meerschweinchen getestet und die lokalanästhetischen Wirkungen des Dimethyl- **72** und des Dihydroxyethyl-Derivates **73** (s. Abb. 3.6) waren dabei stärker als die des Goldstandards Procain.^{352, 353}

42 | Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

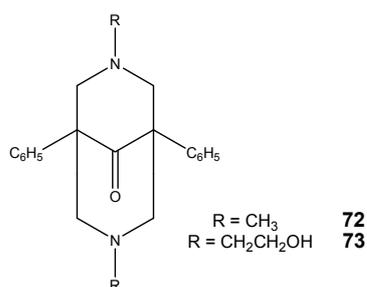


Abb. 3.6: Bispidin-Derivate **72** und **73** mit lokalanästhetischer Wirkung nach *Kyi und Wilson*^{352, 353}

In den 1970er Jahren führten einige Arbeiten von *Ruenitz* und *Smisson* zu der Entdeckung und Entwicklung von Bispidin-Derivaten mit antiarrhythmischer Wirkung. Auch diese wurden durch eine Mannich-Reaktion synthetisiert³⁵⁴ und lieferten alkylierte Benzyl-Bispidin-Derivate, z. B. **74** oder **75** (s. Abb. 3.7) mit antiarrhythmischer Aktivität in Tiermodellen. Dabei handelte es sich um Experimente mit Mäusen, bei denen ventrikuläre Arrhythmien durch Chloroform induziert wurden.³⁵⁵ Die getesteten Bispidin-Derivate, z. B. **74** und **75**, besaßen eine relativ hohe Toxizität, die etwa im gleichen Dosisbereich auftrat, in dem auch eine Wirksamkeit festgestellt werden konnte. Die alkylierten Bispidinbenzamide **75** und **76** besaßen dagegen eine gesteigerte Wirksamkeit, bei gleichzeitig geringerer Toxizität (s. Abb. 3.7).³⁵⁶

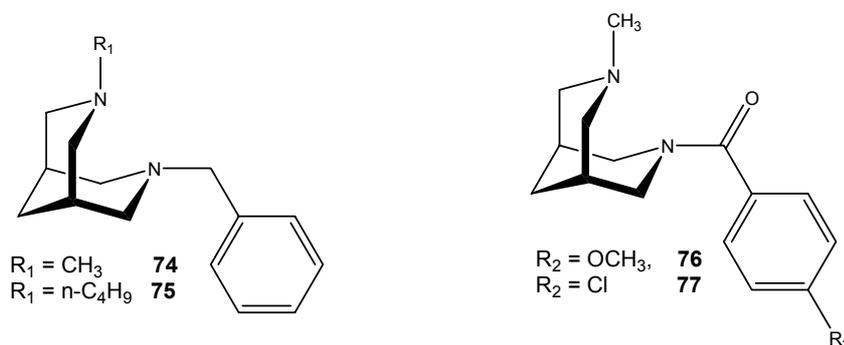


Abb. 3.7: Bispidin-Derivate **74-77** mit antiarrhythmischer Aktivität

Die Forschungen auf diesem Gebiet führten zu einer Reihe von Patenten, die Bispidin-Derivate mit antiarrhythmischer Aktivität unter dieses Schutzrecht stellten.³⁵⁷⁻³⁶⁴ Ein aussichtsreicher Arzneistoff-Kandidat mit Bispidin-Grundgerüst ist Tedisamil **78** (s. Abb. 3.8). Es handelt sich dabei um eine antiarrhythmisch wirkende Substanz, die zur Gruppe III der Antiarrhythmika gehört und verschiedene Kalium-Kanäle blockiert. Tedisamil **78** kann Aktionspotentiale im Bereich des Vorhofes und der Herzkammern verlängern und eine normale Kontraktion des Herzens bei Vorhof- oder Kammerflimmern wiederherstellen.³⁶⁵ Darüber hinaus wirkt Tedisamil **78** auch antiischämisch,³⁶⁶ was eine wertvolle Zusatzeigenschaft ist, da Herzrhythmusstörungen nicht selten als Folgeerkrankung nach Herzinfarkten auftreten können.³⁶⁷ Tedisamil **78** wird von der Firma *Solvay Pharmaceuticals* entwickelt und steht derzeit kurz vor einer Zulassung durch die FDA.

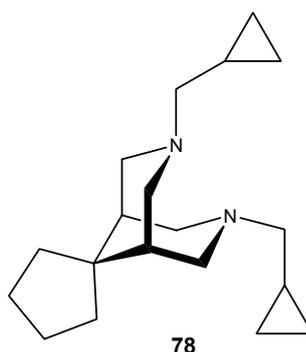


Abb. 3.8: Struktur des Arzneistoff-Kandidaten Tedisamil **78** mit Bispidin-Grundgerüst

Einige interessante Bispidin-Derivate wurden von *Holzgrabe et al.* synthetisiert, welche meist mehrfach substituiert und symmetrisch aufgebaut sind.³⁶⁸ Die unten dargestellte Verbindung **79** ist ein exemplarischer Vertreter dieser Verbindungen mit hoher Affinität und Selektivität zum κ -Opioid-Rezeptor.³⁶⁹ Mit der Entwicklung subtypelektiver Liganden für den zum κ -Opioid-Rezeptor wird versucht, die Nebenwirkungen, die durch die Aktivierung verschiedener Opioid-Rezeptorsubtypen vermittelt werden, weitgehend von der analgetischen Wirkung zu trennen. Verbindung **79** zeigte auch Aktivität *in vivo* gegen verschiedene Formen von Schmerzen, war oral verfügbar und besaß eine lange Wirkdauer. Es handelt sich bei dieser Verbindung um einen Agonisten an diesem Rezeptorsubtyp und damit um einen potentielle Vertreter einer neuen Analgetika-Klasse.³⁷⁰

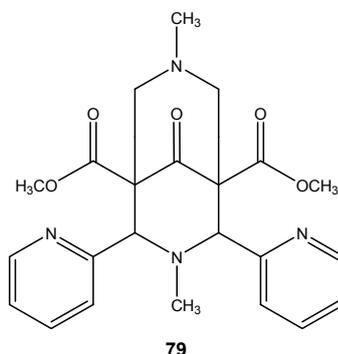


Abb. 3.9: Ein hoch affiner und selektiver κ -Opioid-Rezeptor Agonist **79**

Weiterhin stehen einige Bispidin-Derivate wegen ihrer metallkomplexierenden und chelatisierenden Eigenschaften seit einigen Jahren im Mittelpunkt des Interesses der Arbeitsgruppe von *Comba et al.* Sie synthetisierten und untersuchten viele Metallkomplexe mehrzähliger Bispidinliganden mit Übergangsmetallionen wie z. B. Eisen-, Kobalt-, Kupfer- oder Vanadiumionen. Diese Komplexe werden auf ihre Einsatzmöglichkeit als Katalysatoren in einer Vielzahl von unterschiedlichen chemischen Reaktionen untersucht.³⁷¹⁻³⁷⁵ Einen exemplarischen Vertreter **80** zeigt Abbildung 3.10, der eine sehr große strukturelle Ähnlichkeit mit den κ -Opioid-Rezeptoragonisten aus dem Arbeitskreis *Holzgrabe* besitzt.

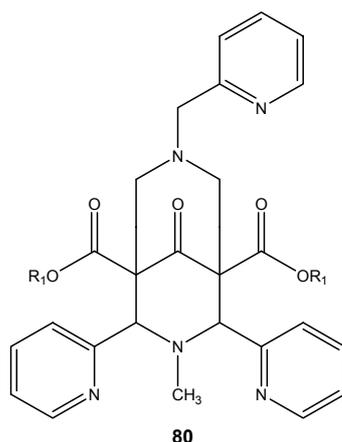


Abb. 3.10: Mehrzähliger Bispidin-Ligand **80** für die Komplexbildung von anorganischen Metallionen

Weiterhin besitzen bestimmte Bispidin-Derivate insulinfreisetzende Eigenschaften aufgrund ihres antagonistischen Potentials an spannungsabhängigen Kaliumkanälen von β -Zellen und stellen damit potentielle Wirkstoffe gegen Diabetes Typ II dar. Dieser Antagonismus an spannungsabhängigen Kaliumkanälen führt dabei jedoch nicht direkt zu einer Insulinfreisetzung, kann diese aber erhöhen.^{376, 377}

Bispidin-Derivate werden derzeit intensiv erforscht und besitzen vielfältige biologische Wirkungen. Diese beispielhaften Synthesen und Untersuchungen von Bispidin-Derivaten unterstreichen das chemische und pharmakologische Potential dieser Verbindungsklasse. Erst in jüngster Zeit wurden Bispidin-Derivate auch als potentielle Liganden für den nAChR erkannt. Neben anderen Diazabicyclen werden in Patenten der Firma *Abbott* und *Neurosearch* auch einige Diazabicyclo[3.3.1]nonane (Bispidin-Derivate) geschützt, von denen zwei Stickstoffatomen einer mit unterschiedlich substituierten 3-Pyridylresten substituiert ist (s. Formel **47**, Abb. 2.2).^{326, 378 379} Über die biologischen Wirkungen dieser Bispidin-Derivate an nAChR finden sich jedoch keine Angaben in der Literatur. Ein weiteres Patent der Firma *Targacept* wurde im Verlaufe dieser Arbeit veröffentlicht und schützt Bispidin-Derivate, die mit unterschiedlich substituierten, fünfgliedrigen Heterocyclen acyliert sind. Dabei ist eine der dort patentierten Verbindungen identisch mit einem Bispidin-Derivat dieser Arbeit.

3.2 Zielstruktur und Retrosynthese

Es sollten neue Bispidin-Derivate als potentielle Liganden für den nAChR hergestellt und ihr Bindungsverhalten am nAChR untersucht werden. Aufgrund der Erkenntnisse aus den Pharmakophormodellen sind dabei zwei Merkmale für Liganden am nAChR besonders wichtig. Zum einen muss der Ligand eine positive Ladung oder ein unter physiologischen Bedingungen

protonierbares Strukturmerkmal tragen, z. B. einen sekundären, tertiären oder quartären Stickstoff, und zum anderen ist das Vorhandensein eines Wasserstoffbrückenbindungsakzeptors (HBA/ π -System) wichtig für eine Interaktion mit dem nAChR. Dieses HBA/ π -System besteht bei vielen Liganden des nAChR aus einem Pyridinring oder aus einer Carbonylgruppe.^{204, 380}

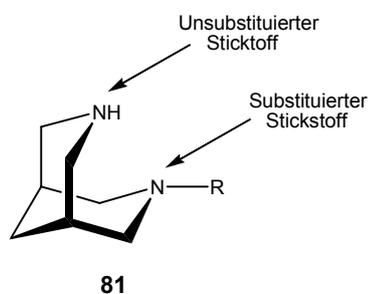


Abb. 3.1: Allgemeine Zielstruktur **81** der Bispidin-Derivate

Diese Erkenntnisse wurden mit in die synthetischen Vorüberlegungen einbezogen und die allgemeine Zielstruktur **81** der Bispidin-Derivate (s. Abb. 3.1) könnte folgendermaßen aussehen. Ein Stickstoff des Bispidin-Grundgerüsts bleibt für die Interaktion mit dem Rezeptor unsubstituiert. Als sekundäres Amin ist er unter physiologischen Bedingungen protonierbar bzw. protoniert. An den Nachbaratomen dieses Stickstoffes sollten sich keine Substituenten befinden, die die Basizität und damit den Protonierungsgrad unter physiologischen Bedingungen herabsetzen. Ein solcher Effekt würde vermutlich die Wechselwirkung der Liganden mit dem nAChR beeinträchtigen. Der zweite Stickstoff des Bispidin-Grundgerüsts sollte auf unterschiedliche Weise substituiert werden. Verschiedene funktionelle Gruppen könnten zusammen mit dem Stickstoff des Bispidins als Linker fungieren und mit unterschiedlichen Substituenten verbunden werden (s. Abb. 3.2).

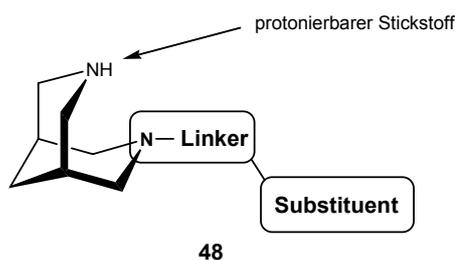


Abb. 3.2: Allgemeine Zielstruktur **48** der Bispidine mit Linker und Substituenten

Konkret könnten verschiedene aliphatische, cycloaliphatische, aromatische oder heteroaromatische Substituenten sowie Styrylderivate, die wiederum unterschiedlich substituiert sein können, über eine Carbonsäureamidbindung, eine Sulfonsäureamidbindung oder über eine Harnstoffbrücke an den zweiten Stickstoff des Bispidinmoleküls gebunden werden. Hieraus ergibt sich eine Vielfalt an neuen Verbindungen, die sich nicht nur in der Art des Substituenten unterscheiden, sondern auch unterschiedliche funktionelle Gruppen tragen, die ebenfalls einen

Einfluss auf die Bindung zum nAChR haben könnten (s. Abb. 3.3). Mit den Daten aus Radioligand-Bindungsstudien ließe sich der Einfluss der Substituenten auf die Bindung zum nAChR untersuchen und man erhielte Hinweise die Effekte, die verschiedene funktionelle Gruppen auf die Affinität und die Selektivität zu den verschiedenen nAChR-Subtypen besitzen.

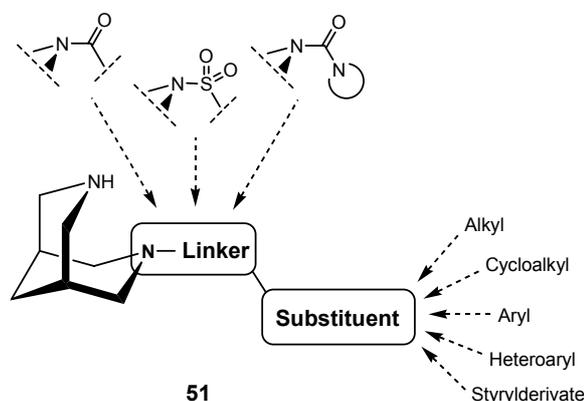


Abb. 3.3: Allgemeine Formel **51** für neue Bispidin-Derivate

Da geeignete Bispidin-Derivate für diesen Syntheseweg nicht käuflich erhältlich waren, es jedoch verschiedene Synthesestrategien für ihre Herstellung gab (s. Kap. 3.1), erschien es sinnvoll das Bispidin-Grundgerüst selber zu synthetisieren. Auf der anderen Seite gibt es eine große Anzahl an Carbon- und Sulfonsäuren sowie Aminen, die günstig zu erwerben sind. Die neuen Bispidin-Derivate sollten sich mit Hilfe verschiedener Synthesemethoden herstellen lassen, wobei es zur Herstellung von Carbonsäure-, Sulfonsäureamiden sowie Harnstoffen unterschiedliche Synthesemethoden zur Auswahl gibt.³⁴⁶

Um eine zielgerichtete Synthese gewährleisten zu können und Nebenprodukte bei der Synthese der Bispidin-Derivate zu vermeiden, erschien eine Schutzgruppenstrategie erforderlich. Idealerweise würde man die Synthese mit einem zweifach geschützten Bispidin **84** beginnen, zunächst eine Schutzgruppe (SG_1) entfernen, um ein einfach geschütztes Bispidin-Derivat **83** zu erhalten. Dann kann das freie Amin mit unterschiedlichen Substituenten unter Ausbildung des Linkers verbunden werden. Abschließend müsste man aus dem Bispidin-Derivat **82** die zweite Schutzgruppe (SG_2) entfernen, um die neuen, einfach substituierten Bispidin-Derivate **81** zu erhalten.

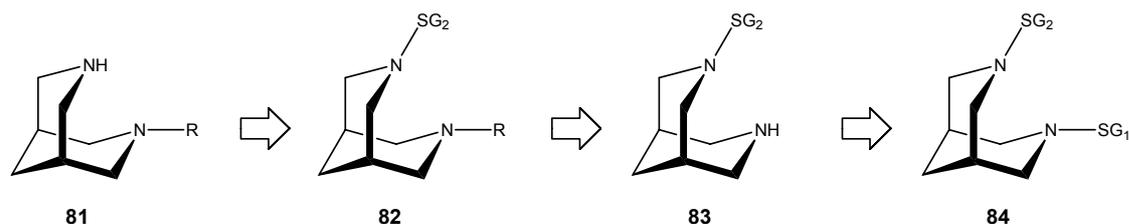


Abb. 3.4: Retrosynthese für neue, einfach substituierte Bispidin-Derivate **81**

Die beiden Schutzgruppen sollten sich dabei einfach, aber in unterschiedlichen Milieus abspalten lassen, sowie während der Synthese der Bispidinamide, -sulfonamide oder -harnstoffe stabil bleiben. Da viele Carbonsäureamid- oder Sulfonsäureamid- sowie Harnstoffsynthesen basenkatalysiert ablaufen, wäre eine Kombination zweier Schutzgruppen wünschenswert, bei der sich eine Schutzgruppe in einem sauren Milieu abspalten ließe und die andere beispielsweise durch Hydrogenolyse. Eine häufig benutzte Kombination zweier Schutzgruppen, die diese Voraussetzungen erfüllen, stellt die Verwendung der Benzyl- und der *t*Boc-Schutzgruppe dar, die in dieser Kombination bereits in verschiedenen anderen Syntheseverfahren erfolgreich eingesetzt wurden.³⁸¹⁻³⁸³

3.3 Synthese der Zielstrukturen

3.3.1 Synthese von N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidinon **87**

Die Synthese eines zweifach geschützten Bispidin-Derivates, welches eine Benzyl- und eine *t*Boc-Schutzgruppe trägt, wurde bereits von *Huttenloch et al.* beschrieben.³⁵⁰ *Stead et al.* benutzten diese Synthese in einer Veröffentlichung des Jahres 2005 und stellten N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** (Formel s. Abb. 3.6) in zwei Stufen her. Sie verwendeten dieses als Zwischenprodukt für eine sechsstufige Totalsynthese von racemischem (\pm)-Cytisin.³⁸⁴

Der Aufbau des bicyclischen Ringsystems war der erste Schritt der Synthese neuer Bispidin-Derivate. Dabei reagierten *t*Boc-geschütztes 4-Piperidon **85**, Formaldehyd **69**, Benzylamin **86** mit Essigsäure in MeOH und unter Rückfluss in einer zweifachen Mannich-Reaktion. Die Synthese lieferte N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidinon **87**, welches an der Position 9 eine Ketogruppe trägt und dessen zwei Stickstoffe die zwei unterschiedlichen Schutzgruppen tragen (s. Abb. 3.5). Das entstandene Produkt **87** erhielt man nach alkalischer Aufarbeitung und anschließender säulenchromatographischer Aufreinigung.^{350, 384}

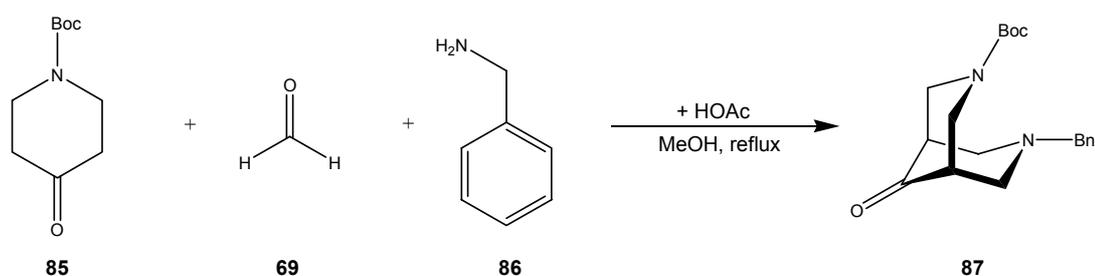


Abb. 3.5: Synthese von N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidinon **87**

Unter sonst gleichen Reaktionsbedingungen ergaben eigene Synthesen, dass die beschriebene Reaktionszeit bei *Huttenloch et al.* von 2 Stunden zu kurz ist.³⁵⁰ Dagegen konnte mit einer Reaktionszeit von 6 Stunden eine höhere Ausbeute erzielt werden.³⁸⁴ Eine weitere Verlängerung der Reaktionszeit brachte jedoch neben Ausbeuteverlusten auch Schwierigkeiten bei der Aufreinigung, als Resultat einer vermehrten Bildung von Nebenprodukten, die jedoch nicht weiter charakterisiert wurden. Die Literatúrausbeuten für diese Reaktion von 78 % wurden erreicht (s. Tab. 3.1). Das erhaltene Produkt **87** war zunächst ölig und wurde nur äußerst langsam und unter rigorosem Entfernen aller Lösungsmittelreste fest.

Um N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **87** in größeren Mengen zu erhalten, wurde diese Synthese auch in größeren Maßstäben durchgeführt (Upscaling). Dabei kam es zunächst zu Ausbeuteverlusten, wenn man die Lösungsmittelmenge in demselben Verhältnis wie die molaren Mengen der Edukte erhöhte. Statt 78 % erhielt man 66 % bzw. 69 % Ausbeute, bei 2facher bzw. 4facher Ansatzgröße (s. Tab. 3.1). Durch die Reduktion der Lösungsmittelmenge auf etwa die Hälfte der proportionalen Menge (s. Tab. 3.1 Ansatz 4), traten diese Ausbeuteverluste nicht mehr auf. Die Ansatzgröße von 10 g N-tBoc-4-Piperidon **85** brachte nun dieselbe Ausbeute wie die Ansatzgröße von 1 g **85**.

Tab. 3.1: Synthese von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **87** in verschiedenen Ansatzgrößen

Ansatz	Piperidon	Paraformaldehyd	Benzylamin	Lösungsmittel	Ausbeute
*	1 g	2 x 332 mg	564 µl	16 ml MeOH	78 %
1	1 g	2 x 332 mg	564 µl	16 ml MeOH	77 %
2	2 g	2 X 664 mg	1.128 ml	32 ml MeOH	66 %
3	4 g	2 x 1328 mg	2.25 ml	60 ml MeOH	69 %
4	10 g	2 x 3.32 g	5.6 ml	70 ml MeOH	78 %

* Synthese und Literatúrausbeute von *Stead et al.*³⁸⁴

3.3.2 Synthese von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidin **88**

Die Ketogruppe in Position 9 des Zwischenproduktes N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **87** ist eine reaktive Stelle im Bispidinmolekül, die Nebenreaktionen verursachen kann. Da sie für unsere Zielstrukturen nicht von Bedeutung erschien, sollte sie entfernt werden. Die Reduktion von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **87** wurde ebenfalls von *Stead et al.* berichtet und sollte 78 % Ausbeute liefern. Dabei wurde das Bispidinon-Derivat **87** mit Tosylhydrazin (TsNHNH₂) in das entsprechende Tosylhydrazon umgewandelt, welches anschließend mit Natriumborhydrid (NaBH₄) zum N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidin **88** reduziert werden konnte (s. Abb. 3.6).³⁸⁴

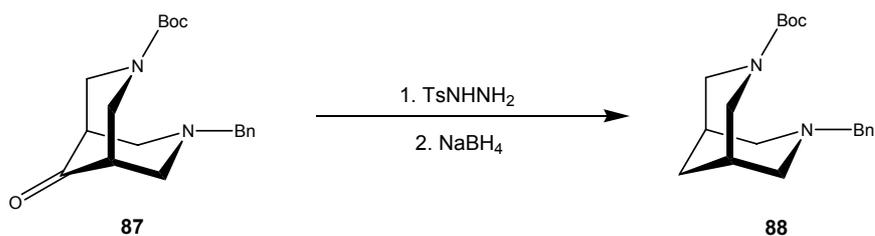


Abb. 3.6: Reduktion von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **87** nach *Stead et al.*³⁸⁴

Die Reduktion der Ketogruppe mit Hilfe von Tosylhydrazin und NaBH₄ ist eine schonende Methode zur direkten Überführung von Carbonylfunktionen in die entsprechenden Methylengruppen. Eigene Synthesen nach den Vorgaben der Literatur³⁸⁴ ergaben jedoch nur geringe Ausbeuten von maximal 33 %. Auch Varianten dieser Reduktionsmethode, mit anderen Lösungsmitteln, z. B. Sulfolan, oder mit Natriumcyanoborhydrid (NaBH₃CN) als Reduktionsmittel, erzeugten ebenfalls nur geringe Ausbeuten derselben Größenordnung.^{385, 386} Aufgrund dessen sollten alternative Verfahren der Reduktion von Carbonylverbindungen ausprobiert werden.

Als etablierte Verfahren zur Reduktion von Carbonylgruppen haben sich seit langer Zeit die Clemmensen-Reduktion und die Wolff-Kishner-Reduktion erwiesen. Beide Verfahren sind in der Lage eine Carbonylfunktion direkt zur entsprechenden Methylengruppe zu reduzieren.³⁴⁶ Durch die Clemmensen-Reduktion können Aldehyde oder Ketone **89** unter Reaktion mit Zinkamalgam und konzentrierter Salzsäure direkt zur Methylenverbindung **90** reduziert werden (s. Abb. 3.7).³⁸⁷⁻³⁸⁹ Die Clemmensen-Reduktion findet jedoch in einem stark sauren Milieu statt, was wahrscheinlich eine Abspaltung der tBoc-Schutzgruppe aus Verbindung **87** zur Folge hätte, da die tBoc-Schutzgruppe säurelabil ist. Daneben liefert diese Reaktion auch häufig vielfältige Nebenprodukte, in teilweise erheblichem Ausmaß.³⁴⁶ Aus diesen Gründen und wegen der Verwendung von Quecksilberverbindungen wurde die Clemmensen-Reduktion zur Synthese von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidin **89** ausgeschlossen.

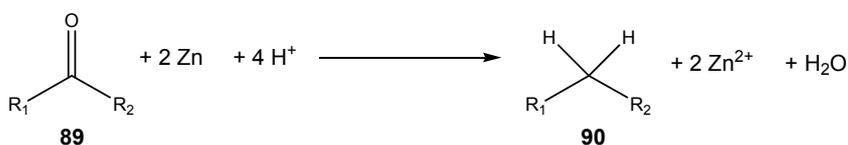


Abb. 3.7: Allgemeine Reaktionsgleichung der Clemmensen-Reduktion

Auch die Wolff-Kishner-Reduktion benutzt eine giftige Chemikalie (Hydrazin) und wird unter sehr harschen Bedingungen durchgeführt. Dabei wird zunächst aus einer Carbonylverbindung **89** und Hydrazin (NH₂NH₂) das entsprechende Hydrazon **91** gebildet, welches in einer Folgereaktion im Autoklav unter Anwendung hoher Temperaturen und hohem Druck sowie in Gegenwart von Natrium oder Natriumalkoholaten zur entsprechenden Methylengruppe **90**

50 | Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

reduziert wird (s. Abb. 3.8).^{390, 391} Es ist jedoch bekannt, dass die *t*Boc-Schutzgruppe auch unter stark alkalischen Bedingungen instabil sein kann und zerfällt.³⁹²

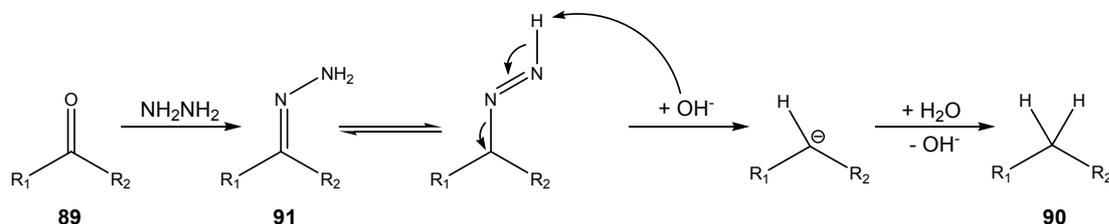


Abb. 3.8: Allgemeine Reaktionsgleichung der Wolff-Kishner-Reduktion

Die Huang-Minlon-Variante der Wolff-Kishner-Reduktion ist hingegen eine präparativ weniger aufwendige Abwandlung dieser Reduktionsmethode. Mit ihr kann ebenfalls aus der Carbonyl-Verbindung **89** und Hydrazin (NH₂NH₂) das entsprechende Hydrazon **91** gebildet werden. Für die Reaktion benutzt man hoch siedende Lösungsmittel, z. B. Diethylenglykol. Das gebildete Hydrazon **91** muss nicht isoliert werden, sondern kann anschließend bei höherer Temperatur und unter stark alkalischen Bedingungen zur Methylen-Verbindung **90** reduziert werden (s. Abb. 3.8).³⁹³

Diese Reduktionsmethode wurde trotz des Risikos einer Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe ausprobiert. Die eigenen Synthesen nach den Vorgaben der Literatur lieferten jedoch nicht das gewünschte N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88**, sondern N-Benzyl-Bispidin **92** (s. Abb. 3.9). Dieses konnte zwar ebenfalls als Edukt in den nachfolgenden Reaktionen an Stelle des N-*t*Boc-Bispidins **93** (s. Formel in Abb. 3.11) verwendet werden, jedoch schlug die Abspaltung der Benzylschutzgruppe nach erfolgter Derivatisierung in vielen Fällen fehl. Auch die Aufreinigung des N-Benzyl-Bispidins **92** sowie Benzyl-geschützter Bispidin-Derivate (Formel nicht gezeigt) war aufwendiger. Deshalb wurde an dieser Stelle klar, dass zunächst N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** synthetisiert werden müsste, um anschließend zunächst die Benzylschutzgruppe zu entfernen und N-*t*Boc-Bispidin **93** zu erhalten. Die *t*Boc-Schutzgruppe würde sich vermutlich einfacher aus *t*Boc-geschützten Bispidin-Derivaten, z. B. **99** (s. Abb. 3.16), abspalten lassen als eine Benzyl-Schutzgruppe aus entsprechend Benzyl-geschützten Bispidin-Derivaten.

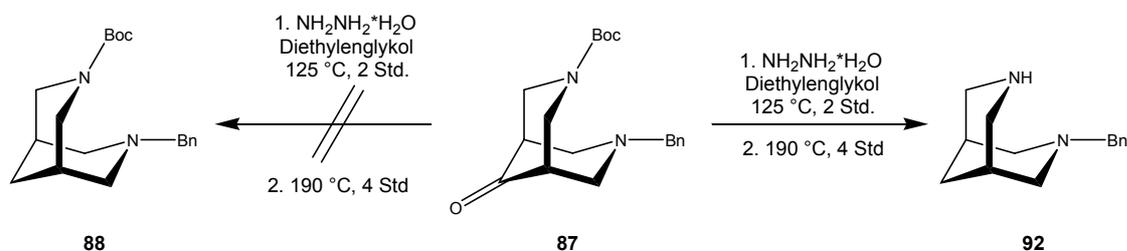


Abb. 3.9: Reduktion von N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidinon **87** unter gleichzeitiger Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe nach der Huang-Minlon-Variante der Wolff-Kishner-Reduktion

Obwohl die Durchführung der Wolff-Kishner-Reduktion nach der Huang-Minlon-Variante nicht das gewünschte Produkt N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** lieferte, wurde vermutet, dass es bei dieser Reaktion als Zwischenprodukt entsteht. Bei der Reaktion von N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidinon **87** mit Hydrazin (NH_2NH_2) in Diethylenglykol entstand bei etwa 125 °C zunächst ein Produkt, welches auf der DC einen sehr niedrigen R_f -Wert besaß. Bei der anschließenden Erhöhung der Temperatur auf 190 °C entstand zunächst ein Produkt, das einen R_f -Wert von ca. 0.6 (PE:EtOAc 3:1) aufweist und nach kurzer Zeit und höherer Temperatur wieder verschwand. Es wurde vermutet, dass es sich dabei um das gewünschte Produkt N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** handelte.

Bei einer erneuten Durchführung der Huang-Minlon-Variante der Wolff-Kishner-Reduktion, mit einer Maximaltemperatur von 150 °C, konnte ein Hauptprodukt isoliert werden, das einen R_f -Wert von 0.6 besaß und bei dem es sich um das gewünschte N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** handelte. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhielt man 26 % des sauberen Bispidin-Derivates **88**. Durch eine weitere Senkung der Temperatur auf maximal 140 °C und eine Verlängerung der Reaktionszeit auf insgesamt 10 Stunden konnte das gewünschte Bispidin-Derivat **88** nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit einer Ausbeute in Höhe von 73 % isoliert werden.

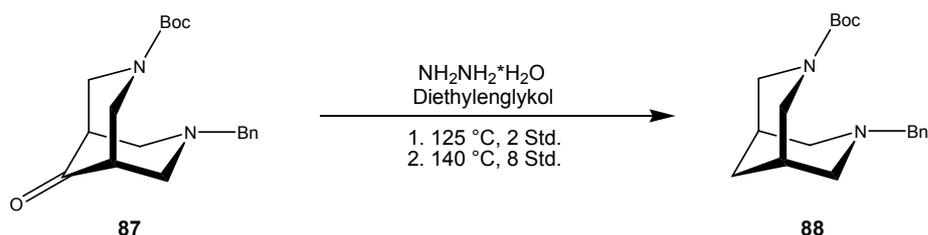


Abb. 3.10: Die Huang-Minlon-Variante der Wolff-Kishner-Reduktion mit modifiziertem Temperatur- und Zeitprofil liefert N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88**

Auch diese Reaktion war ohne Ausbeuteverluste in größeren Maßstäben durchführbar. Die Reaktion lieferte in Ansätzen von mehr als 20 g **87** dieselben Ausbeuten wie in kleinen Ansätzen von 4 g **87**, ohne dass eine Anpassung der Reaktionsbedingungen erforderlich war. Ausgehend von *t*Boc-geschütztem 4-Piperidon **85**, wurde das zweifach geschützte Bispidin-Derivat N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** in einer Gesamtausbeute von insgesamt 57 % in zwei Schritten erhalten.

3.3.3 Synthese von N-*t*Boc-Bispidin **93**

Wie oben bereits erwähnt, erschien es für den weiteren Syntheseweg sinnvoll zu sein, aus N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** zunächst die Benzylschutzgruppe zu entfernen, anschließend den

frei gewordenen Stickstoff zu derivatisieren, um in einem letzten Schritt die *t*Boc-Schutzgruppe abzuspalten. Unter den sauren Bedingungen, die für die Entfernung einer *t*Boc-Schutzgruppe benutzt werden, sollten die synthetisierten Carbonsäureamid-, Sulfonsäureamid- oder Harnstoffgruppen weitgehend stabil bleiben.³⁹⁴

Für die Abspaltung von Benzylschutzgruppen gibt es in der Literatur verschiedene Methoden, wobei meist Edelmetallkatalysatoren, v. a. Palladium, in unterschiedlichen Lösungsmitteln (z. B. MeOH, EtOH oder THF) und Wasserstoff als Reduktionsmittel benutzt werden.³⁹⁴ Der Vorteil bei der Verwendung von Palladium auf Aktivkohle (Pd/C) und Wasserstoff ist die einfache Handhabung und die ebenso einfache Abtrennung des Katalysators nach der Reaktion durch Filtration. Palladiumkatalysatoren lassen sich auch in ihrer Reaktivität anpassen, wie die Herstellung des so genannten Lindlar-Katalysators zeigt.³⁹⁵ Dabei werden durch Zusatz von bestimmten Chemikalien (z. B. Chinolin) die katalytischen Eigenschaften der Metalloberflächen gezielt herabgesetzt und auf diese Weise eine Selektivität bei der katalytischen Hydrierung erreicht. Dieses Verfahren ist auch unter der Bezeichnung „Vergiften“ eines Katalysators bekannt. Weitere Methoden zur Abspalten von Benzylschutzgruppen sind die katalytische Transferhydrogenolyse³⁹⁶, Reaktion mit verschiedenen Chloroformat-Reagenzien³⁹⁷⁻³⁹⁹ oder die Verwendung verschiedener oxidativer Methoden unter Mitwirkung von Kobalt-⁴⁰⁰, Kupfer-⁴⁰¹ oder Rutheniumkatalysatoren⁴⁰².

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Abspaltung mit Hilfe von Pd/C und gasförmigem Wasserstoff gewählt. Dieser wurde entweder von einem Wasserstoffgenerator erzeugt oder aus einer Druckgasflasche über Reduzierventile in die Reaktion eingeleitet. Die Abspaltung der Benzylschutzgruppe gelang ohne erkennbare Nebenreaktionen und die Ansatzmenge konnte ohne Ausbeuteverluste auf bis zu 10 g N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** vergrößert werden (s. Abb. 3.11). Die *t*Boc-Schutzgruppe war unter den Bedingungen der katalytischen Hydrierung stabil und die Debenzylierung verlief quantitativ. Dabei wurde die Reaktion solange durchgeführt, bis das Edukt N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachweisbar war. Bei Ansatzgrößen von 10 g **88** verlängerte sich die Reaktionszeit jedoch auf bis zu 24 Stunden und es erwies sich als vorteilhaft, die Reaktion durch mehrmaliges Hinzufügen von frischem Pd/C schneller zum Abschluss zu bringen. Nach dem Filtrieren des Palladiumkatalysators erhielt man N-*t*Boc-Bispidin **93** als klares Öl. Für die weiteren Synthesen war eine Aufreinigung nicht erforderlich, weil das N-*t*Boc-Bispidin **93** eine Reinheit von über 95 % besaß. Für die biologische Testung und für die chemische Charakterisierung wurde das N-*t*Boc-Bispidin **93** in das entsprechende Fumarat überführt.

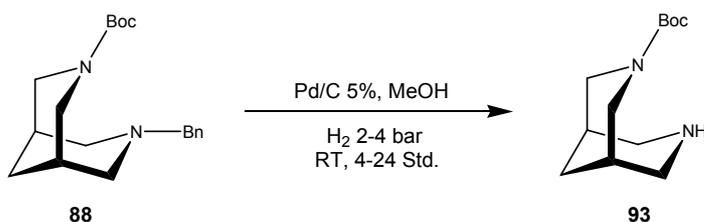


Abb. 3.11: Debenzylierung von N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** führt zu N-*t*Boc-Bispidin **93**

3.3.4 Derivatisierung von N-tBoc-Bispidin 93

Das freie Amin des N-tBoc-Bispidin **93** sollte mit verschiedenen Substituenten derivatisiert werden, wobei Bispidinamide, Bispidinsulfonamide und Bispidin-harnstoffe als Linker entstehen. Es erscheint schlüssig, dass dabei für jede funktionelle Gruppe ein unterschiedlicher Syntheseweg notwendig wäre.

Für die Derivatisierung des Bispidin-Grundgerüsts erschien besonders das Carbonsäureamid als Linker eine vielversprechende funktionelle Gruppe zu sein. Carbonsäureamide lassen sich auf unterschiedlichen Wegen synthetisieren und stellen relativ stabile und neutrale chemische Gruppen dar.⁴⁰³ Im Naturstoff (-)-Cytisin **34**, einem hochaffinen Liganden für den nAChR, liegt ein Carbonsäureamid in Form eines Pyridonringes vor, der an das Bispidin-Grundgerüst anelliert ist (s. Abb. 2.1). Aus dem Vergleich des (-)-Cytisins **34** mit Bispidinamiden **49** (s. Abb. 2.4) erkennt man leicht, warum die Amid-Gruppe eine besondere Stellung in der Synthese von neuen Bispidin-Derivaten einnimmt. Ein isosterer Austausch der Carbonsäureamidfunktion gegen eine Harnstoff- oder Sulfonamidgruppe würde weitere Diversität in die neuen Bispidin-Derivate bringen.

3.3.4.1 Synthese von N-tBoc-Bispidincarbonsäureamiden 99

Das Carbonsäureamid stellt eine sehr wichtige funktionelle Gruppe dar, die in Lebewesen ubiquitär vorhanden ist und als wichtiger Bestandteil von Polypeptiden und Proteinen an vielen lebenswichtigen Prozessen beteiligt ist. Ihre besondere Stellung unter den funktionellen Gruppen wird auch durch ihr gehäuftes Auftreten in wichtigen Arzneistoffen unterstrichen. Dabei zählt das Carbonsäureamid, zusammen mit dem tertiären Amin und der Hydroxylgruppe, zu den drei häufigsten funktionellen Gruppen in Arzneistoffen.⁴⁰⁴ Beispielhaft sind in Abb. 3.12 vier wichtige Arzneistoffe abgebildet, die über eine Amidbindung in ihrer Struktur verfügen.

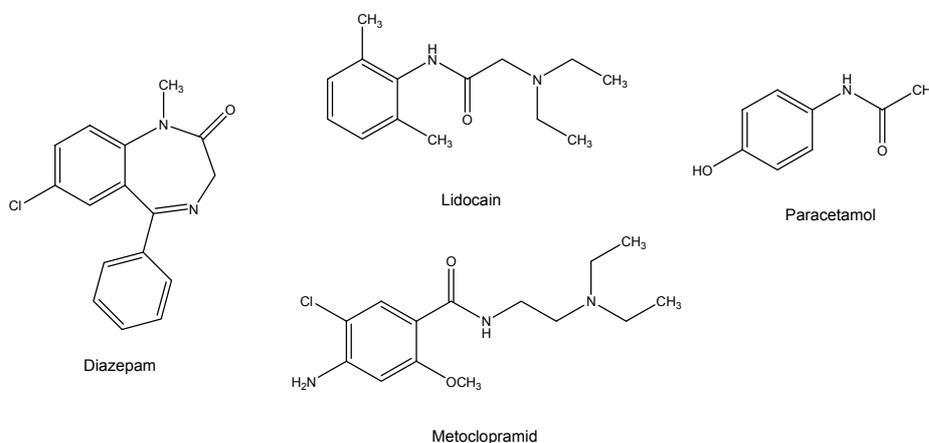


Abb. 3.12: Beispiele für Arzneistoffe mit einer Carbonsäureamidgruppe

54 | Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

Carbonsäureamide bilden stabile und neutrale funktionelle Gruppen und haben die Eigenschaft, als Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor sowie als -donor zu fungieren. Diese Eigenschaft wird in Polypeptiden und Proteinen in ihrer Tertiärstruktur besonders deutlich. Für die Bildung von Carbonsäureamiden gibt es mittlerweile viele verschiedene Reaktionsbedingungen und Kopplungsreagenzien.⁴⁰³ Dabei ist die Bildung eines Amides formal betrachtet eine Kondensation. Jedoch reagieren Amine und Carbonsäuren aufgrund der basischen Eigenschaften der Amine und der sauren Eigenschaften der Carbonsäuren beim Zusammengeben nicht mit der Bildung von Carbonsäureamiden, sondern mit der Bildung der entsprechenden Salze, im Sinne einer Säure-Base-Reaktion (s. Abb. 3.13).

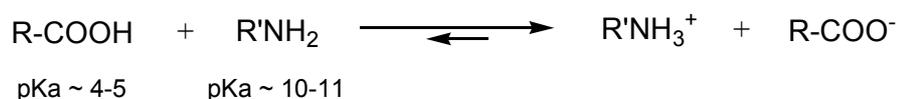


Abb. 3.13: Salzbildung von Carbonsäuren mit primären Aminen

Die Schwierigkeit bei der Synthese von Carbonsäureamiden besteht also i. d. R. darin, die Carbonsäure so zu derivatisieren bzw. zu aktivieren, dass sie mit ihrer Carbonylgruppe reagieren kann. Für dieses Ziel gibt es eine Vielzahl von Kopplungs- und Aktivierungsreagenzien.⁴⁰³ Einige wurden auch im Rahmen dieser Arbeit verwendet und sollen im Folgenden kurz vorgestellt werden.

Synthese von N-tBoc-Bispidinamiden **99** mit Carbonsäurechloriden

Eine präparativ einfache Methode zur Herstellung von Carbonsäureamiden ist der Aminolyse von Carbonsäurechloriden. Mittlerweile sind viele Carbonsäurechloride **96** käuflich erhältlich. Sie können jedoch auch leicht durch die Reaktion einer Carbonsäure **94** mit anorganischen Säurechloriden, z. B. Thionylchlorid SOCl_2 **95**^{346, 405}, hergestellt werden (s. Abb. 3.14). Weitere anorganische Säurechloride, wie z. B. Oxalylchlorid $(\text{COCl})_2$,⁴⁰⁶ Phosphortrichlorid PCl_3 , Phosphorylchlorid POCl_3 oder Phosphorpentachlorid PCl_5 werden ebenfalls häufig verwendet und reagieren in ähnlicher Weise.³⁴⁶ Des Weiteren kann diese Reaktion im Allgemeinen durch katalytische Mengen von Dimethylformamid (DMF) beschleunigt werden.⁴⁰⁷

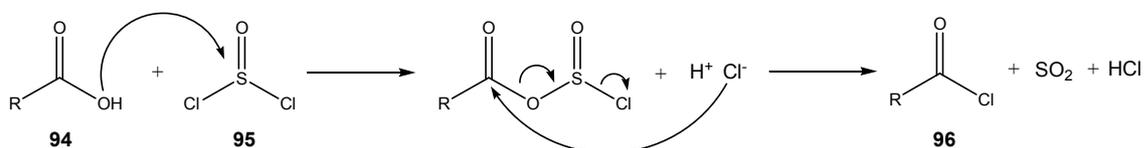


Abb. 3.14: Synthese von Carbonsäurechloriden **96** aus Carbonsäuren **94** und Thionylchlorid **95**

In einem zweiten Schritt erfolgt die Umsetzung des Carbonsäurechlorides **96** mit einem Amin **97**. Dabei wird neben dem Carbonsäureamid **98** auch ein Äquivalent Salzsäure gebildet, die durch die Zugabe einer Base abgefangen werden sollte. Als Basen werden stöchiometrische Mengen nicht-nukleophiler, tertiäre Amine, z. B. Triethylamin (TEA)⁴⁰⁸, Diisopropylethylamin

(*i*Pr₂NEt) oder N-Methylmorpholin, eingesetzt. Durch einen nukleophilen Angriff des Amins an die aktivierte Carbonylgruppe des Carbonsäurechlorides **96**, kommt es unter der Abspaltung von Salzsäure zur Bildung einer Carbonsäureamides **98** (s. Abb. 3.15). Als Lösungsmittel benutzt man inerte Lösungsmittel, wie Benzen, Toluol oder DCM. Die Reaktion kann durch die Zugabe von katalytischen Mengen Pyridin oder N,N-Dimethylaminopyridin (DMAP)⁴⁰⁹ beschleunigt werden.

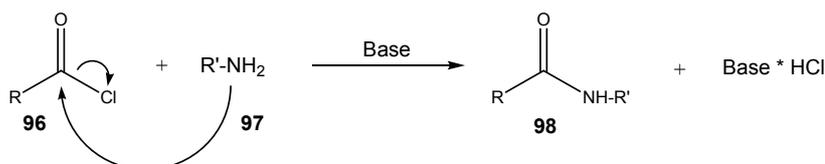


Abb. 3.15: Synthese von Carbonsäureamiden **98** aus Carbonsäurechloriden **96** und Aminen **97**

Die eigenen Synthesen von *t*Boc-geschützten Bispidinamiden **99** aus N-*t*Boc-Bispidin **93** und Carbonsäurechloriden **96** wurden bei RT in Toluol als Lösungsmittel durchgeführt. Um die entstehende Salzsäure zu binden, wurde 1 Äquivalent TEA als Hilfsbase zugegeben (s. Abb. 3.16). Die Reaktion wurde mit Hilfe einer DC kontrolliert und war nach 2 Stunden beendet. Aus dem Reaktionsgemisch wurde das Lösungsmittel entfernt und das Produkt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt. Auf der Kieselgelsäule blieben dabei die Edukte **93** und **96** wegen ihres polaren Charakters meist am Anfang der Säule zurück. Die *t*Boc-geschützten Bispidinamide **99** wurden schnell und sauber aufgereinigt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels erhielt man meistens weiße Feststoffe mit Ausbeuten in Höhe von 80 bis 99 %, überwiegend jedoch von > 95 %. Die Reinheit der Produkte lag bei ebenfalls > 95 %.

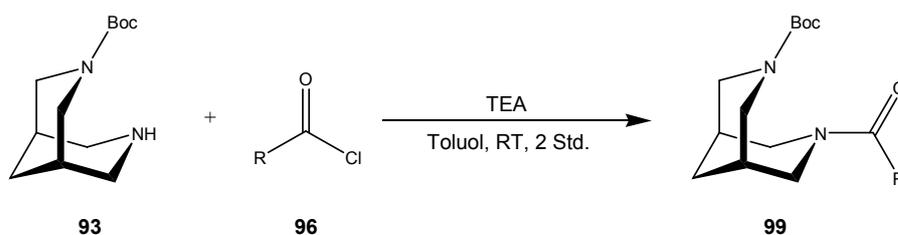


Abb. 3.16: Synthese von *t*Boc-geschützten Bispidinamiden **99** mit Säurechloriden **96**

Synthese von N-*t*Boc-Bispidinamiden **99** mit CDI

Die Aktivierung von Carbonsäuren mit Carbonyldiimidazol (CDI) **100** ist eine weitere Möglichkeit Carbonsäureamide herzustellen. CDI **100** ist ein Kopplungsreagenz, das seit langer Zeit v. a. in der Peptidchemie verwendet wird.^{410, 411} Eine neue Variante dieses Verfahrens nutzt zur Herstellung von Carbonsäureamiden **102** Carbamoylimidazolium Salze **101**. Die Verwendung dieses Kopplungsreagenzes hat den Vorteil, dass man nicht nur Carbonsäureamide **102**, sondern auch Thiocarbamate **103** und Carbamate **104** und **105** sowie Harnstoffe **106** auf diese

Weise herstellen kann. Bei der Verwendung von Thiocarbonyldiimidazol können ferner auch Thioharnstoffe synthetisiert werden.⁴¹²

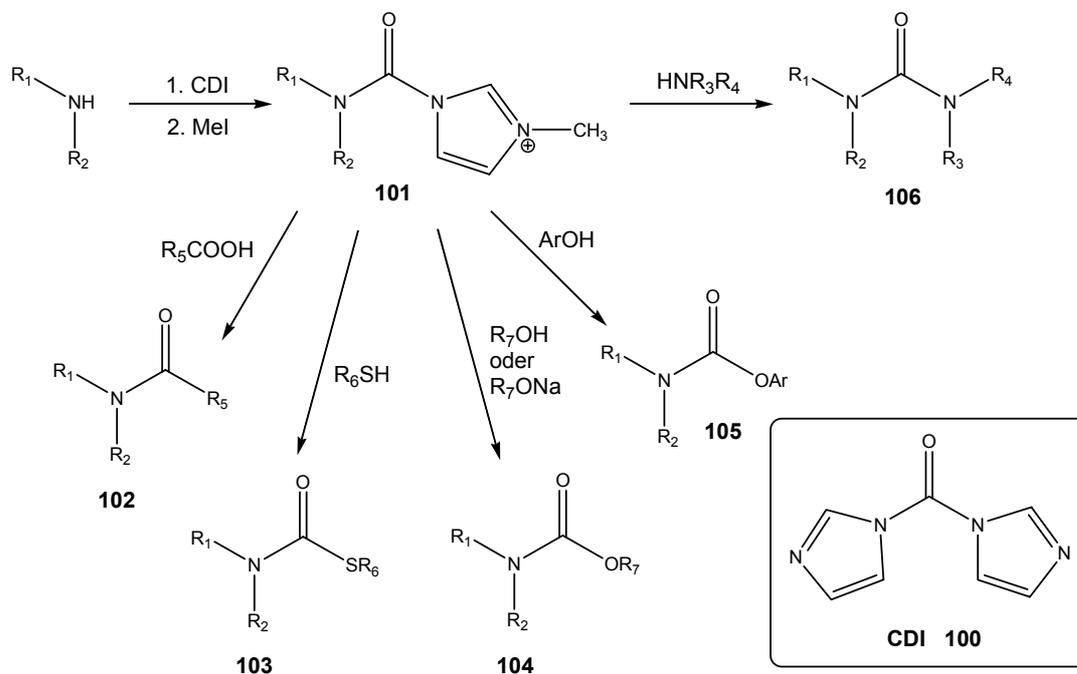


Abb. 3.17: Reaktion von Aminen mit CDI **100** nach Grzyb *et al.*⁴¹²

Als Mechanismus wird vorgeschlagen, dass sich zunächst aus CDI **100** und einem Molekül Amin ein Carbonylimidazoliderivat des Amins bildet. Dieses wird anschließend mit Methyljodid (MeI) zum Carbamoylimidazolium Salz **101** methyliert, welches in Gegenwart einer Base mit Carbonsäuren zum Anhydrid **107** reagiert. Beim anschließenden Zerfall des gebildeten Anhydrids wird ein Molekül Kohlendioxid abgespalten, das Methylimidazol nimmt die Carbonylverbindung auf und überträgt sie auf den Stickstoff, wobei sich ein Carbonsäureamid **102** bildet (s. Abb. 3.18).⁴⁰³

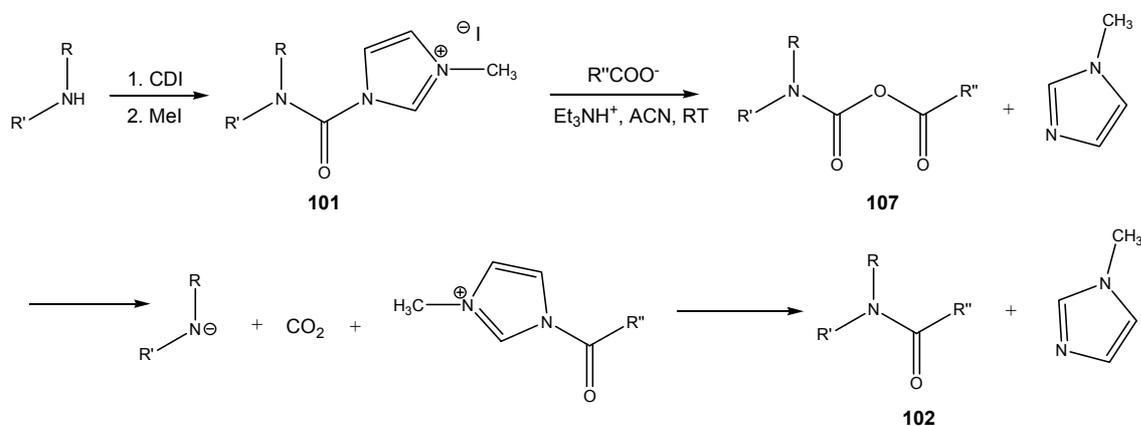


Abb. 3.18: Mechanismus der Darstellung von Carbonsäureamiden **102** mit CDI **100**

Für die eigenen Synthesen wurde zunächst N-*t*Boc-Bispidin **93** mit CDI **100** in THF zur Verbindung **108** umgesetzt und säulenchromatographisch aufgereinigt. N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** wurde dann mit Methyljodid für 24 Stunden bei RT aktiviert. Aus Gründen der Löslichkeit musste zu dem in der Originalvorschrift verwendeten ACN noch THF als Cosolvens hinzugefügt werden.⁴¹² Anschließend erfolgte die Entfernung des Lösungsmittels und des überschüssigen Methyljodids am Rotationsverdampfer.

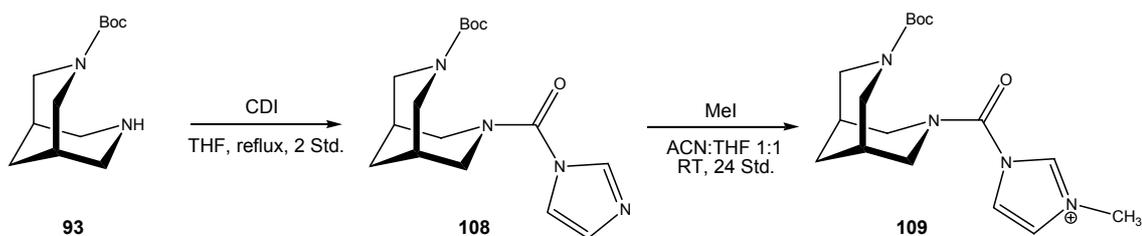


Abb. 3.19: Synthese von N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** und Aktivierung mit MeI

Die aktivierte Verbindung **109** wurde in ACN für 12 bis 120 Stunden mit unterschiedlichen Carbonsäuren zu *t*Boc-geschützten Bispidincarbonsäureamiden **99** umgesetzt. Eine anschließende säulenchromatographische Aufreinigung lieferte *t*Boc-geschützte Bispidincarbonsäureamide **99** mit Ausbeuten in Höhe von 31 bis 89 %, überwiegende jedoch von > 60 %, als klare Öle oder weiße Feststoffe. Die Reinheit der Produkte lag bei > 95 %.

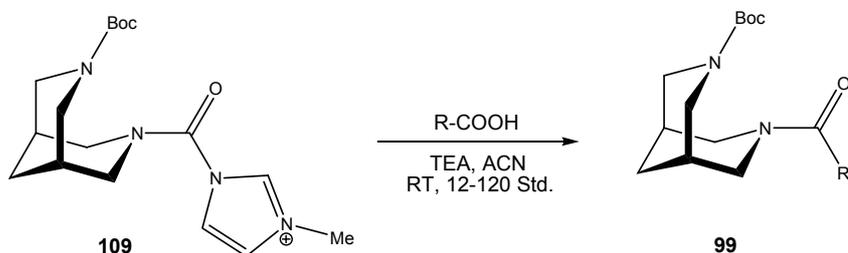


Abb. 3.20: Synthese von *t*Boc-Bispidinamiden **99** aus dem Zwischenprodukt **109**

Synthese von N-*t*Boc-Bispidinamiden **99** mit DCC

Mit der Verwendung des Kopplungsreagenz Dicyclohexyldiimid (DCC) **110** wurde ein drittes Verfahren zur Herstellung von *t*Boc-geschützten Bispidinamiden **99** verwendet. Bei DCC **110** handelt es sich um ein symmetrisches Diimid, das als Kondensationsreagenz eingesetzt wird. Bei der Reaktion entsteht zunächst aus DCC **110** und zwei Carbonsäuremolekülen das symmetrische Anhydrid **111** und Dicyclohexylharnstoff **112** (s. Abb. 3.21). In einem anschließenden Schritt reagiert das gebildete Anhydrid **111** mit einem Amin **97** zum Carbonsäureamid **98** (s. Abb. 3.22). Der große präparative Vorteil dieses Kopplungsreagenz ist, dass der gebildete Dicyclohexylharnstoff **112** in den meisten organischen Lösungsmitteln, z. B. EtOAc oder DCM, nicht löslich ist und während der Reaktion ausfällt. Ein Nachteil der Verwendung von DCC **110**

58 | Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

kann sein, dass sich Reste des Dicyclohexylharnstoffes **112** in den Produkten wiederfinden und nur schwer von diesen abtrennbar sind.⁴¹³

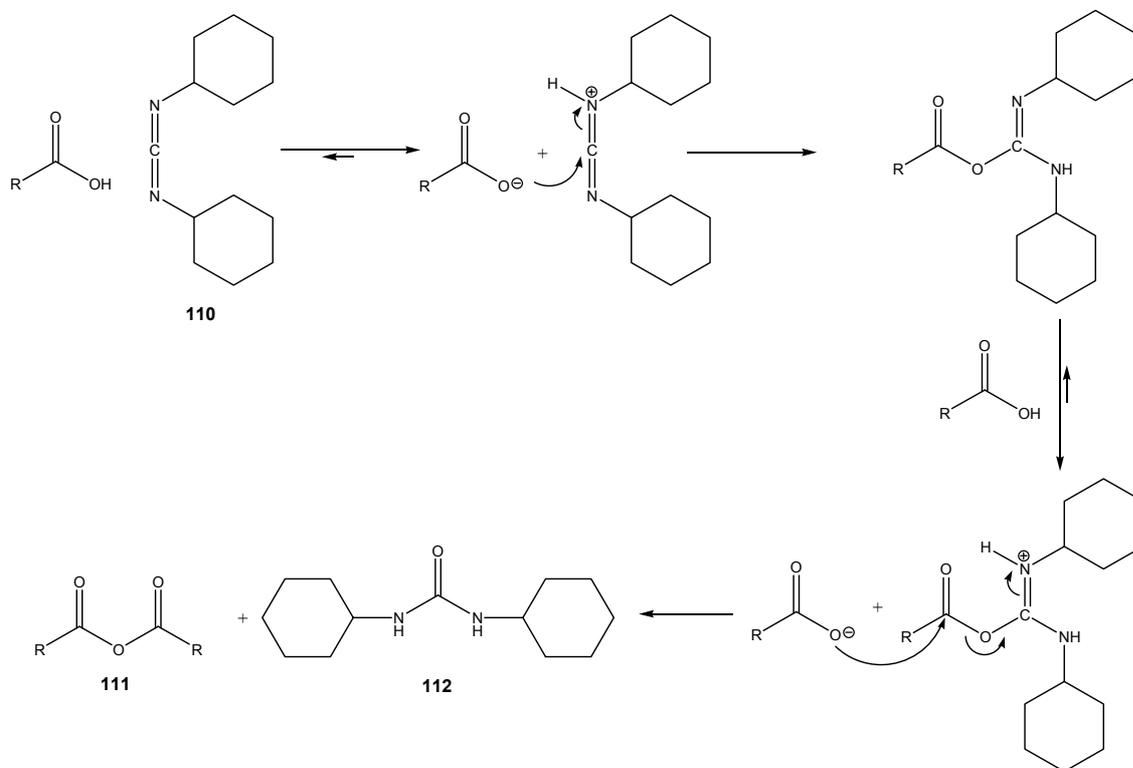


Abb. 3.21: Aktivierung von Carbonsäuren mit DCC **110**

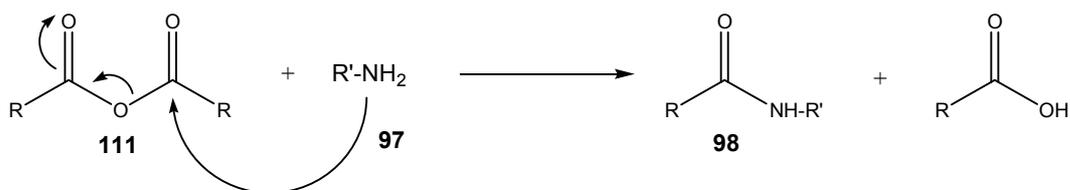
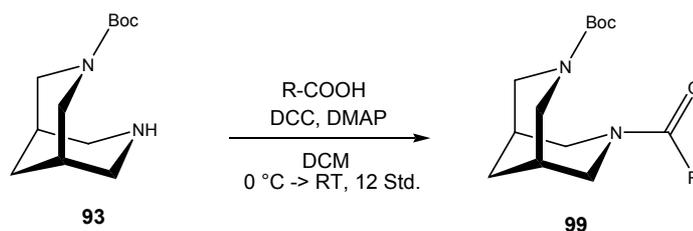


Abb. 3.22: Aminolyse eines symmetrischen Säureanhydrides **111** durch ein Amin **97**

Zur Synthese von N-*t*Boc-Bispidinamiden **99** mit DCC **110** wurde N-*t*Boc-Bispidin **93** zusammen mit einer Carbonsäure **94** in DCM gelöst. Bei 0 °C werden stöchiometrische Mengen DCC **110** und katalytische Mengen Dimethylaminopyridin (DMAP) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird auf RT erwärmt und über Nacht gerührt (s. Abb. 3.23). Dabei fällt Dicyclohexylharnstoff **112** als weißer Niederschlag aus, den man am nächsten Tag abfiltrieren kann.⁴¹⁴ Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt. Man erhielt Ausbeuten in Höhe von 23 bis 98 %, mit einer Reinheit von > 98 %.

Abb. 3.23: Synthese von tBoc-Bispidinamiden **99** aus N-tBoc-Bispidin **93** und DCC **110**

Die Verwendung von DCC **110** wurde in den Fällen benutzt, in denen die beiden vorher vorgestellten Methoden nicht zu den gewünschten Ergebnissen bzw. Ausbeuten führten. Z. B. lieferte die Reaktion von N-tBoc-Bispidin **93** mit 1-Methyl-1H-pyrrol-2-carbonsäure nach der CDI-Methode lediglich eine Ausbeute von 10 %, wohingegen das Produkt mit der DCC-Methode in 98 % Ausbeute erhalten wurde.

3.3.4.2 Synthese von N-tBoc-Bispidinsulfonsäureamiden **114**

Sulfonsäureamide sind ebenfalls eine sehr häufig vorkommende funktionelle Gruppe in Arzneistoffen. Sie findet sich in Arzneistoffen wie Antibiotika, Diuretika, Antidiabetika, HIV-Protease Inhibitoren, Carboanhydrase Inhibitoren oder COX-2 Inhibitoren wieder.³⁶⁷ Neuere Einsatzgebiete von Sulfonamiden reichen von Matrix Metalloproteinase Inhibitoren^{415, 416} über Thrombin Inhibitoren^{417, 418} bis hin zu Endothelin-A Rezeptor Antagonisten⁴¹⁹. In der nachfolgenden Abbildung 3.24 sind einige wichtige Vertreter von Arzneistoffen aufgeführt, die eine Sulfonamidgruppe in ihrer Molekülstruktur tragen.

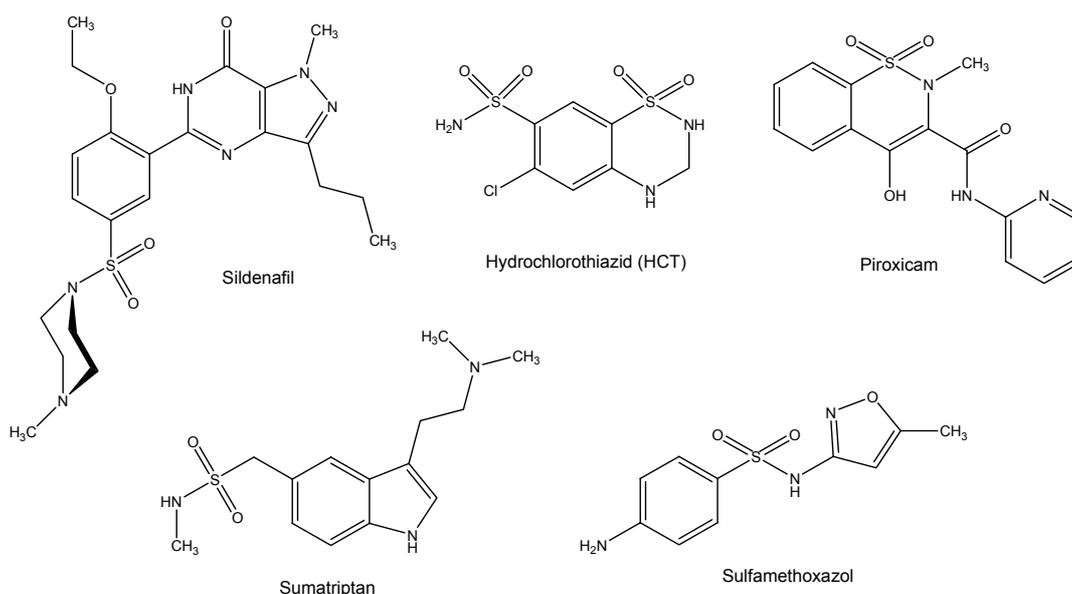


Abb. 3.24: Beispiele für Arzneistoffe mit einer Sulfonsäureamidgruppe

Sulfonsäureamide können als Carbonsäureamid-Surrogat aufgefasst werden.⁴²⁰ Sie lassen sich chemisch auf ähnliche Weise herstellen wie ihre Carbonsäure-Analoga, nämlich durch die Aminolyse von Sulfonsäurechloriden.³⁴⁶ Da Sulfonsäurechloride jedoch nicht sehr stabil und damit nicht lange lagerfähig sind, hat man auf der Suche nach stabileren Sulfonsäure-Derivaten die Pentafluorphenylsulfonate entdeckt, die sich in Anwesenheit einesamins leicht zu Sulfonamiden umsetzen lassen, aber eine höhere Stabilität als die Sulfonylchloride **113** aufweisen.⁴²¹ Weitere Neuerungen in der Synthese von Sulfonamiden sind beispielsweise die Verwendung von Ruthenium-Eisen-Katalysatoren⁴²² oder die Entwicklung von mikrowellengestützten Syntheseprotokollen⁴²³.

Die Darstellung von *t*Boc-geschützten Bispidinsulfonsäureamiden **114** wurde mit *N-t*Boc-Bispidin **93** und Sulfonsäurechloriden **113**, in analoger Weise zur Synthese der *t*Boc-geschützten Bispidinamiden **99** mit Carbonsäurechloriden, bei RT in einem inerten Lösungsmittel sowie unter Zusatz stöchiometrischer Mengen von TEA als Base durchgeführt (s. Abb. 3.25). Die Reaktion wurde mit Hilfe der DC verfolgt und nach 2 Stunden beendet. Die *t*Boc-geschützten Bispidinsulfonamide **114** wurden säulenchromatographisch aufgereinigt. Man erhielt weiße oder gelbliche Feststoffe mit Ausbeuten in Höhe von 65-98 %, meist jedoch > 90 %.

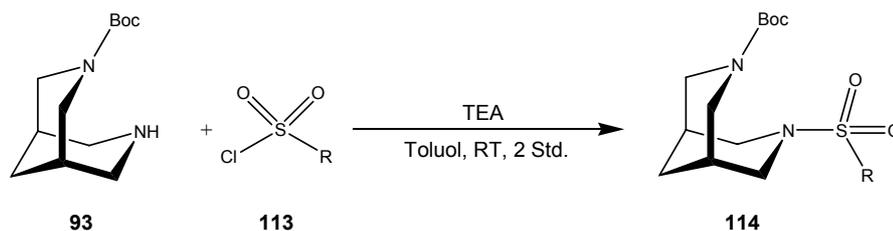


Abb. 3.25: Synthese von *t*Boc-Bispidinsulfonamiden **114** mit Sulfonsäurechloriden **113**

3.3.4.3 Synthese von *N-t*Boc-Bispidin-harnstoffen **118**

Auch Harnstoffe können als Carbonsäureamid-Surrogate aufgefasst werden und sie bilden ebenfalls neutrale und stabile funktionelle Gruppen. Wie in Abbildung 3.17 gezeigt, kann man aus Carbamoylimidazolium Salzen **101** und sekundären Aminen tetrasubstituierte Harnstoffe **106** herstellen. Mit dieser Synthese lassen sich auch trisubstituierte Harnstoffe durch Verwendung von primären Aminen synthetisieren.⁴¹² Harnstoff stellen ebenfalls eine wichtige funktionelle Gruppe in Arzneistoffen dar. In Abbildung 3.26 sind drei Arzneistoffe abgebildet, die eine Harnstoffbrücke als funktionelle Gruppe tragen.

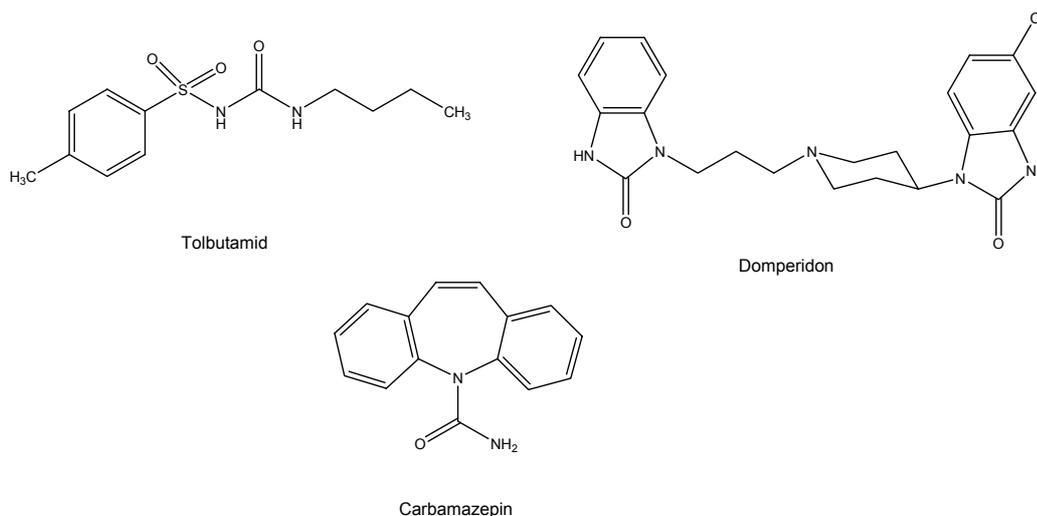
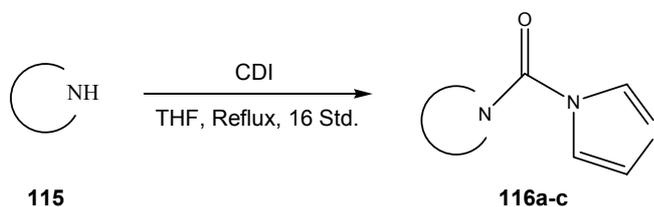
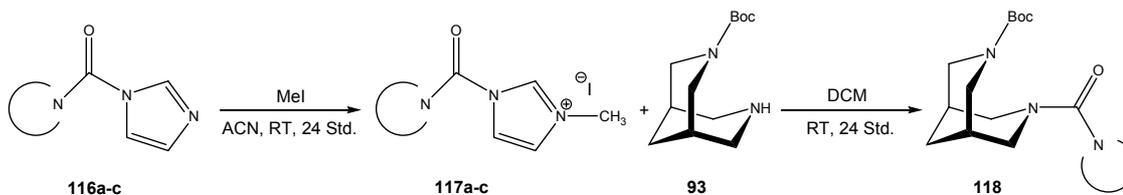


Abb. 3.26: Beispiele für Arzneistoff mit einer Harnstoffgruppe

Für der Synthese von *t*Boc-geschützten Bispidinharnstoffen **118** wurden zunächst die drei cyclischen sekundären Amine Pyrrolidin, Morpholin und 4-Benzylpiperidin (in Abb. 3.27 allgemein als **115a-c** dargestellt) nach einer Vorschrift von *Grzyb et al.* mit CDI **100** zu den entsprechenden Carbonylimidazol-Derivaten **116a-c** umgesetzt und aufgereinigt.⁴¹² Dabei ergaben sich Ausbeuten in Höhe von 65, 87 bzw. 90 %.


 Abb. 3.27: Allgemeine Synthese von cyclischen Aminen **116a-c** mit CDI **100**

Anschließend wurden die Carbonylimidazol-Derivate **116a-c** in analoger Weise, wie N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108**, für 24 Stunden mit einem Überschuss Methyljodid (MeI) aktiviert und anschließend mit N-*t*Boc-Bispidin **93** umgesetzt (s. Abb. 3.28). Die Synthese lieferte Ausbeuten in Höhe von 69, 83 und 99 % an *t*Boc-geschützten Bispidinharnstoffen **118**.


 Abb. 3.28: Synthese von *t*Boc-geschützten Bispidinharnstoffen **118**

3.3.5 Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe

Für die Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe werden in der Literatur verschiedene Verfahren beschrieben.³⁹⁴ Die meisten Verfahren verwenden saure Bedingungen, z. B. HCl in EtOAc⁴²⁴, H₂SO₄ in 1,4-Dioxan⁴²⁵, TFA in DCM^{426, 427} oder HCl in Et₂O, 1,4-Dioxan, MeOH oder EtOH. *Li et al.* ist es vor kurzer Zeit gelungen die *t*Boc-Schutzgruppe mit konzentrierter Phosphorsäure bei RT abzuspalten. Dieses schonende Verfahren ist dazu geeignet, die Schutzgruppe selektiv in Gegenwart anderer säurelabiler Gruppen, wie der Cbz-Schutzgruppe, Benzyl- oder Methyl-estern, zu entfernen.⁴²⁸

Daneben sind auch thermische Verfahren zur Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe beschrieben. So lässt sie sich sogar ohne Lösungsmittel^{429, 430} oder in einem hoch siedenden Lösungsmittel, wie Diphenylether, effektiv abspalten.⁴³¹ Weiterhin sind in den letzten Jahren einige mikrowellengestützte Verfahren entwickelt worden, die zu einer schnellen und effizienten Abspaltung dieser Schutzgruppe führen.⁴³²⁻⁴³⁴

Aufgrund der guten Löslichkeit der *t*Boc-geschützten Bispidin-Derivate **99**, **114** und **118** in 1,4-Dioxan und der einfachen Handhabung der HCl/Dioxan-Lösung, wurde die *t*Boc-Schutzgruppe der meisten Zwischenprodukte mit einer Kombination aus HCl in 1,4-Dioxan (4M) bei RT entfernt. HCl/Dioxan wurde dabei im Überschuss dazu gegeben und das Verfahren lieferte quantitative Ausbeuten. Bei der Reaktion entstehen Isobuten **120** und Kohlendioxid **121** als Abbauprodukte der *t*Boc-Schutzgruppe (s. Abb. 3.29). Um das freie Amin **81** (s. Abb. 3.30) aus dem Hydrochlorid **119** zu erhalten, wurde der Niederschlag im Alkalischen ausgeschüttelt.

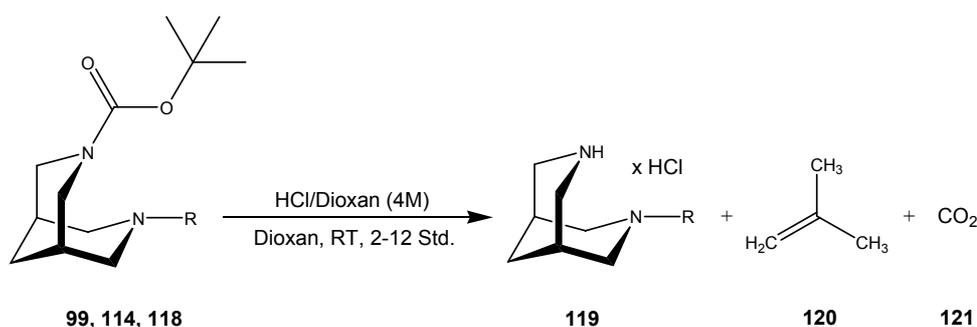


Abb. 3.29: Entschützung von *t*Boc-geschützten Bispidin-Derivaten **99**, **114**, **118** mit HCl/Dioxan

Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wurde ein zweites Verfahren angewendet, bei dem die Schutzgruppe mit wasserfreiem ZnBr₂ in DCM bei RT entfernt wird (s. Abb. 3.30). Diese Methode ist in der Lage, selektiv sekundäre, *t*Boc-geschützte Amine in Gegenwart von primären *t*Boc-geschützten Aminen von der Schutzgruppe zu befreien.⁴³⁵ Obwohl es i. d. R. länger dauerte, bis die Umsetzung vollständig abgelaufen war, wurde dieses Verfahren eingesetzt, um mögliche Nebenreaktionen der Salzsäure an der Doppelbindung von Styryl-Derivaten zu vermeiden. Dieses Verfahren führte zu nahezu quantitativen Ausbeuten. Es dauerte jedoch in der

Um Spuren von Lösungsmitteln aus den Bispidin-Fumaraten **122** zu beseitigen, die sich mit Standardverfahren wie Trocknen im Hochvakuum und evtl. vorsichtigem Erwärmen in einer Trockenpistole, oft nicht vollständig entfernen ließen, wurde das erhaltene Bispidin-Fumarat **122** in Wasser gelöst, eingefroren und an der Gefrier-trocknungsanlage lyophilisiert. Der dabei gewonnene Feststoff enthielt oft Spuren von Wasser, die jedoch keinen negativen Einfluss auf die Stabilität der Fumarate zu besitzen schienen.

Eine Besonderheit der Fumarsäure ist, dass sie zwei Protonen besitzt, so dass sich sowohl Salze mit einem Verhältnis von 1:1 (Base:Fumarsäure), als auch von 2:1 (Base:Fumarsäure) ergeben können. Bei den oben beschriebenen Vorgehensweisen fielen die Salze jedoch nicht kristallin aus, sondern bildeten amorphe Niederschläge, was die Möglichkeit von verschiedenen nebeneinander vorliegenden Verhältnissen zwischen Fumarsäure und Base möglich erscheinen lässt. Diese Vermutung konnte durch die Tatsache bestätigt werden, dass die olefinischen Protonen der Fumarsäure im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum gut erkennbar sind und integriert werden können. Die erhaltenen Daten aus den $^1\text{H-NMR}$ -Experimenten zum Verhältnis von Bispidin-Base zur Fumarsäure konnten für die einzelnen Verbindungen mit Hilfe der Elementaranalyse bestätigt werden.

Einen letzten Vorteil, den die Überführung der freien Amine in die Fumarate bot, ist der, dass sich auf diese Weise auch Verunreinigungen beseitigen lassen. Die meisten der *t*Boc-entschützten Endprodukte **81** wiesen bereits eine Reinheit von > 95 % auf. Nur selten waren noch geringe Mengen des *t*Boc-geschützten Bispidin-Derivates **99**, **114**, **118** vorhanden. Um Verunreinigungen und im Speziellen die *t*Boc-geschützten Edukte zu entfernen, bot sich die Fällung als Salz ebenfalls an, denn die *t*Boc-geschützten Edukte **99**, **114**, **118** sollten sich nicht als Fumarat fällen lassen und ausgewaschen werden. In der Tat wiesen die meisten Fumarate nach dem Fällen, Waschen und Lyophilisieren eine Reinheit von über 99.5 % auf. *t*Boc-geschützte Edukte **99**, **114**, **118** tauchten in den Salzen nicht auf. Die Ausbeute der Fällung als Fumarat lag zwischen 28 und 95 %, meist jedoch zwischen 50 und 80 %

Bei den Formeln **81**, **94**, **96-99**, **101-107**, **111**, **113-119** und **122** handelt es sich um die allgemeine Darstellung einer bestimmten Verbindungsklasse, z. B. Sulfonsäurechloride **113**, die zur besseren Übersichtlichkeit in der Darstellung der Synthesen benutzt wurden. Eine eindeutige Nummerierung der einzelnen End- (**144-199**, **201-209**), bzw. Zwischenprodukte (**92**, **93**) ist bei der Besprechung der Ergebnisse in den Tabellen des Kapitels 5.1 angegeben, so dass sich die Synthese und Analytik sowie die Ergebnisse der Radioligand-Bindungsstudien eindeutig einer Strukturformel zuordnen lassen.

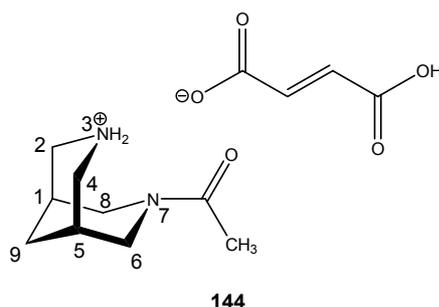
3.4 Analytik der neue synthetisierten Bispidin-Derivate

Die Identität und Reinheit aller End- und Zwischenprodukte wurde mit der LCMS nachgewiesen. Weiterhin wurden von allen Endprodukten ^1H -, ^{13}C - und DEPT-Spektren angefertigt, IR-Spektren aufgenommen, Elementaranalysen durchgeführt, sowie ihre Schmelzpunkte bestimmt. Einige Besonderheiten der Analytik dieser Substanzen sollen hier kurz erwähnt werden.

Die LCMS war nicht nur eine zuverlässige Quelle für die Identität der synthetisierten Substanzen, sondern man konnte durch sie auch Aussagen über die Reinheit der Substanzen machen. Dabei musste die Wellenlänge des Detektors bei manchen Verbindungen angepasst werden, weil nicht alle Substanzen über eine aromatische Teilstruktur verfügten. Oft gab es charakteristische Fragmentationen, die die Identität einer neuen Verbindung zusätzlich stützten. So konnten bei *t*Boc-geschützten Verbindungen, z. B. **99**, **114** und **118**, meist zwei Fragmentationen mit den Massen $[\text{M}-56+\text{H}]^+$ und $[\text{M}-100+\text{H}]^+$ beobachtet werden. Es ist anzunehmen, dass es sich dabei um Fragmentierungsprodukte einer teilweise stattfindenden Spaltung der *t*Boc-Schutzgruppe handelt. Die gefundenen Fragmentationen entsprechen den verbleibenden Massen nach einer Abspaltung der *tert*-Butylgruppe ($[\text{M}-56+\text{H}]^+$) sowie nach einer vollständigen Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe ($[\text{M}-100+\text{H}]^+$).

Auch die Analytik der Fumarate zeigte einige Besonderheiten. So kam es bei der Analyse dieser Salze mit Hilfe der LCMS i. d. R. zu drei Substanzpeaks im Chromatogramm (s. Tab. 3.2 in Kap. 3.5). Die erste Substanz zeigte im Massenspektrum Ionen der Masse $[\text{M}-\text{H}]^- = 115$, wobei es sich um die Fumarsäure handelte. Ein weiterer großer Substanzpeak konnte eindeutig der freien Bispidin-Base zugeordnet werden. Ein Vergleichslauf mit Fumarsäure bzw. der freien Bispidin-Base, lieferte den entsprechenden Beweis dafür. Ein dritter Substanzpeak, der jedoch nicht immer auftrat, konnte dem nicht dissoziierten Salz aus Bispidin-Base und Fumarsäure **122** zugeordnet werden. Dieser Substanzpeak erzeugte Ionen, die der Masse eines 1:1-Salzes und ferner der Massen der Teilstrukturen Bispidin-Base und Fumarsäure entsprachen. Die Reinheiten fast aller Produkte lagen deutlich über 99.5 %.

Die Auswertung der NMR-Spektren zeigte ebenfalls einige Besonderheiten. Als Beispiel sind das ^1H -NMR- und das ^{13}C -NMR-Spektrum von Acetyl-Bispidin Fumarat **144** (Formel s. Abb. 3.32) abgebildet. Zunächst einmal fällt bei der Betrachtung des Bispidinmoleküls **144** auf, dass es sich um eine optisch inaktive Verbindung handelt, denn es existiert eine Symmetrieebene, die durch das Bispidinmolekül verläuft. Sehrwohl besitzen die substituierten Bispidinmoleküle wie **144**, zwei chirale Kohlenstoffatome an den Positionen 1 und 5.

Abb. 3.32: Acetyl-Bispidin **144** als Fumarat

Die NMR-Spektren der Fumarate wurden in D₂O aufgenommen. Dabei sind sowohl die Säure-Protonen der Fumarsäure wie auch die beiden Protonen des Amins ausgetauscht und damit im ¹H-NMR-Spektrum nicht erkennbar. Jedoch wird durch diesen Austausch ein großes Lösungsmittelsignal (H₂O) bei 4.78 ppm erhalten.

Leicht zuordnen lässt sich das Signal der einzigen Methylgruppe in Verbindung **144** (Abb. 3.33) Signal 2 im ¹H-NMR als Singulett bei 2.16 ppm und Signal A im ¹³C-NMR bei 24.3 ppm). Ebenfalls leicht zuordnen lassen sich die Signale der Fumarsäure (die olefinische Protonen Signal 8 im ¹H-NMR als Singulett bei 6.73 ppm und im ¹³C-NMR der olefinische sowie der Carbonyl-Kohlenstoff Signale E und F bei 137.4 ppm bzw. 173.6 ppm).

Die ¹H-Signale des Bispidin-Grundgerüsts (Signale 1 sowie 3 – 7) waren immer breit und flach. Durch Auswertung der ¹H-, ¹³C- und DEPT-Spektren sowie von zweidimensionalen Korrelationsexperimenten (HMBC, HSQC sowie HH-COSY) ließen sich die Methylengruppe der Position 9 (Signal 1 im ¹H-NMR (s. Abb. 3.33) als Multipllett 1.96 ppm und Signal C im ¹³C-NMR (s. Abb. 3.34) bei 30.1 ppm) sowie die beiden Brückenköpfe der Positionen 1 und 5 (Signal 3 im ¹H-NMR als Singulett (oft auch zwei Singuletts) bei 2.32 ppm und den beiden Signalen B im ¹³C-NMR bei 28.0 und 28.4 ppm) eindeutig zuordnen.

Die Signale 4 bis 7 im ¹H-NMR-Spektrum (s. Abb. 3.33) und die Signale der Gruppe D im ¹³C-NMR-Spektrum (s. Abb. 3.34) konnten damit den 4 Methylengruppen mit Nachbarschaft zu den Stickstoffen im Bispidin zugeordnet werden. Interessant dabei war, dass man vier einzelne ¹³C-Kohlenstoffe im ¹³C-NMR-Spektrum (Signale D) sah, sowie zwei einzelne Protonen (Signale 6 und 7), die weit ins Tieffeld verschoben waren. Eine mögliche Interpretation dieser Befunde wäre, dass sich die Carbonylgruppe aus der Symmetrieebene herausdreht und sich zu einer Methylengruppe in Nachbarschaft zum acylierten Stickstoff orientiert. Dabei könnte es zur Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung mit einem Wasserstoffatom von einem der beiden Methylengruppen der Position 6 oder 8 kommen. Lässt man die Bispidinmoleküle mit einem Programm, z. B. Chem 3D Ultra, energieminimieren, so wird die seitliche Orientierung der Carbonylgruppe ebenfalls sichtbar. Die starke Tieffeldverschiebung der Signale 6 und 7 im ¹H-NMR (s. Abb. 3.33) könnte durch den Anisotropieeffekt der Carbonylgruppe erklärt werden.

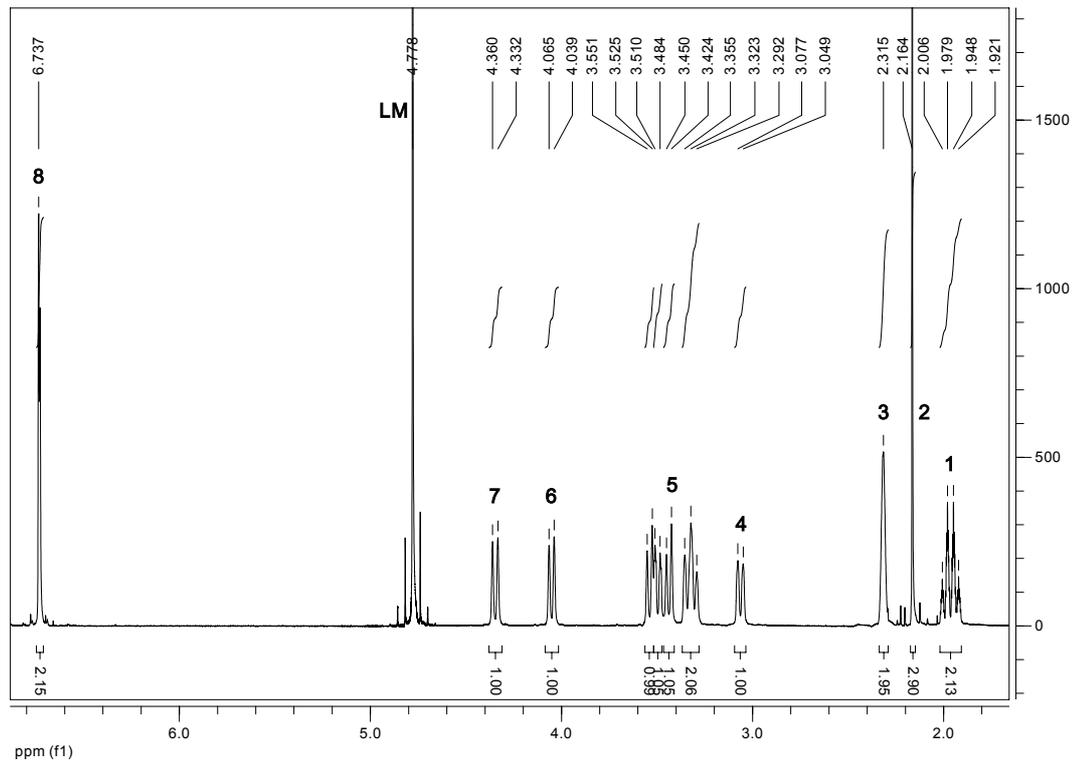


Abb. 3.33: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 144

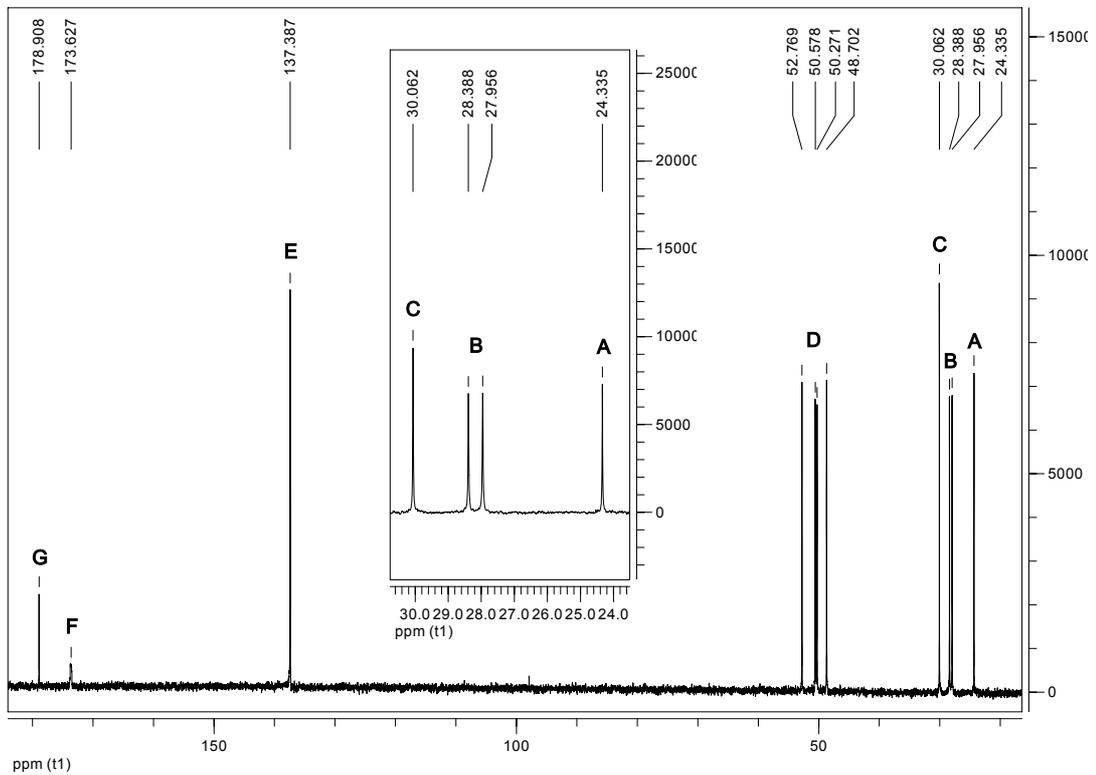


Abb. 3.34: ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung 144

Die Protonen der Signale 4 bis 7 (Abb. 3.33) zeigten für jedes Proton ein Duplett mit Kopplungskonstanten von etwa 11-14 Hz, was wegen der Breite der Signale oft nur ungenau bestimmt werden konnte. Diese Größenordnung der Kopplungskonstante deutet auf eine geminale Kopplung hin. Des Weiteren kam es in diesem Bereich sehr oft zu Überlagerungen der Methylensignale. In anderen Lösungsmitteln, wie MeOD oder DMSO-d₆, waren diese Signale meist jedoch breiter und schlechter aufgelöst.

Die Bispidinsulfonamide wie auch die Bispidinarnstoffe zeigten nicht die zwei einzelnen Protonen mit hoher Tieffeldverschiebung. Alle Protonen der Methylengruppen 2, 4, 6 und 8 (s. Abb. 3.32) lagen in einem Bereich unterhalb von 4 ppm. Auch im ¹³C-NMR lagen die Signale der Kohlenstoffe 1 und 5, 2 und 4 sowie 6 und 8 unter einem Signal (s. Abb. 3.32). Dies könnte möglicherweise bedeuten, dass es bei diesen Bispidin-Derivaten (Sulfonamiden und Harnstoffe) keine oder zumindest eine schwächere Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Sauerstoff und einem Proton der Methylengruppen 2, 4, 6 oder 8 (s. Abb. 3.32) gibt.

Bei einigen ortho-substituierten Benzoesäurebispidinamiden kam es in den NMR-Spektren zur Ausbildung von Rotameren. Diese wurden nicht einzeln beschrieben, sondern es wurde stets das stärkere Rotamer im experimentellen Teil aufgeführt.

Einige Acrylsäure- sowie Zimtsäurederivate neigten zur Bildung von cis-trans-Isomeren. Für die Synthese wurden jedoch reine trans-Isomere eingesetzt. Ferner war in den entsprechenden tBoc-geschützten Zwischenprodukten ebenfalls kein Isomerengemisch erkennbar. Es ist jedoch bekannt, dass verschiedene trans-Zimtsäure-Derivate unter UV-Bestrahlung zu Isomerisierungen neigen.⁴³⁶⁻⁴³⁸ Es wird daher angenommen, dass die Verbindungen dem Sonnenlicht ausgesetzt waren und dadurch isomerisiert sind.

Die IR-Spektren zeigten die erwarteten Banden für O-H-Valenzschwingungen, N-H-Valenzschwingungen, sowie die C-H-Valenzschwingungen und wenn im Molekül vorliegend, auch die C=O-Valenzschwingungen. Zusätzlich ergaben Nitrile, Sulfonamide und Nitrogruppen charakteristische und gut zu identifizierende Bande im IR-Spektrum. Im Falle der Fumarate der Bispidinamide sowie der Bispidinarnstoffe wurden meist zwei unterschiedliche Banden der C=O-Valenzschwingung gefunden, eine für die Carbonylgruppe des Amides bzw. des Harnstoffes und eine weitere für die Carbonylgruppe der Fumarsäure. Die Schwingungen der sich gegenüberliegenden olefinischen Protonen der Fumarsäure lagen in einem Bereich zwischen 970 und 995 cm⁻¹ und tauchten meist als Doppelbande auf.

Die Schmelzpunkte der Bispidin Fumarate lagen meist in einem kleinen Intervall von 2-4 Grad. Beim Schmelzvorgang und teilweise schon bei niedrigeren Temperaturen wurden die Fumarate dabei fast immer zersetzt, was an deutlichen Farbvertiefungen zu erkennen war. Die Fumarate hatten immer eine amorphe Gestalt und konnten bisher noch nicht in kristalliner Form ge-

wonnen werden. Diese amorphe Gestalt mag ein Erklärungsansatz für die ermittelten Schmelzpunktintervalle sein.

Abschließend wurden von den Bispidin-Derivaten durch Elementaranalyse die Gehalte an Kohlenstoff, Stickstoff und Wasserstoff bestimmt. Diese Werte halfen besonders dabei, die Zusammensetzung der Fumarate, in Verbindung mit den NMR-Daten, zu bestimmen.

3.5 Stabilitätstest

Um eine Aussage über die Stabilität der neuen Bispidin-Derivate in Lösung und während der Konkurrenzexperimente machen zu können, wurde exemplarisch für Verbindung **164**, ein Stabilitätstest durchgeführt (siehe Kap. 7.5). Dieser Stabilitätstest sollte die Bedingungen in einem Konkurrenzexperiment nachahmen. Dazu wurde Substanz **164** in HEPES-Puffer (pH 7.4) gelöst und seine Stabilität mit Hilfe der LCMS untersucht.

Die hergestellte Lösung wurde nach 5, 50, 90 und 180 Minuten mit Hilfe der LCMS untersucht. Die Retentionszeiten der einzelnen Stoffe waren wie folgt: Fumarsäure ($R_t = 2.16$ Min.), HEPES-Puffer ($R_t = 3.11$ Min.), Bispidin-Fumarat ($R_t = 15.02$ Min.) und Bispidin-Base ($R_t = 16.53$ Min.).

Die Auswertung der Chromatogramme lieferte keinen Hinweis auf Abbaureaktionen in dem untersuchten Zeitraum und unter den angegebenen Bedingungen. Die Integrale der einzelnen Peaks veränderten sich dabei nicht (s. Tab. 3.2). Darüber hinaus wurden auch keine neuen Substanzpeaks in den Chromatogrammen festgestellt.

Tab. 3.2: AUC-Werte (%) für die Stabilitätsuntersuchung der Verbindung **164** mittels LCMS

Zeit (Min)	AUC % (Fumarsäure)	AUC % (HEPES-Puffer)	AUC % (Fumarat)	AUC % (Bispidin)
5	13.47	55.02	0.98	29.83
50	13.71	54.18	1.03	30.42
90	13.48	55.30	1.03	29.52
180	13.31	55.55	0.98	29.45

70 | Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

Bisher ist jedoch weder der Einfluss des pH-Wertes noch der Einfluss von Proteinen auf die Stabilität dieser Verbindungen untersucht worden. Dies soll zusammen einer Ausweitung der Stabilitätstests auf weitere Bispidin-Derivate in der Zukunft noch geschehen.

3.6 Zusammenfassung der Bispidin-Synthesen

Neue Bispidin-Derivate konnten in einer fünf- bis sechsstufigen Synthese hergestellt werden. Dabei wurden drei unterschiedliche funktionelle Gruppen als Linker zwischen das Bispidin-Grundgerüst und die aliphatischen, cycloaliphatischen, aromatischen oder heteroaromatischen Substituenten oder Styrylderivate eingebaut. Die funktionellen Gruppen waren Carbonsäure- und Sulfonsäureamidbindungen, sowie Harnstoffbrücken.

Das Bispidin-Grundgerüst wurde in einer Bis-Mannich-Reaktion aus *t*Boc-geschütztem 4-Piperidon **85**, Formaldehyd **69** und Benzylamin **86** hergestellt. Das dadurch entstandene N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidinon **87** wurde anschließend in einer temperatur- und zeitmodifizierten Wolff-Kishner-Reduktion (Huang-Minlon-Variante) zum N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** reduziert. Als Ergebnis dieser zwei Stufen erhielt man in einer Gesamtausbeute in Höhe von 57 % das Bispidin-Derivat **88**, welches eine Benzyl- und eine *t*Boc-Schutzgruppe trug.

Nach der quantitativen Entfernung der Benzylschutzgruppe wurde das N-*t*Boc-Bispidin **93** mit unterschiedlichen Substituenten und funktionellen Gruppen derivatisiert. Dabei wurden durch verschiedene Syntheseprotokolle unterschiedliche Substituenten über drei verschiedene funktionelle Gruppen (Linker) mit dem Bispidin-Grundgerüst verbunden.

Neue *t*Boc-geschützte Bispidinamide **99** wurden durch drei unterschiedlichen Synthesemethoden dargestellt. Die erste Methode benutzte Carbonsäurechloride **96**, die mit N-*t*Boc-Bispidin **93** durch Aminolyse *t*Boc-geschützte Bispidinamide **99** in Ausbeuten von 80 bis 99 % lieferte. Eine zweite Methode benutzte CDI **100** und eine dritte DCC **110** als Kopplungsreagenzien, um *t*Boc-geschützte Bispidinamide **99** darzustellen. Mit der CDI-Methode gelang dies in 31 bis 89 % Ausbeute und mit der DCC-Methode in 23 bis 98 % Ausbeute.

Es konnten ebenfalls verschiedene *t*Boc-geschützte Bispidinsulfonamide **114** durch die Reaktion von N-*t*Boc-Bispidin **93** mit Sulfonsäurechloriden **113** dargestellt werden. Hierbei wurden Ausbeuten von 65 bis 98 % erreicht. Und es konnten drei *t*Boc-geschützte Bispidinarnstoffe **118**, die ebenfalls durch die Verwendung des Kopplungsreagenzes CDI **100** erhalten wurden, mit Ausbeuten in Höhe von 69 bis 99 % dargestellt werden.

In einem letzten Schritt wurde die *t*Boc-Schutzgruppe durch eine von zwei unterschiedlichen Methoden entfernt. Entweder kam dabei HCl/Dioxan oder wasserfreies ZnBr₂ in DCM zum Einsatz. In beiden Fällen waren die Ausbeuten meist quantitativ. Abschließend wurden die meisten Bispidin-Derivate mit Fumarsäure in das entsprechende Fumarat **122** überführt und lieferten dabei weiße, selten gelbliche Feststoffe in Ausbeuten von 28 bis 95 %. Meist jedoch lagen die Ausbeuten zwischen 50 und 80 %. Die Reinheit der Fumarate lag fast immer über 99.5 %.

72 | Projekt I: Synthese neuer Bispidin-Derivate

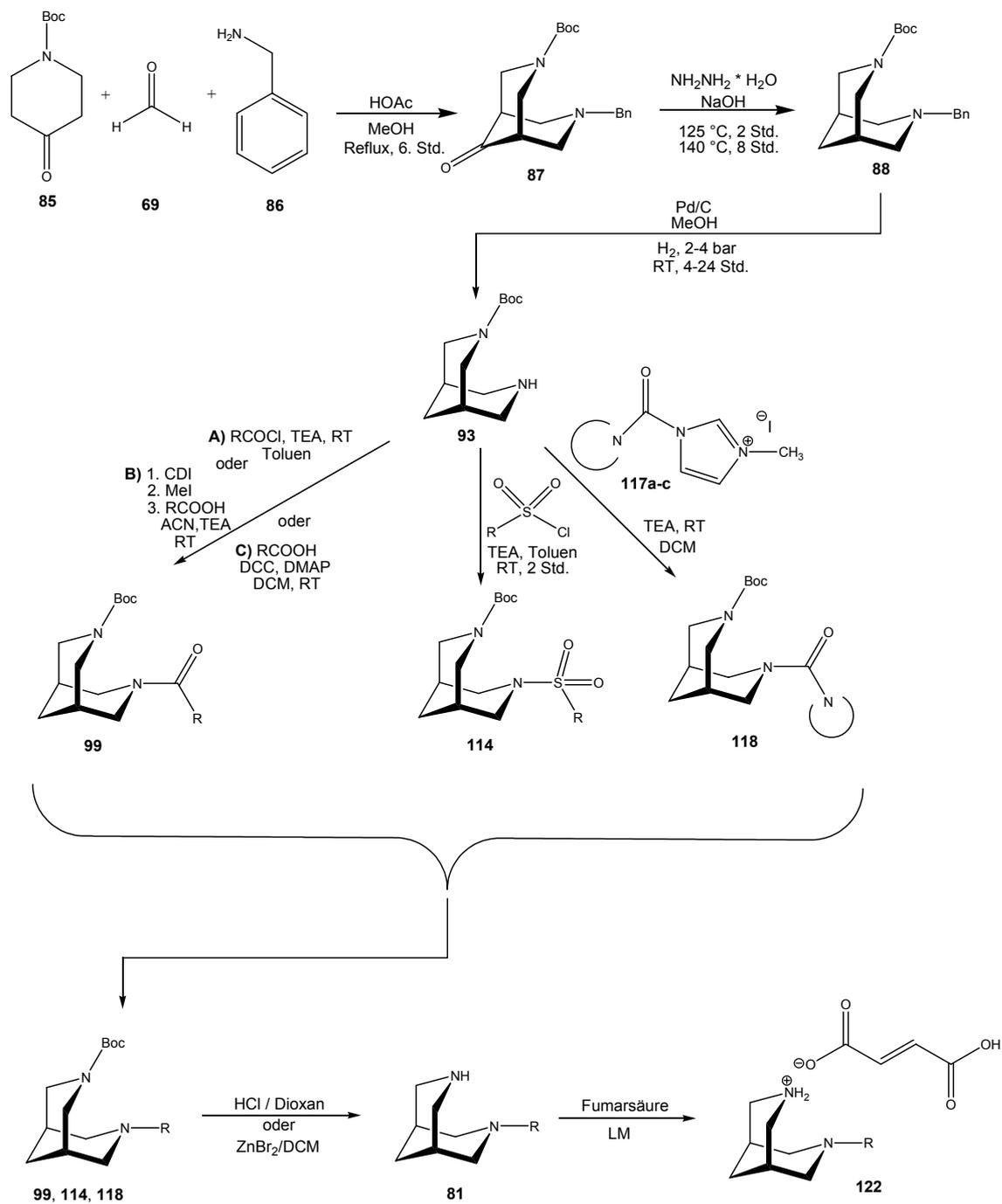


Abb. 3.35: Syntheschema für die Synthese neuer Bispidin-Derivate

4 Projekt II: Synthese von Cytisin-Derivaten

4.1 (-)-Cytisin

Das Alkaloid (-)-Cytisin **34** kommt in vielen verschiedenen Pflanzenarten der Familie der *Fabaceae* vor, wie z. B. in unterschiedlichen *Genista*-⁴³⁹⁻⁴⁴², *Ormosia*-⁴⁴³, *Sophora*-⁴⁴⁴⁻⁴⁴⁶ oder *Thermopsis*-Arten.⁴⁴⁷⁻⁴⁴⁹ Als Nebeninhaltsstoff kommt es auch im Traubensilberkerzen-Wurzelstock (*Cimicifugae racemosae rhizoma*), einer Arzneidroge, vor.⁴⁵⁰ In unseren Breiten kann (-)-Cytisin **34** leicht aus den Samen des Goldregenstrauches gewonnen werden.



Abb. 4.1: *Laburnum anagyroides* im Frühling mit Blüten und im Herbst mit den reifen Samen

Die Gattung *Laburnum* spaltet sich dabei in die zwei Arten *Laburnum anagyroides* und *Laburnum alpinum* auf. Diese buschigen Sträucher oder kleinen Bäume fallen besonders im Frühling durch ihre prächtigen gelben und hängenden Blütenstände auf, die sie zu einer beliebten Zierpflanze für Vorgärten macht (s. Abb. 4.1).^{451, 452} Aufgrund der hohen Toxizität des Goldregens werden die Anpflanzungen in der Nähe von Kinderspielplätzen und Kindergärten vermieden oder es wird bevorzugt die Kreuzung der beiden *Laburnum*-Arten (*Laburnum x watereri*) angepflanzt, die sich durch eine geringere Samenproduktion und einen geringeren Alkaloidgehalt auszeichnet. Die Symptome einer Vergiftung durch (-)-Cytisin **34** sind einer Nicotin-Vergiftung sehr ähnlich und es treten Übelkeit, Erbrechen, Leibschmerzen, bei höheren Dosen Halluzinationen, Krämpfe und Lähmungen auf. Der Tod tritt dann durch Atemlähmung ein.⁴⁵³ Obwohl viele Fälle von Vergiftungen bekannt sind, enden nur wenige Fälle tödlich.⁴⁵⁴

(-)-Cytisin **34** wurde bereits 1863 von *Husemann und Marmé* in den Samen des Goldregenstrauches (*Laburnum anagyroides*) entdeckt.⁴⁵⁵ *Partheil* erforschte sehr intensiv seine physiko-

74 | Projekt II: Synthese von Cytisin-Derivaten

chemischen Eigenschaften^{456, 457} und *Ing* gelang es bereits in den 30iger Jahren, seine Struktur richtig aufzuklären.^{458, 459} (-)-Cytisin **34** erhielt aufgrund seines weit verbreiteten Auftretens in anderen Pflanzenarten weitere Namen, wie z. B. Baptitoxin, Cytiton oder Ulexin. *Gorter* konnte 1897 aufgrund umfangreicher Untersuchungen der chemischen und physiologischen Eigenschaften von Baptitoxin beweisen, dass es sich bei Baptitoxin und (-)-Cytisin **34** um dieselben Verbindungen handelt.

(-)-Cytisin **34** ist ein Chinolizidin-Alkaloid, das aus einem Bispidin-Grundgerüst besteht und mit einem 2-Pyridonring anelliert ist (s. Abb. 4.2). Es stellt ein tricyclisches, überbrücktes Ringssystem dar und wird nach IUPAC-Nomenklatur als (7*R*,9*S*)-1,2,3,4,5,6-Hexahydro-1,5-methanopyrido[1,2-*a*][1,5]diazocin-8-on bezeichnet. 7*R*,9*S* ist dabei die absolute Konfiguration des natürlich vorkommenden, linksdrehenden (-)-Cytisins **34**.⁴⁶⁰ Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden (-)-Cytisin **34** und dessen Derivate vereinfacht als „Cytisin“ bzw. „Cytisin-Derivate“ bezeichnet. Weiterhin werden Cytisin **34** und Cytisin-Derivate nach einer in der Literatur oft benutzten, alternativen Weise nummeriert (s. Abb. 4.3).

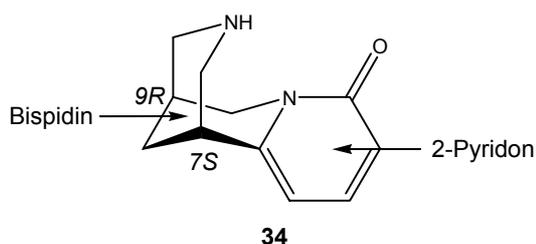


Abb. 4.2: Absolute Stereochemie und Teilstrukturen des (-)-Cytisins **34**

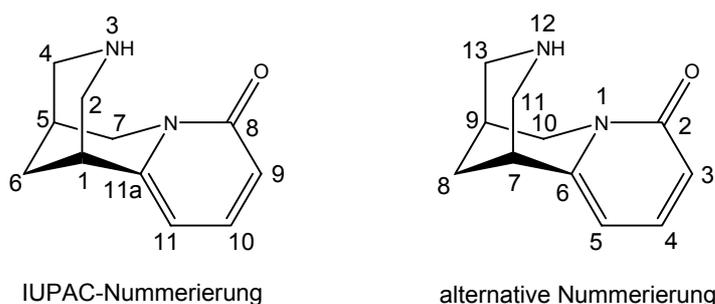


Abb. 4.3: Nummerierung von Cytisin **34** nach IUPAC und nach einer alternativen Nummerierung

Pharmakologisch ist Cytisin **34** ein bereits gut erforschter Ligand für den nAChR. Verglichen mit ACh **1** oder (-)-Nicotin **17** besitzt es eine hohe Selektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. In der Literatur werden jedoch sehr unterschiedliche K_i -Werte angegeben. So fanden *Boido et al.* einen K_i -Wert von 3 nM bei Konkurrenzexperimenten an Membranpräparationen aus Rattenhirn³²², während *Gündisch et al.* mit dem gleichen Gewebe einen K_i -Wert von 120 pM³¹⁸ bzw. 124 pM¹⁹⁸ ermittelten. Die K_i -Werte anderer Gruppen lagen zwischen diesen beiden Extremen, unterschieden sich jedoch teilweise in der Art des benutzten Gewebes bzw. der benutzten Zell-

linie und in der Art des Radioliganden.^{257, 461-466} Die Affinität von Cytisin **34** für den $\alpha 7^*$ -Rezeptor wurde mit $8 \mu\text{M}^{464}$ bis 261 nM^{257} angegeben und die Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor lag zwischen $840 \text{ nM}^{461, 462}$ und 18 nM^{467} . Am muskulären Rezeptorsubtyp wurden K_i -Werte von $1.3 \mu\text{M}^{467}$ bzw. $250 \text{ nM}^{461, 462}$ für Cytisin **34** gemessen (s. Tab. 4.1).

Tab. 4.1: K_i -Werte in der Literatur für (-)-Cytisin **34** für verschiedene nAChR-Subtypen

K_i-Wert [nM] für $\alpha 4\beta 2^*$	Radioligand	Gewebe	Literaturquelle
0.120	6- ^{18}F Fluor-A-85380	Rattenhirn	Gündisch et al. ³¹⁸
0.122	(\pm)- ^3H Epibatidin	Rattenhirn	Imming et al. ²⁵⁷
0.124	(\pm)- ^3H Epibatidin	Rattenhirn	Gündisch et al. ¹⁹⁸
0.17	(-)- ^3H Nicotin	Rattenhirn	Coe et al. ⁴⁶¹
0.23	(-)- ^3H Nicotin	HEK-293 Zellen	Coe et al. ⁴⁶²
0.45	(-)- ^3H Cytisin	Rattenhirn	Pabreza et al. ⁴⁶⁸
0.55	(\pm)- ^3H Epibatidin	Rattenhirn	Carbonnelle et al. ⁴⁶⁶
1.03	(-)- ^3H Cytisin	<i>Xenopus laevis</i> Oocyten	Parker et al. ⁴⁶⁵
1.2	(-)- ^3H Cytisin	SH-EP1 Zellen (h $\alpha 4\beta 2$)	Slater et al. ⁴⁶⁴
3.0	(-)- ^3H Cytisin	Rattenhirn	Boido et al. ³²²

K_i-Wert [nM] für $\alpha 3\beta 4^*$	Radioligand	Gewebe	Literatur
18	(\pm)- ^3H Epibatidin	Nebenniere (Schwein)	Tilotta (Diss.) ⁴⁶⁷
54	(\pm)- ^3H Epibatidin	Nebenniere (Kalb)	Tilotta (Diss.) ⁴⁶⁷
56	(\pm)- ^3H Epibatidin	<i>Xenopus laevis</i> Oocyten	Parker et al. ⁴⁶⁵
122	(\pm)- ^3H Epibatidin	Ganglion cervicale sup.	Carbonnelle et al. ⁴⁶⁶
220	(\pm)- ^3H Epibatidin	KX $\alpha 3\beta 4\text{R}2$ Zellen	Fitch et al. ⁴⁶⁹
840	(\pm)- ^3H Epibatidin	IMR-32 Zellen	Coe et al. ⁴⁶¹

K_i-Wert [nM] für $\alpha 7^*$	Radioligand	Gewebe	Literatur
8000	^{125}I - α -Bungarotoxin	SH-SY5Y Zellen (h $\alpha 7$)	Slater et al. ⁴⁶⁴
4200	^{125}I - α -Bungarotoxin	GH4C1 Zellen	Coe et al. ⁴⁶¹
261	^3H MLA	Rattenhirn	Imming et al. ²⁵⁷

K_i-Wert [nM] für $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$	Radioligand	Gewebe	Literatur
250	^{125}I - α -Bungarotoxin	Torpedo californica electroplax	Coe et al. ⁴⁶¹
1300	(\pm)- ^3H Epibatidin	Torpedo californica electroplax	Tilotta (Diss.) ⁴⁶⁷

Wegen der hohen Affinität und guten Selektivität zum $\alpha\beta_2^*$ -Rezeptor wird Cytisin **34** auch als Radioligand eingesetzt. Dabei konnte gezeigt werden, dass der Radioligand [^3H]Cytisin eine nicht-kooperative und sättigbare Bindung zu einer einzigen Population von Bindungsstellen in Rattenhirn ($K_d = 0.96 \text{ nM}$) eingeht.⁴⁶⁸ Diese spezifische Bindung konnte mit Standard-Agonisten, wie Cytisin **34**, (-)-Nicotin **17**, ACh **1** oder Carbachol **3**, sowie mit dem Antagonisten DH β E **35** verdrängt werden. [^3H]Cytisin zeigte dabei nur eine sehr geringe nicht-spezifische Bindung. Diese Ergebnisse wurden von anderen Arbeitsgruppen bestätigt, die K_d -Werte von 440 pM ⁴⁷⁰, 145 pM ²⁰³ und 120 pM ³¹⁸ für [^3H]Cytisin ermittelten. Es wurden ebenfalls Experimente mit humanen Gewebepreparationen durchgeführt, wo [^3H]Cytisin einen K_d -Wert von 245 pM besaß.⁴⁷¹

Auch funktionell wurde Cytisin **34** bereits gut charakterisiert. *Luetje und Patrick* konnten zeigen, dass die Effekte von Cytisin **34** von der paarweisen Kombination aus α - und β -Untereinheiten (α_2 , α_3 , α_4 , β_2 und β_4), die in *Xenopus laevis* Oocyten exprimiert wurden, abhängig waren. Für die Wirkstärke des Cytisins **34** war dabei die β_4 -Untereinheit von besonderer Bedeutung. Cytisin **34** zeigte an Kombinationen von α_2 , α_3 oder α_4 mit der β_4 -Untereinheit eine 3-17mal größere intrinsische Aktivität, verglichen mit ACh **1**, als an Kombination von α_2 , α_3 oder α_4 mit der β_2 -Untereinheit, wo es etwa 14-100mal weniger aktiv war als ACh **1**.⁴⁷² *Papke und Heinemann* wiesen später nach, dass Cytisin **34** ein partieller Agonist an $\alpha_4\beta_2^*$ - sowie an $\alpha_3\beta_2^*$ -Rezeptoren ist, mit einer maximalen Wirksamkeit von 14.7 % bzw. 2.5 % im Vergleich zu dem Effekt von 1 mM ACh **1**. Dabei besaß Cytisin **34** einen EC_{50} -Wert von etwa $1 \mu\text{M}$ am $\alpha_4\beta_2^*$ -Rezeptor, konnte aber schon bei einer Konzentration von 20 nM die Hälfte des durch $1 \mu\text{M}$ ACh **1** entstandenen Effektes effektiv zurückdrängen.³²⁷ An rekombinanten, humanen nAChR konnten diese Ergebnisse bestätigt werden²⁵⁹ und ebenfalls die volle agonistische Aktivität von Cytisin **34** an α_7^* -Rezeptoren gezeigt werden.^{259, 473} An $\alpha_3\beta_4^*$ -Rezeptoren zeigte Cytisin **34** ebenfalls eine partialagonistische Aktivität von rund von 60 % in unterschiedlichen Zell- bzw. Expressionssystemen.^{259, 469}

Neben vielen anderen Effekten besitzt Cytisin **34** pharmakologisch eine sehr große Ähnlichkeit zu den Effekten von Nicotin **17**.⁴⁷⁴ Es ist daher nicht verwunderlich, dass man Cytisin **34** auch als Tabakentwöhnungsmittel einsetzt. Erstaunlich ist dabei nur, dass dies nur in Bulgarien geschieht, wo Cytisin **34** in Tabletten-Form (Tabex®) von der Firma *Sopharma* zur Tabakentwöhnung mittlerweile seit Jahrzehnten vermarktet wird.³²³ In diesem Zeitraum wurden etwa 10 klinische Studien mit Cytisin **34** als Tabakentwöhnungsmittel durchgeführt, die zeigen konnten, dass Cytisin **34** wirksam für diese Indikation und dabei relativ gut verträglich ist.³²⁴ In einer klinischen Studie aus dem Jahre 1971 soll Cytisin **34** auch 2 Jahre nach der Therapie noch wirksamer als Placebo gewesen sein. Eine solche Studie würde jedoch heutigen Maßstäben an ihre Robustheit wohl kaum noch genügen.⁴⁷⁵ In den westlichen Ländern entdeckte man hingegen, dass die Kombination einer Nicotin-Ersatz-Therapie mit niedrig dosiertem Mecamylamin **39**, einem allosterischen Antagonisten, eine höhere Erfolgsquote bei der Bekämpfung der Nicotinsucht zeigte. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass Substanzen mit partialagonistischer Wirkung am $\alpha_4\beta_2^*$ -Rezeptor, ein Erfolg versprechender Ansatz für die Be-

handlung der Tabakabhängigkeit darstellen könnte.^{290, 291, 476} Partialagonisten würden dabei den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor im Gehirn ausreichend stimulieren, um die Symptome eines Nicotinentzuges, zu reduzieren und würden gleichzeitig den Rezeptor für eine Interaktion mit Nicotin **17** blockieren. Auf der Suche nach Partialagonisten führte diese Hypothese schließlich zu Strukturanalogen des Cytisins und zur erfolgreichen Markteinführung von Vareniclin **123** (Champix™) durch die Firma *Pfizer*.^{461, 462} Vareniclin **123** ist ein partieller Agonist an $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren ($EC_{50} = 2.3 \mu M$) mit einer Wirksamkeit von 13 %, verglichen mit zu ACh **1**. Jedoch ist Vareniclin **123** gleichzeitig ein voller Agonist an $\alpha 7^*$ -Rezeptoren ($EC_{50} = 18 \mu M$, 93% Wirkung im Vgl. zu ACh **1**) sowie an $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptoren ($EC_{50} = 55 \mu M$, 75 % Wirkung im Vgl. zu ACh **1**).⁴⁷⁷

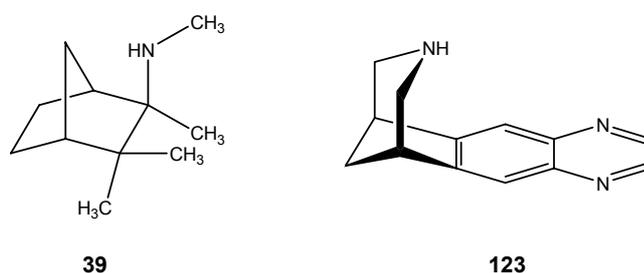


Abb. 4.4: nAChR-Liganden Mecamylamin **39** und Vareniclin **123**

4.2 Struktur-Wirkungsbeziehungen von Cytisin-Derivaten

Die Synthese von neuen Cytisin-Derivaten als Liganden für den nAChR wurde bereits von verschiedenen Arbeitsgruppen beschrieben. Dabei konzentrierten sich die Modifikationen v. a. auf den sekundären Stickstoff des Cytisins **34** und auf Veränderungen am Pyridonring. Cytisin **34** besitzt hohe Affinität und Selektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 0.120 \text{ nM}$). An den weiteren Rezeptorsubtypen besitzt es eine geringere Affinität ($\alpha 3\beta 4^*$: $K_i = 19 \text{ nM}$, $\alpha 7^*$: $K_i = 250 \text{ nM}$, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$: $K_i = 1300 \text{ nM}$). Aus diesem Grund wurde Cytisin **34** als Leitstruktur für neue Liganden am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp verwendet. Eine zusammenfassende Übersicht bereits durchgeführter Struktur-Wirkungsbeziehungen für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp zeigt die Abbildung 4.5.

Durch die Einführung von Substituenten am sekundären Stickstoff reduziert sich die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ wie auch zu den weiteren Subtypen $\alpha 3\beta 4^*$, $\alpha 7^*$ und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$. Dabei besitzt das N-Methyl-Cytisin **124**, das auch Caulophyllin genannt wird (s. Abb. 4.6), eine K_i -Wert von 5.7 nM ²⁵⁷ für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp, während die Einführung längerer aliphatischer, arylaliphatischer oder aromatischer Substituenten die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor meist noch stärker reduziert ($K_i = 1.2\text{-}4850 \text{ nM}$).^{322, 478}

78 | Projekt II: Synthese von Cytisin-Derivaten

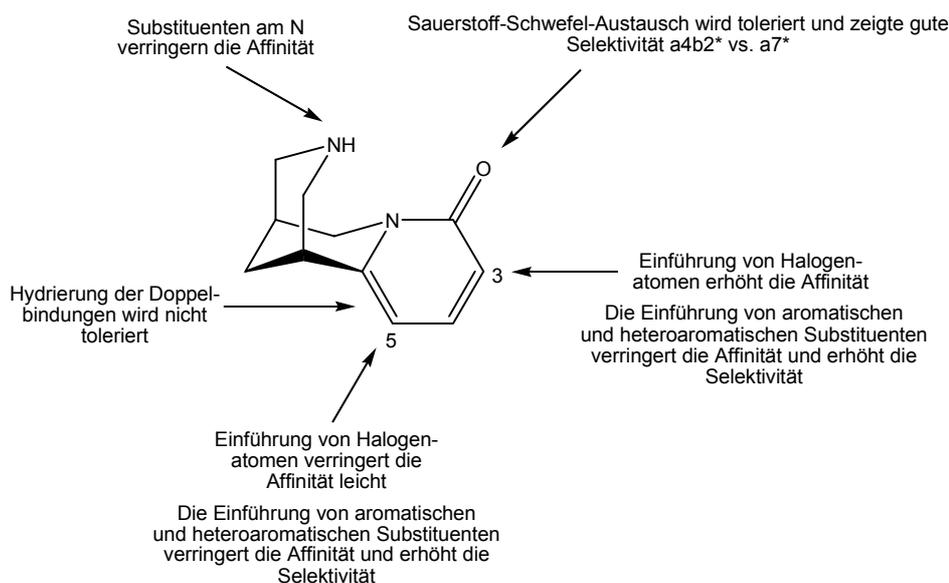


Abb. 4.5: Struktur-Wirkungsbeziehungen von Cytisin **34** für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor

Dagegen führte die Einführung von Halogenatomen (Chlor, Brom, Iod) in die Position 3 **125-127** des Pyridonrings zu einer Erhöhung der Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. 3-Brom-Cytisin **126** besaß dabei den höchsten K_i -Wert ($K_i = 0.01$ nM), während 3-Iod-Cytisin **127** einen K_i -Wert von 0.017 nM und 3-Chlor-Cytisin **125** einen K_i -Wert von 0.022 nM besaßen. Die Einführung dieser Halogenatome in die 5-Position **129-131** ($K_i = 0.23$ -2.5 nM) oder in die 3- und 5-Position **133-135** ($K_i = 0.52$ -10.8 nM) des Pyridonrings reduzierte die Affinität verglichen mit Cytisin **34** ($K_i = 0.12$ nM).²⁵⁷ Auch die Einführung einer Nitrogruppe in die 3-Position **128** ($K_i = 0.42$ nM) und in die 5-Position **132** ($K_i = 65.6$ nM) erniedrigte die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor (s. Abb. 4.6).⁴⁶⁷

Durch die Einführung von aromatischen oder heteroaromatischen Substituenten in die 3- oder die 5-Position des Pyridonrings, wurden ebenfalls Verbindungen mit einer geringeren Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor erhalten, verglichen mit Cytisin **34**. Jedoch besaßen diese Verbindungen eine Selektivität gegenüber anderen Rezeptorsubtypen. 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** besaß K_i -Werte von 0.91 nM für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor und 119 nM für den $\alpha 3\beta 4^*$ -Subtyp, jedoch keine Affinität zu den Subtypen $\alpha 7^*$ und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$.³²⁰

Ein bioisosterer Sauerstoff-Schwefel-Austausch der Carbonylgruppe des Cytisins **34** führte zu einer geringeren Affinität des Thiocytisins **136** ($K_i = 0.832$ nM), jedoch zu einer besseren $\alpha 4\beta 2^*$ - vs. $\alpha 7^*$ -Selektivität ($\alpha 7^*$: $K_i = 4000$ nM).^{319, 467} Die Kombination verschiedener Modifikationen (N-Methylierung, Halogenierung am Pyridonring, Sauerstoff-Schwefel-Austausch) führte zu einer geringeren Affinität zum nAChR, z. B. Verbindung **137** ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 4.8$ μ M, $\alpha 3\beta 4^*$: $K_i = 23$ μ M, $\alpha 7^*$: $K_i = 13$ μ M), im Vergleich zu Cytisin **34** (s. Abb. 4.7).⁴⁶⁷

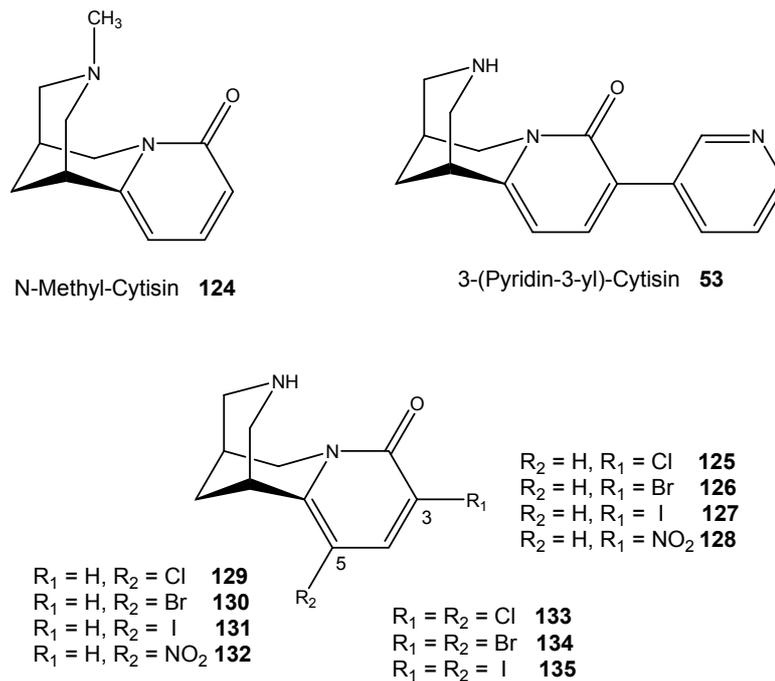


Abb. 4.6: Cytisin-Derivate mit unterschiedlichen Substituenten in den Positionen 3 und 5 **125-135** sowie N-Methyl-Cytisin **124** und 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53**

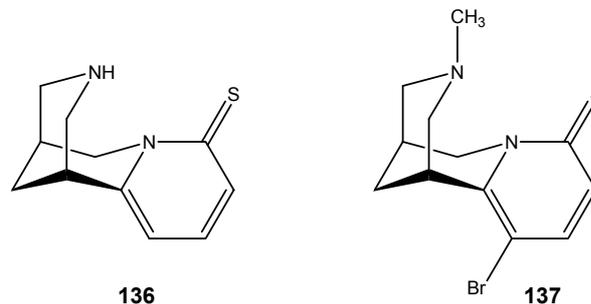


Abb. 4.7: Strukturformel für Thiocytisin **136** und 5-Brom-N-methylthiocytisin **137**

Die Struktur-Wirkungsbeziehungen für die weiteren Rezeptorsubtypen zeigten, dass die oben genannten Modifikationen für den $\alpha 3\beta 4^*$ - und den $\alpha 7^*$ -Subtyp weitgehend dieselben Effekte erzeugten, wie am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, d. h. dass z. B. die Einführung von Substituenten am sekundären Stickstoff die Affinität für den $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor verringerte und die Einführung von Substituenten in die 3-Position des Pyridonrings eine Erhöhung der Affinität zur Folge hatte. Der bioisostere Sauerstoff-Schwefel-Austausch der Carbonylverbindung von Cytisin **34** wurde jedoch am $\alpha 7^*$ -Rezeptor sehr schlecht toleriert, was zu einer hohen $\alpha 4\beta 2^*$ - vs. $\alpha 7^*$ -Selektivität von Thiocytisin **136** führte.

Auch am muskulären Subtyp $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$ reduzierten diese Modifikationen die Affinität. Jedoch erzeugte die Einführung von Halogenatomen in die 3-Position des Pyridonrings auch am

muskulären Subtyp eine Erhöhung der Affinität (**125**: $K_i = 1332 \text{ nM}$, **126**: $K_i = 627 \text{ nM}$, **127**: $K_i = 413 \text{ nM}$).

4.3 Cytisin und Depressionen

Depressionen sind eine Form von affektiven Störungen, die vorwiegend die Gefühls-, Stimmungs- und Antriebslage betreffen. Die Symptome können Freud-, Hoffnungs-, Appetit- und Schlaflosigkeit umfassen und häufig äußert sich eine Depression auch in körperlichen Symptomen, wie z. B. Abgeschlagenheit oder unspezifischen Schmerzen in Brust- und Oberbauchbereich.³⁶⁷ Als Ursache vermutet man ein Ungleichgewicht an Neurotransmittern, wie Serotonin und Noradrenalin, in bestimmten Hirnregionen. Zur Therapie stehen derzeit Arzneistoffe zur Verfügung, die den Stoffwechsel dieser Neurotransmitter v. a. durch Blockade der Wiederaufnahme von Serotonin und Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt beeinflussen. Daneben besitzen v. a. die älteren tri- und tetracyclischen Antidepressiva antagonistische Wirkung an weiteren Neurorezeptoren, wie den histaminergen, muscarinergen und adrenergen Rezeptoren.⁴⁷⁹

Wie bereits in Kapitel 1.2 erwähnt, gibt es einen erhöhten Anteil an Rauchern unter Patienten mit starken Depressionen, was als eine Art Eigetherapie verstanden wird.⁸² Weiterhin kann die transdermale Applikation von Nicotin **17** bei Nichtrauchern die Symptome einer Depression reduzieren.⁸⁶ Dabei wirkt Nicotin **17** agonistisch auf $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren, führt jedoch bei einer andauernden Exposition zur Desensibilisierung dieser Rezeptoren. Im Ergebnis stellt Nicotin **17** daher einen funktionellen Antagonisten dar.⁴⁸⁰⁻⁴⁸² Mecamylamin **39**, ein nicht-selektiver allosterischer Antagonist, reduziert ebenfalls Symptome einer Depression von Patienten mit Tourette-Syndrom^{483, 484} und besitzt antidepressive Eigenschaften in Tiermodellen zu antidepressiven Verhalten.^{485, 486} Darüber hinaus konnte durch Versuche mit $\beta 2$ -Knock-out-Mäusen gezeigt werden, dass die $\beta 2$ -enthaltenden Rezeptoren an der antidepressiven Wirkung von Mecamylamin **39** und Amitriptylin, einem tricyclischen Antidepressivum, beteiligt sind, da sie in den $\beta 2$ -Knock-out-Mäusen keine antidepressive Wirkung mehr zeigten.^{485, 486} Dies führte zu der Hypothese, dass eine Blockierung von $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren, durch funktionellen Antagonismus oder Rezeptordesensibilisierung, vermutlich für die antidepressiven Eigenschaften des Nicotins **17** verantwortlich sein könnte.

Cytisin **34** ist ein partieller Agonist an $\beta 2$ -enthaltenden Subtypen und ein voller Agonist ein $\beta 4$ -enthaltenden Subtypen.³²⁷ Es konnte gezeigt werden, dass auch Cytisin **34** antidepressive Eigenschaften in Tiermodellen besitzt.⁸⁷ Die agonistischen Eigenschaften und die hohe Wirkstärke des Cytisins **34** an $\beta 4$ -enthaltenden Rezeptoren ist vermutlich für dessen Nebenwirkungen und Toxizität verantwortlich.^{324, 328, 464} Aus diesen Gründen erschien es interessant zu

sein, Cytisin-Derivate mit gegenüber der Leitsubstanz unterschiedlichen Subtypselektivitäten auf ihre funktionellen Eigenschaften und in Tiermodellen zu untersuchen.

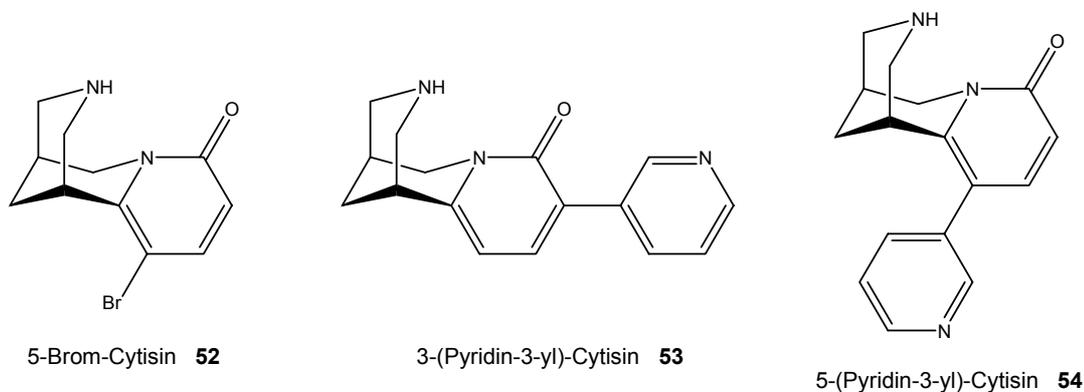


Abb. 4.8: Cytisin-Derivate **52**, **53** und **54** für funktionelle Studien und Tierversuche

In Radioligand-Bindungsstudien zeigte 5-Brom-Cytisin **52** folgende Affinitäten für die nAChR-Subtypen ($K_i = \alpha 4\beta 2^*$: 0.308 nM, $\alpha 7^*$: 28 nM, $\alpha 3\beta 4^*$: 5 nM, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$: 14900 nM). Für Cytisin **34** sind dagegen folgende K_i -Werte bekannt ($K_i = \alpha 4\beta 2^*$: 0.124 nM, $\alpha 7^*$: 250 nM, $\alpha 3\beta 4^*$: 18 nM, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$: 1300 nM).⁴⁶⁷ Während sich die Affinität von 5-Brom-Cytisin **52** zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor verringerte, verglichen mit Cytisin **34**, war seine Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Subtyp erhöht. Das 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** hingegen besaß eine geringere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 0.91$ nM), verglichen mit Cytisin **34**, war jedoch selektiv für diesen Subtyp ($\alpha 7^*$: > 10 μ M, $\alpha 3\beta 4^*$: 119 nM, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$: > 10 μ M). Auch 5-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **54** besaß eine geringere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor und eine Selektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = \alpha 4\beta 2^*$: 10.9 nM, $\alpha 7^*$: > 10 μ M, $\alpha 3\beta 4^*$: 4300 nM, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$: > 10 μ M).

4.4 Isolierung von (-)-Cytisin **34**

Cytisin **34** kann leicht aus dem Goldregenstrauch *Laburnum anagyroides* (Fabaceae) isoliert werden.^{319, 487-489} Er ist in Mittel- und Südosteuropa weit verbreitet und wird hierzulande gerne als Zierstrauch in Vorgärten angepflanzt. Cytisin **34** kommt dabei in allen Pflanzenteilen vor, die höchsten Konzentrationen findet man jedoch in den reifen Samen.⁴⁸⁸ Um das Alkaloid zu isolieren, werden verschiedene Extraktionsmethoden benutzt. Die meisten beruhen dabei auf einer alkalischen Extraktion. Nach einem ersten alkalischen Extraktionsschritt folgt ein zweiter unter sauren Bedingungen. In einem dritten Schritt wird das Alkaloid erneut alkalisch ausgeschüttelt. Abschließend wird das gewonnene Cytisin **34** entweder umkristallisiert und säulenchromatographisch aufgereinigt.^{319, 487, 489} Die berichteten Ausbeuten variieren zwischen 0.1 und 1.8 %^{319, 487, 489} und man geht davon aus, dass diese unterschiedlichen Ausbeuten zum größten Teil vom Alter und vom Standort der Pflanze abhängen und nicht von der Extraktionsmethode.

Als Ausgangsstoff für die eigenen Synthesen wurde (-)-Cytisin **34** aus Goldregensamen und -hülsen isoliert. Die reifen Samen mitsamt den Hülsen wurden im Zeitraum September bis November in der Umgebung von Bonn gesammelt. Das getrocknete Pflanzenmaterial wurde zunächst mit einer Schlagmühle zu einem feinen Pulver zermahlen und anschließend, wie in der Literatur vorgeschlagen, mit PE entfettet und abschließend wieder getrocknet.⁴⁸⁸

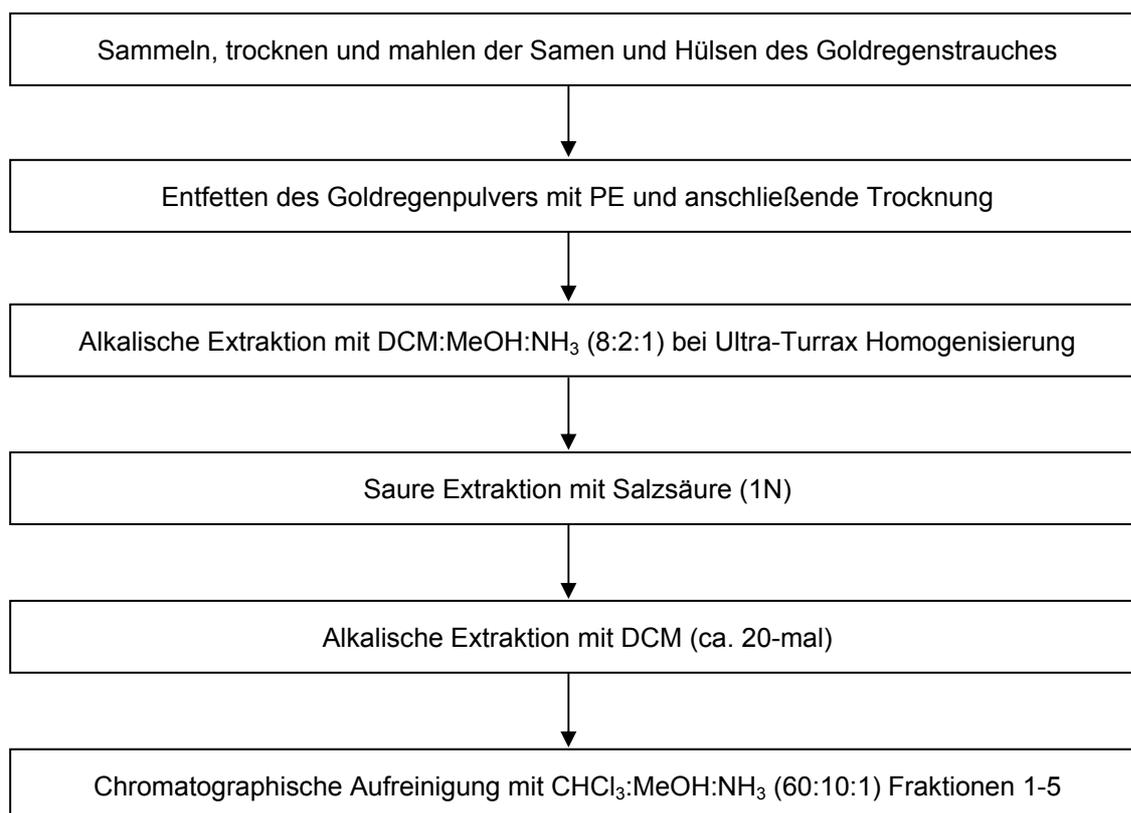


Abb. 4.9: Fließschema für die Extraktion von (-)-Cytisin **34** aus Goldregensamen und -hülsen

Zur Extraktion des Cytisins **34** aus Goldregen wurde ein in unserer Arbeitsgruppe bereits angewendetes Verfahren benutzt, jedoch an einigen Stellen verändert.³²⁰ Das entfettete Goldregenpulver wurde mit einem Ultra-Turrax® in einem Gemisch aus DCM, MeOH und Ammoniak zerkleinert. Nach der Filtration wurde der Extrakt eingeeengt und anschließend im Säuren ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wurde erneut alkalisiert und mindestens zwanzigmal mit DCM ausgeschüttelt. Dabei wurden die ersten 5 Fraktionen getrennt gesammelt und chromatographisch aufgereinigt, während das Cytisin **34** der weiteren Fraktionen ohne diesen zusätzlichen Schritt in sehr reiner Form erhalten wurden. So konnte Cytisin **34** mit Ausbeuten von 0.49 bis 0.99 % gewonnen werden. Es ist anzunehmen, dass die Schwankungen der Ausbeuten auf einen unterschiedlichen Cytisingehalt der Pflanzen zurückzuführen sind, da das Pflanzenmaterial von Pflanzen unterschiedlicher Standorte stammte.

4.5 Synthese von N-*t*Boc-Cytisin 138

Die freie Aminogruppe des Cytisins **34** stellt ein starkes Nucleophil dar und muss vor den weiteren Synthesen zur Vermeidung von Nebenreaktionen geschützt werden. Als geeignete Schutzgruppen für Cytisin **34** haben sich die Nitroso- und die Acetylgruppe sowie die Methylcarbamatgruppe bewährt.⁴⁸⁹ Dabei wird durch Elektronen ziehende Substituenten die Elektronendichte am Stickstoff und damit seine Nucleophilie herabgesetzt. Die sterische Hinderung ist ein weiterer Effekt, der bei der Verwendung vieler Schutzgruppen eine Rolle spielt.³⁹⁴ Im Zusammenhang mit Halogenierungsreaktionen am Pyridonring des Cytisins **34** konnte jedoch gezeigt werden, dass die Einführung einer Schutzgruppe am freien Stickstoff des Cytisins **34** nicht immer und für alle Reaktionen zwingend erforderlich ist.²⁵⁷

Eine sehr häufig benutzte Schutzgruppe für Amine stellt die *t*Boc-Schutzgruppe dar. Sie wurde 1957 von *McKay* eingeführt und wird häufig in der Peptidchemie zum Schutz von α -Aminosäuregruppen verwendet.⁴⁹⁰ Sie ist im basischem Milieu stabil und lässt sich leicht durch Di-*tert*-butyldicarbonat ((Boc)₂O) in verschiedenen Lösungsmittel, z. B. Wasser, MeOH, DMF, EtOH, Aceton oder Acetonitril, und in Anwesenheit einer Base, wie NaOH, TEA, NaHCO₃, Tetramethylammoniumhydroxid, einführen. Die Abspaltung gelingt meist problemlos im sauren Milieu, z. B. durch die Verwendung von HCl in 1,4-Dioxan oder Et₂O.³⁹⁴

Für die eigenen Synthesen wurde auf ein etabliertes Verfahren aus unserer Arbeitsgruppe zurückgegriffen.³²⁰ Die *t*Boc-Schutzgruppe wurde dabei durch die Verwendung von Di-*tert*-butyldicarbonat ((Boc)₂O) und unter Verwendung von Na₂CO₃ als Base eingeführt. Die Reaktion wurde in einem Gemisch aus DCM und Wasser für 2 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktion wurde mit Hilfe einer DC kontrolliert und nach 2 Stunden war die Umsetzung vollständig. Nach der Trennung der beiden Phasen wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt chromatographisch aufgereinigt. Man erhielt N-*t*Boc-Cytisin **138** mit Ausbeuten in Höhe von 50-88 % Ausbeute an.

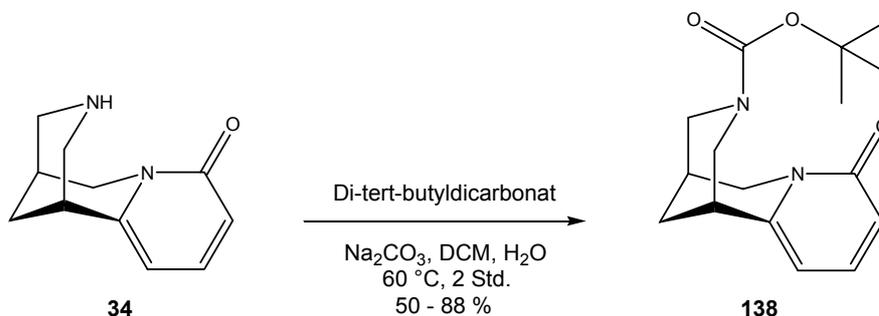


Abb. 4.10: Synthese von N-*t*Boc-Cytisin **138** mit (Boc)₂O, Na₂CO₃, DCM und Wasser

Weiterhin ist ein neues Verfahren zur Einführung der *t*Boc-Schutzgruppe ausprobiert und etabliert worden, welches ebenfalls Di-*tert*-butyldicarbonat als Reagenz nutzt. Dieses Verfahren kommt prinzipiell ohne Lösungsmittel und Base aus und nutzt dagegen Iod als Katalysator. Die

84 | Projekt II: Synthese von Cytisin-Derivaten

Reaktion findet bei RT statt und es können zur besseren Reaktionsführung verschiedene Lösungsmittel, z. B. MeOH, Aceton, THF oder ACN, dazugegeben werden.⁴⁹¹

Bei der Verwendung dieses Verfahrens zum Einführen der *t*Boc-Schutzgruppe an den sekundären Stickstoff des Cytisins **34**, wurde MeOH als Lösungsmittel verwendet. Da sowohl Cytisin **34** als auch N-*t*Boc-Cytisin **138** bei RT Feststoffe sind, wurde die Reaktion in Lösung durchgeführt, da Ausbeuteverluste befürchtet wurden. Die Reaktion wurde mit Hilfe einer DC kontrolliert und war nach 2 Stunden beendet. Anschließend, wässrige Aufarbeitung mit Natriumthiosulfat- und Natriumhydrogencarbonatlösung lieferte N-*t*Boc-Cytisin **138** als weißes Pulver, das nach säulenchromatographischer Aufreinigung auf Kieselgel mit 92 % Ausbeute erhalten wurde. Aufgrund der hohen Ausbeute zeigte sich, dass auf eine chromatographische Aufreinigung verzichtet werden kann und die wässrige Aufarbeitung nach der Reaktion ausreichend ist. Diese Reaktion stellt eine sinnvolle Alternative zur Einführung der *t*Boc-Schutzgruppe in das Cytisinmolekül dar und ist dank hoher Ausbeuten und milder Reaktionsbedingungen dem oben beschriebenen Verfahren überlegen.

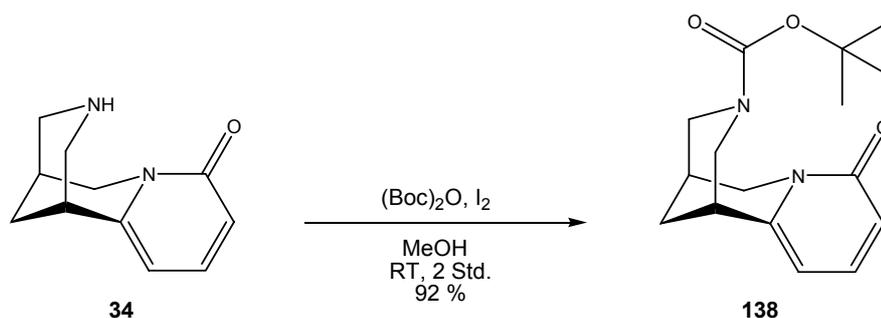


Abb. 4.11: Synthese von N-*t*Boc-Cytisin **138** mit (Boc)₂O, I₂ in MeOH

4.6 Bromierung von N-*t*Boc-Cytisin

Um aromatische oder heteroaromatische Substituenten am 2-Pyridonring des N-*t*Boc-Cytisins einführen zu können, ist es nötig, dass sich an dieser Stelle des Moleküls eine Abgangsgruppe befindet. *t*Boc-geschützte Bromderivate des Cytisins **139** und **140** stellen wertvolle Zwischenprodukte für die Suzuki-Miyaura Kreuzkupplungsreaktion darstellen, die zur Synthese von 3- oder 5-substituierten Cytisin-Derivaten genutzt werden kann.³²⁰

Diese Bromierungsreaktion wurde unter den beschriebenen Bedingungen mit N-Bromsuccinimid (NBS) in DCM durchgeführt und lieferte die zwei erwarteten Produkte 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** in 55.4 bis 66.4 % Ausbeute und 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** in 32.1 bis 41.9 % Ausbeute (s. Abb. 4.12). Daneben entstand eine zu vernachlässigenden Menge an 3,5-

Dibrom-N-*t*Boc-Cytisin. Die Gesamtausbeute dieser Reaktion betrug zwischen 90.2 % und 99.6 %. Und man konnte sie sowohl in einem 1 g-Maßstab als auch in einem 4 g-Maßstab durchführen, wobei größere Ansätze das Verhältnis der Ausbeuten von 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** und 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** leicht zugunsten des 3-Brom-Derivates **139** verschoben.

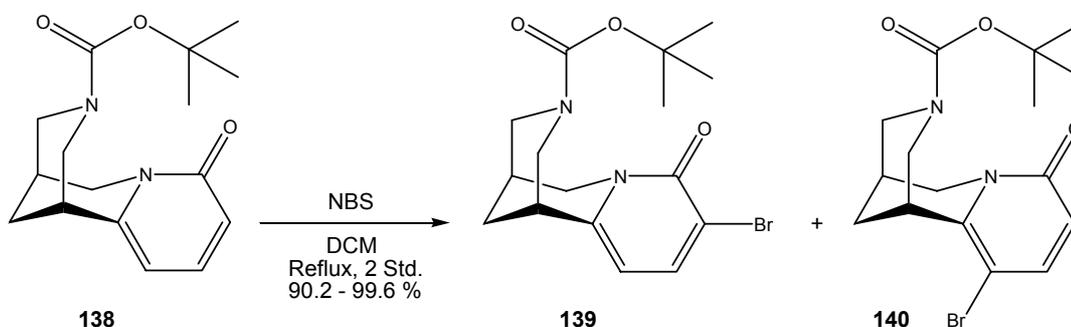


Abb. 4.12: Bromierung von N-*t*Boc-Cytisin **138** mit NBS in DCM

In der beschriebenen Synthese unserer Arbeitsgruppe wurden die zwei bromierten N-*t*Boc-Cytisin-Derivate **139** und **140** mit Hilfe der HPLC und einem Wasser-Methanol-Gradienten von einander getrennt.³²⁰ Die HPLC ist eine sehr leistungsfähige Trenn- und Aufreinigungsmethode, sie ist jedoch auch sehr zeit- und kostenintensiv. Nachdem gezeigt werden konnte, dass die Synthese der bromierten N-*t*Boc-Cytisin-Derivate **139** und **140** auch in größerem Maßstab ohne Ausbeuteverluste durchführbar war, wurde nach einer effizienteren Methode zur Auftrennung der beiden Isomere **139** und **140** gesucht. Durch den Einsatz einer Säulenchromatographie auf Kieselgel und mit einem Lösungsmittelgemisch aus DCM, Aceton und MeOH (84:15:1) als Elutionsmittel wurde eine Methode etabliert, die es erlaubte, auch größere Mengen der bromierten N-*t*Boc-Cytisin-Derivate **139** und **140** voneinander zu trennen. Die R_f -Werte der Isomere **139** und **140** lagen dabei ausreichend weit voneinander entfernt und die beiden Produkte wurden auch in großen Ansätzen von bis zu 6 g sauber voneinander getrennt. Zusammen mit den vorangegangenen Syntheseschritten und der Möglichkeit, auch diese in größeren Maßstäben durchführen zu können, ist es gelungen, die Synthese der bromierten N-*t*Boc-Cytisin-Derivate **139** und **140** sehr effizient zu gestalten und größere Mengen dieser Zwischenprodukte zur Verfügung zu stellen.

4.7 Synthese mit Mikrowellenstrahlung

Die Mikrowellentechnologie wird etwa seit dem zweiten Weltkrieg erforscht und wurde als Haushaltsgerät zum Erwärmen von Speisen bereits 1946 eingeführt. Ihren Durchbruch hatte sie aber erst in den 1950er Jahren.⁴⁹² In der Chemischen Forschung und Analytik wurde sie in den darauf folgenden Jahrzehnten hauptsächlich zum Trocknen, Extrahieren und Veraschen von Flüssigkeiten bzw. Feststoffen genutzt.⁴⁹³ 1986 wurden zwei Veröffentlichungen zum Thema

Erhitzen von chemischen Reaktionen mit Mikrowellenstrahlung publiziert.^{494, 495} Beide Arbeitsgruppen berichteten von z. T. erheblicher Reduzierung der Reaktionszeit und gleichzeitiger Erhöhung der Ausbeuten. Seit dieser Zeit wächst das Interesse und die Zahl der jährlich veröffentlichten Publikationen zu diesem Thema fast stetig.⁴⁹⁶ Diese Entwicklung wurde begleitet von einer Reihe von Erfindungen, die die Mikrowellensynthesen heute zu einer sehr schnellen, sicheren und sauberen Technologie machen. Die ersten Mikrowellensynthesen wurden noch in Haushaltsmikrowellengeräten durchgeführt und besaßen noch keine Kontrollmöglichkeit für Temperatur und Druck. Sie lieferten deshalb z. T. wenig reproduzierbare Ergebnisse. Dagegen können mit modernen Mikrowellenreaktoren, die speziell auf die Anforderungen in Syntheselaboren ausgerichtet sind, diese Parameter meist während der gesamten Reaktion kontrolliert werden. Des Weiteren sind moderne Mikrowellenreaktoren mit Sicherheitsfunktionen ausgestattet, die ein ungefährliches Arbeiten auch mit größeren Mengen an brennbaren oder korrosiven Substanzen gewährleisten.⁴⁹⁷

Mikrowellenstrahlung ist elektromagnetische Strahlung mit einer Frequenz im Bereich von 0.3 und 300 GHz bzw. einer Wellenlänge zwischen 1 mm und 1 Meter. Für die chemische Synthese wurde dabei die Frequenz von 2.45 GHz festgesetzt, um Interferenzen mit Radiowellen zu vermeiden und weil diese Frequenz ein effektives Erhitzen in verschiedenen Lösungsmitteln ermöglicht.^{498, 499} Die Energie von Mikrowellenphotonen reicht dabei nicht aus, um chemische Bindungen zu spalten, sondern sie bewirkt ein Erhitzen des Reaktionsansatzes „von innen“ (s. Abb. 4.13), indem sie die Moleküle durch dipolare Polarisation und Ionenleitung in Bewegung versetzt. Die Moleküle versuchen sich in dem sich ständig wechselnden elektromagnetischen Feld auszurichten und erzeugen dabei Wärme durch Reibung der Moleküle und Dielektrizitätsverlust.⁴⁹⁷

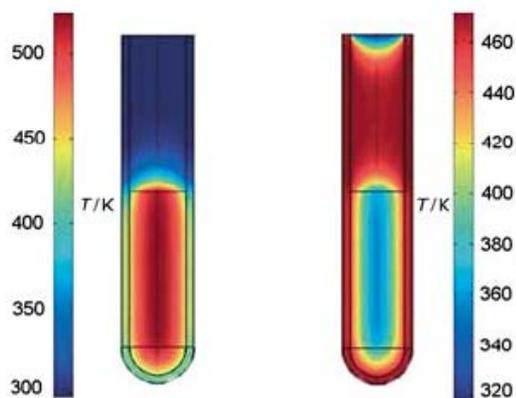


Abb. 4.13: Temperaturprofile von Mikrowellensynthesen (links) und Ölbad erwärmung (rechts)⁴⁹⁷

Bei gegebener Temperatur und Frequenz beschreibt der Verlustfaktor $\tan \delta$ die Fähigkeit einer Verbindung die elektromagnetische Energie in Wärme umzuwandeln. Ausdrücken lässt sich der Verlustfaktor als Quotient

$$\tan \delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad (4.1)$$

aus dem Dielektrizitätsverlust ϵ'' und der Dielektrizitätskonstante ϵ' . Dabei beschreibt ϵ'' die Effizienz der Umwandlung von elektrischer Strahlung in Wärme und ϵ' die Polarisierbarkeit der Verbindung im elektrischen Feld. Damit lässt sich die Aufheizcharakteristik bestimmter Stoffe verdeutlichen. Ist $\tan \delta$ groß, so kommt es durch eine effiziente Absorption der Mikrowellenstrahlung zu einem raschen Aufheizen der Verbindung. Ist $\tan \delta$ klein, so kann die Mikrowellenstrahlung nur sehr ineffizient in Wärme umgewandelt werden und die Reaktion heizt sich nur langsam auf.⁴⁹⁹ Tabelle 4.2 zeigt eine Zusammenstellung der Verlustfaktoren von häufig benutzten organischen Lösungsmitteln. Diese lassen sich dabei in drei Gruppen einteilen: starke Mikrowellenabsorber ($\tan \delta > 0.5$), mittelstarke Mikrowellenabsorber ($\tan \delta 0.1-0.5$) und schwache Mikrowellenabsorber ($\tan \delta < 0.1$).

Tab. 4.2: Dielektrische Verlustfaktoren ($\tan \delta$) für verschiedene organische Lösungsmittel*

Lösungsmittel	$\tan \delta$	Lösungsmittel	$\tan \delta$
Ethylenglykol	1.350	DMF	0.161
Ethanol	0.941	1,2-Dichlorethan	0.127
DMSO	0.825	Wasser	0.123
2-Propanol	0.799	Chlorbenzen	0.101
Ameisensäure	0.722	Chloroform	0.091
Methanol	0.659	Acetonitril	0.062
Nitrobenzen	0.589	EtOAc	0.059
1-Butanol	0.571	Aceton	0.054
2-Butanol	0.447	THF	0.047
1,2-Dichlorbenzen	0.280	DCM	0.042
NMP	0.275	Toluen	0.040
Essigsäure	0.174	Hexan	0.020

* Daten aus Lit.⁴⁹⁸ (2.45 GHz, 20 °C)

Die z. T. großen Ausbeuteunterschiede bei ähnlichen Reaktionstemperaturen aber z. T. erheblich kürzeren Reaktionszeiten, führt seit einiger Zeit zu Diskussionen über die Existenz spezieller Mikrowelleneffekte, die über die thermischen Effekte hinausgehen.^{496, 500} Diese sind z. B. die so genannten Überhitzungseffekte⁵⁰¹ oder die selektive Erhitzung von stark absorbierenden Oberflächen heterogener Katalysatoren oder Reagenzien.^{502, 503} So können bei atmosphärischen Bedingungen durch die so genannten Überhitzungseffekte in Lösungsmitteln Zonen entstehen, in denen die Temperatur weit über dem Siedepunkt liegt, obwohl die gesamte Lösung nicht siedet. Diese Phänomene können mit konventionellem Erhitzen nicht erreicht werden und könnten eine Erklärung für die effizientere Reaktionsführung mit Mikrowellenstrahlung sein.

Die Synthese mit Mikrowellenstrahlung hat viele Vorteile. Mit ihr kann man i. d. R. eine Reaktion schneller, sauberer und einfacher durchführen als mit konventionellen Methoden. Gerade im Bereich Leitstrukturfindung und -optimierung, wo viele Reaktionen möglichst schnell und gleichzeitig neue Verbindungen liefern sollen, wird zunehmend auf dieses effiziente Syntheseverfahren zurückgegriffen.^{504, 505} Es scheint so zu sein, dass alle Reaktionen, die unter konventionellen Bedingungen durchführbar sind, sich auch mit Mikrowellenstrahlung durchführen lassen.⁵⁰⁶

Genutzt wurde die Mikrowellensynthese in der nachfolgenden Suzuki-Miyaura-Reaktion (s. Kap. 4.6) sowie zur thermischen Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe von substituierten *t*Boc-geschützten Cytisin-Derivaten (s. Kap. 4.7). Sowohl für die Suzuki-Miyaura-Reaktion⁵⁰⁷⁻⁵¹⁶ als auch für die Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe^{432-434, 517-521} gibt es zahlreiche Beispiele in der Literatur, die für diese Reaktionsschritte erfolgreich die Mikrowellenstrahlung eingesetzt haben.

4.8 Suzuki-Miyaura-Reaktion

Die Suzuki-Miyaura-Reaktion ist eine palladiumkatalysierte Kreuz-Kupplungsreaktion, bei der in Gegenwart einer Base, organische Halogenverbindungen und Boronsäuren unter Knüpfung einer neuen Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung miteinander reagieren.⁵²² Sie wurde Ende der 1970er Jahre von Suzuki und Miyaura entwickelt^{523, 524} und gehört zur Klasse der so genannten Kreuz-Kupplungsreaktionen, zu denen ebenfalls die Grignard-⁵²⁵, die Stille-⁵²⁶, die Hiyama-⁵²⁷ und die Sonogashira-Reaktion^{528, 529} gehören. Unter ihnen bildet die Suzuki-Miyaura eine der leistungsstärksten Reaktionen, u. a. wegen der Unempfindlichkeit gegen Wasser und der geringen Toxizität und relativ guten Stabilität der Boronsäure-Edukte.^{530, 531}

Man kann sich heute den Mechanismus der Suzuki-Miyaura Reaktion über einen katalytischen Kreislauf erklären, der eine oxidative Addition, eine Transmetallierung und eine reduktive

Eliminierung beinhaltet. Dabei reagiert der aktive Palladium(0)-Katalysator in einem ersten Schritt, der oxidativen Addition, mit dem Elektrophil, z. B. einem organischen Halogenid, unter gleichzeitiger Oxidation zu einem Komplex, in dem das Palladium in der Oxidationsstufe +2 vorliegt. Anschließend findet eine so genannte Transmetallierung statt, unter Reaktion der Boronsäure mit dem Palladium(+2)-Komplex und unter Abspaltung des Halogenids und Anlagerung des von der Boronsäure gelieferten organischen Restes an den Palladium(+2)-Komplex. Der letzte Schritt, die reduktive Eliminierung liefert das neue kreuzgekuppelte Produkt und den zur Palladium(0)-Spezies reduzierten Katalysator.

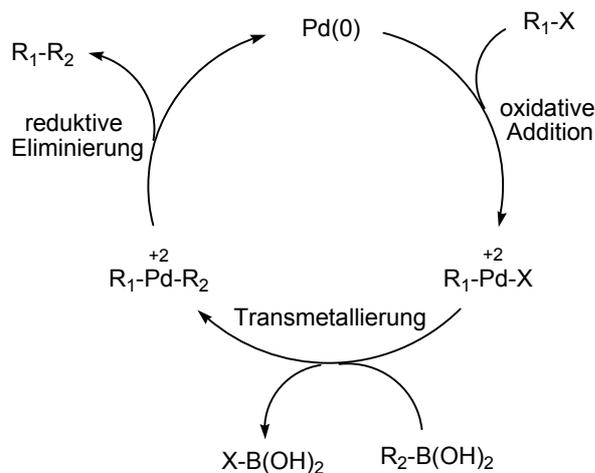


Abb. 4.14: Katalytischer Kreislauf der Suzuki-Miyaura Kreuzkupplung

Von großer Bedeutung für die Suzuki-Miyaura Reaktion ist die Anwesenheit einer Base, da sie die geringe Nukleophilie der Boronsäuren erhöht. Die Boronsäuren reagieren als schwache Lewis-Säuren und werden durch die Anlagerung einer Base in einen negativ geladenen Komplex mit erhöhter Nukleophilie überführt. Dadurch gelingt die Anlagerung an den R₁-Pd-X Komplex einfacher.⁵²⁵ Nach der Transmetallierung entsteht zunächst ein trans-Komplex der Spezies R₁-Pd-R₂, der durch Isomerisierung in den entsprechenden cis-Komplex übergehen kann und anschließend in einer reduktiven Eliminierung das Produkt R₁-R₂ und den Palladium-Katalysator in reduzierter Form wieder freisetzt.⁵²²

Der am häufigsten benutzte Katalysator für die Suzuki-Miyaura Reaktion ist Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (0) [Pd(PPh₃)₄]. Dieser muss jedoch unter einer Schutzgasatmosphäre und unter 0 °C gelagert werden, weil er instabil ist.⁵³² Seltener wird PdCl₂(PPh)₂ als Katalysator in Suzuki-Miyaura Reaktionen eingesetzt. Dieser Katalysator wird dann in situ zur aktiven Palladium(0)-Spezies reduziert.⁵³³ Alternativ werden häufig ligandfreie Palladiumkatalysatoren, wie z. B. [Pd(dba)₂] oder Pd(OAc)₂ zusammen mit Phosphinliganden eingesetzt, die wiederum in situ die aktiven Palladium-Spezies bilden.⁵²⁵

Auch die Wahl der „richtigen“ Base spielt eine erhebliche Rolle bei dieser Reaktion, wobei Na_2CO_3 oft eine gute und ausreichende Wahl darstellt. Stärkere Basen scheinen dabei prinzipiell eine höhere Reaktivität zu besitzen. Für stärkere Basen, wie z. B. NaOH oder TIOH , sind THF-Wasser-Mischungen ein geeignetes Lösungsmittel, wohingegen schwächere Basen wie K_2CO_3 oder K_3PO_4 sehr gut in DMF als Lösungsmittel reagieren.⁵³⁴

Die Durchführung der Kreuz-Kupplungsreaktion wurde prinzipiell nach den beschriebenen Verfahren unserer Arbeitsgruppe durchgeführt.³²⁰ Dabei wurden die Synthesen der zwei Cytisin-Derivate 3-(Pyridin-3-yl)-N-tBoc-Cytisin **141** und 5-(Pyridin-3-yl)-N-tBoc-Cytisin **142** mit Hilfe der Suzuki-Miyaura Kreuzkupplung in einem 0.3 mmol Maßstab in der Mikrowelle durchgeführt. Die Reaktionsbedingungen wurden hinsichtlich der eingesetzten Base und des Lösungsmittels, sowie der Reaktionsdauer und der Reaktionstemperatur optimiert. Die Menge an 3-Brom-N-tBoc-Cytisin **139** (100 mg), 3-Pyridinboronsäure (55 mg), Palladiumkatalysator $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (31 mg) und Base (1.5 Äquivalente) wurde nicht verändert.

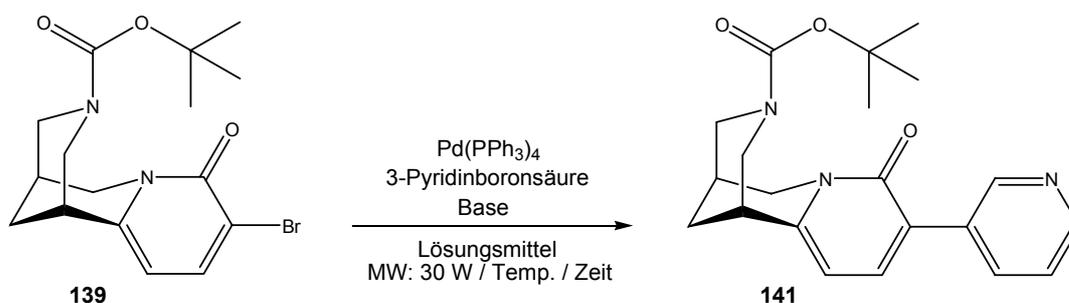


Abb. 4.15: Suzuki-Miyaura Reaktion mit 3-Brom-N-tBoc-Cytisin **139** und 3-Pyridinboronsäure

Tab. 4.3: Optimierung der Reaktion von 3-Brom-N-tBoc-Cytisin **139** mit 3-Pyridinboronsäure

Ansatz	Lösungsmittel	Base	Temperatur	Zeit	Ausbeute
*	DME:H ₂ O	K ₃ PO ₄	80 °C	60 Min.	66 %
1	DMF:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	90 °C	120 Min.	50.7 %
2	DMF:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	90 °C	120 Min.	68.3 %
3	DMF:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	90 °C	120 Min.	47.5 %
4	DME:H ₂ O (3:1)	K ₃ PO ₄	80 °C	90 Min.	54.9 %
5	DME:H ₂ O (3:1)	K ₃ PO ₄	90 °C	120 Min.	55.5 %

* Literaturbedingungen und -ausbeute³²⁰

Es konnte festgestellt werden, dass sich die Reaktion von 3-Brom-N-tBoc-Cytisin **139** mit 3-Pyridinboronsäure durch den Wechsel von Base und Lösungsmittel oder durch die Erhöhung von Reaktionszeit und -temperatur nicht verbessern ließ. Außer bei der Verwendung von

Ba(OH)₂ als Base in einer DMF-Wasser-Mischung und bei einer Reaktionszeit von 120 Minuten bei 90 °C, lagen die Ausbeuten stets unter denen der Literatur.³²⁰

Auch für die Reaktion von 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** wurde eine Optimierung der Reaktionsbedingungen durchgeführt. Auch hierbei wurde ein 0.3 mmol Ansatz gewählt und es wurden folgende Edukte verwendet: 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** (100 mg), 3-Pyridinboronsäure (55 mg), Palladiumkatalysator Pd(PPh₃)₄ (31 mg) und Ba(OH)₂ als Base (1.5 Äquivalente). Die Optimierung wurde für die Wahl des Lösungsmittels sowie die Reaktionszeit und Reaktions-temperatur durchgeführt.

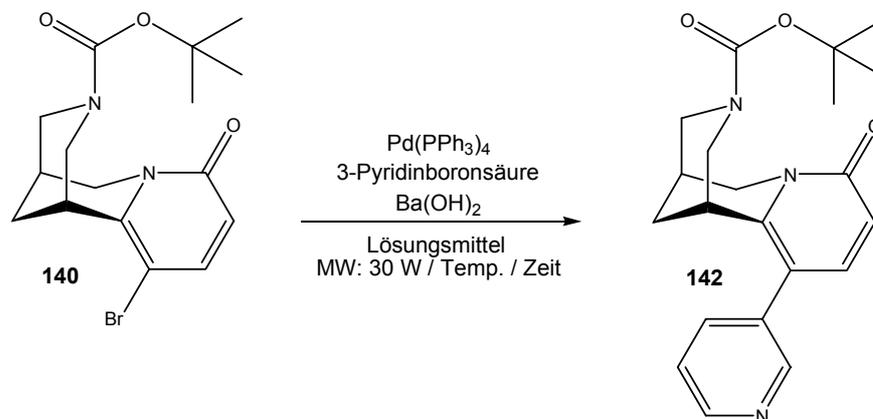


Abb. 4.16: Suzuki-Miyaura Reaktion mit 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** und 3-Pyridinboronsäure

Tab. 4.4: Optimierung der Reaktion von 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** mit 3-Pyridinboronsäure

Ansatz	Lösungsmittel	Base (1.5 Äq.)	Temperatur	Zeit	Ausbeute
*	DMF:H ₂ O	Ba(OH) ₂	80 °C	90 Min.	32 %
1	DME:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	80 °C	90 Min.	29.4 %
2	DMF:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	80 °C	90 Min.	36.3 %
3	DMF:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	80 °C	90 Min.	55.2 %
4	DMF:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	90 °C	90 Min.	58.7 %
5	DMF:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	90 °C	120 Min.	71.6 %
6	DME:H ₂ O (3:1)	Ba(OH) ₂	90 °C	120 Min.	73.4 %

* Literaturbedingungen und -ausbeute³²⁰

Bei der Reaktion von 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** mit 3-Pyridinboronsäure führte der Wechsel des Lösungsmittels, eine Erhöhung der Reaktionstemperatur und eine Verlängerung der Reaktionszeit jedoch zu höheren Ausbeuten. Ein Wechsel des Lösungsmittels scheint dabei

jedoch keine entscheidende Rolle zu spielen, wie die Ausbeuten von Ansatz 2 und 2 bzw. 5 und 6 zeigen (s. Tab. 4.4). Obwohl die Ausbeuten schwankten, wie man an den Ansätzen 2 und 3 erkennen kann, konnten durch die Erhöhung der Reaktionszeit und der Reaktionstemperatur deutlich höhere Ausbeuten erzielt werden (s. Tab. 4.4).

Die Aufarbeitung der beiden Produkte gelang durch eine Festphasenextraktion, die v. a. dem Zweck diente, den Palladiumkatalysator zu entfernen. Anschließend wurden die Produkte **141** und **142** mit der HPLC aufgereinigt. Es fiel jedoch nach der Aufreinigung mit der HPLC auf, dass sich in beiden Produkten noch geringe Spuren an Edukten (3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** bzw. 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140**) befanden. Da diese *t*Boc-entschützten Verbindungen (**52** und **126**) eine sehr hohe Affinität zum nAChR besitzen (s. Kap. 4.2), mussten sie unbedingt aus dem Produkt entfernt werden. Dafür wurde eine abschließende chromatographische Aufreinigung auf Kieselgel durchgeführt.

4.9 Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe

Wie bereits in Kapitel 3.3.5 erwähnt, kann die Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe auf verschiedenen Arten erfolgen. Am häufigsten wird sie in einem sauren Milieu durchgeführt, in welchem die Carbamatfunktion dieser Schutzgruppe nicht stabil ist und in Isobuten und Kohlendioxid zerfällt (s. Abb. 3.29). Daneben sind auch thermische Verfahren bekannt, um die *t*Boc-Schutzgruppe abzuspalten.

Für die Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe von *t*Boc-geschützten Cytisin-Derivaten konnte bereits gezeigt werden, dass eine thermische Abspaltung in Wasser bei etwa 150 °C in einem verschlossenen, druckfesten Reaktionsgefäß in der Mikrowelle erfolgreich war. Dabei wurde das *t*Boc-geschützte Cytisin-Derivat (bis zu 100 mg) zusammen mit Wasser (ca. 80 ml) für 30 Minuten in einem Mikrowellengefäß auf 150 °C erhitzt, wobei die sich *t*Boc-Schutzgruppe abspalten ließ. Nach dem Abkühlen konnte dann, ohne weitere Aufreinigung, die wässrige Lösung des *t*Boc-entschützten Cytisin-Derivates eingefroren und an der Gefriertrocknungsanlage lyophilisiert werden.³²⁰

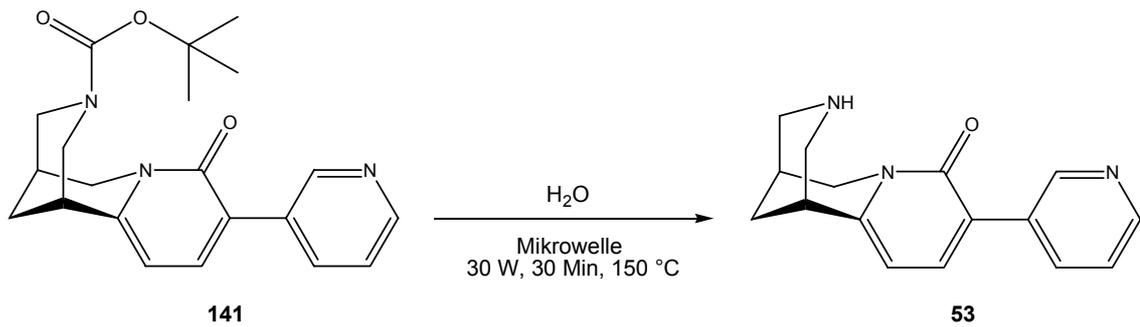


Abb. 4.17: Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe aus Verbindung **141** in Wasser in der Mikrowelle

Dieses Verfahren der Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe wurde auch bei den Cytisin-Derivaten **52** und **54** durchgeführt. Die Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe war vollständig und lieferte quantitativ die entsprechenden *t*Boc-entschützten Produkte **52**, **53** und **54** in hoher Reinheit von > 99 %. Die wässrige Lösung wurde eingefroren und für mindestens 24 Stunden lyophilisiert. Die Cytisin-Derivate waren weiße oder leicht gelbliche Feststoffe.

4.10 Zusammenfassung der Cytisin-Synthesen

Im Allgemeinen wurde die Synthesen der Cytisin-Derivate nach einem etablierten Verfahren unserer Arbeitsgruppe durchgeführt.³²⁰ Dabei konnten jedoch einige Schritte im Hinblick auf eine effizientere Reaktionsführung optimiert werden.

Die Isolierung von (-)-Cytisin **34** wurde im Wesentlichen nach dem etablierten Verfahren durchgeführt. Um das feste Pflanzenmaterial nach der alkalischen Extraktion von dem Lösungsmittelgemisch zu trennen, wurde eine Filtration statt einer Zentrifugation verwendet. Weiterhin wurde gezeigt, dass die abschließende alkalische Extraktion mit DCM (-)-Cytisin **34** in hoher Reinheit lieferte und nur die ersten fünf Fraktionen zusätzlich chromatographisch aufgereinigt werden müssen.

N-*t*Boc-Cytisin **138** wurde ebenfalls in guten Ausbeuten synthetisiert. Die Einführung der *t*Boc-Schutzgruppe konnte durch ein neues, alternatives Verfahren mit (Boc)₂O und I₂ als Katalysator etabliert werden, was eine sehr hohe Ausbeute lieferte. Das N-*t*Boc-Cytisin **138** wurde chromatographisch auf einer Kieselgelsäule aufgereinigt, was es erlaubte, gleichzeitig größere Mengen an Produkt zu erhalten. Eine Aufreinigung mittels HPLC war nicht erforderlich.

Die Bromierung von N-*t*Boc-Cytisin **138** brachte vergleichbare Ergebnisse, wie die bereits beschriebenen aus unserer Arbeitsgruppe.³²⁰ Die Aufreinigung konnte auf einer Normalphasen-Kieselgelsäule etabliert werden, was sie deutlich effizienter machte, im Vergleich zur Ver-

94 | Projekt II: Synthese von Cytisin-Derivaten

wendung der HPLC. Die Mischung von *t*Boc-geschützten Brom-Derivaten des Cytisins **139** und **140** ließ sich nun in größeren Mengen auf einer Kieselgelsäule aufreinigen. Dies bietet den Vorteil, die Zwischenprodukte **139** und **140** in größeren Mengen zur Verfügung stellen zu können.

Die Kreuzkupplungsreaktionen konnten im Vergleich zu den bereits beschriebenen optimiert werden.³²⁰ Durch die Erhöhung der Reaktionstemperatur und -zeit konnten im Falle der Reaktion von 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** mit 3-Pyridinboronsäure vergleichbare Ausbeuten erzielt werden, wohingegen die Ausbeute der Reaktion von 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** mit 3-Pyridinboronsäure durch eine Erhöhung der Reaktionszeit und -temperatur deutlich erhöht werden konnte.

Die thermische Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe in Wasser unter Mikrowellenstrahlung verlief quantitativ und ohne erkennbare Nebenreaktionen. Insgesamt wurde das Bereitstellen von Zwischenprodukten **139** und **140** verbessert und die Synthesen und Aufreinigungsschritte effizienter gestaltet.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Projekt I: Radioligand-Bindungsstudien und Struktur-Wirkungsbeziehungen neuer Bispidin-Derivate

Die in Kapitel 3 dargestellten Synthesen lieferten Bispidin-Derivate, die einen substituierten und einen unsubstituierten Stickstoff enthalten. Die Substituenten sind Alkyl-, Cycloalkyl-, Aryl-, Heteroaryl- oder Styrylreste, die wiederum unterschiedlich substituiert sein konnten. Sie sind durch einen Linker mit dem Bispidin-Grundgerüst verbunden, der entweder eine Carbonsäureamidbindung, eine Sulfonsäureamidbindung oder eine Harnstoffbrücke darstellt (s. Abb. 5.1).

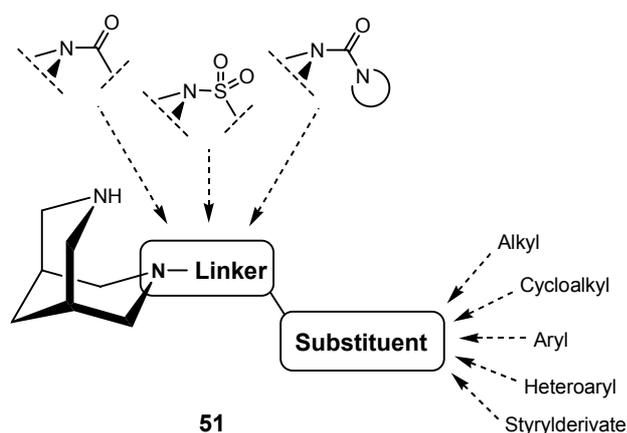


Abb. 5.1: Allgemeine Struktur **51** der Bispidin-Derivate mit Linkern und Substituenten

Im Rahmen von Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen wurden diese Bispidin-Derivate in Radioligand-Bindungsstudien (Kompetitionsexperimente) an vier verschiedenen nAChR-Subtypen getestet. Diese Experimente wurden mit Membranpräparationen aus nativem Gewebe durchgeführt. Dabei wurde für die Untersuchung der Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ - und zum $\alpha 7^*$ -Rezeptorsubtyp Rattenhirn eingesetzt. Für die Untersuchung am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptorsubtyp wurden Nebennieren des Schweins und für die Untersuchung am muskulären Subtyp wurde das elektrische Organ des Zitterrochen (*Torpedo californica* electroplax) verwendet. [3 H]Epibatidin wurde als Radioligand für den $\alpha 4\beta 2^*$ -, den $\alpha 3\beta 4^*$ - und den $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptorsubtyp benutzt. Für die Bestimmung der Affinität zum $\alpha 7^*$ -Rezeptorsubtyp kam [3 H]MLA zum Einsatz. Die Membranpräparationen und die Radioligand-Bindungsstudien wurden von Frau Julia Thomas (AK Gündisch) durchgeführt.

Mit Hilfe der K_i -Werte aus den Radioligand-Bindungsstudien lassen sich Rückschlüsse auf den Einfluss bestimmter Strukturmerkmale auf die Affinität und die Selektivität ziehen. Diese Aussagen betreffen die Interaktion (Affinität) dieser Substanzen mit dem Rezeptor, können jedoch die Frage zum funktionellen Verhalten nicht beantworten.

Das Bispidin-Grundgerüst kommt in dem Naturstoff Cytisin **34** bereits als Teilstruktur vor. Wie in Kapitel 3 dargelegt, lassen sich Bispidin-Derivate durch chemische Synthesen einfach herstellen. Ihr Grundgerüst ist jedoch flexibler als das von Cytisin-Derivaten. Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Bispidin-Derivate besitzen bereits zwei wichtige Strukturmerkmale für Liganden des nAChR – einen protonierbaren Stickstoff N^+ und ein **HBA/ π** -System (s. Kap. 1.4). Durch die Testung neuer Bispidinamid-Derivate **99** (s. Abb. 5.2) in Radioligand-Bindungsstudien wurde in erster Line untersucht, welchen Einfluss die Substituenten an der Carbonylgruppe auf die Affinität und die Selektivität zum nAChR besitzen. Durch den Vergleich der Bindungsdaten ergaben sich Hinweise, wie sich die induktiven, mesomeren oder sterischen Effekte der Substituenten auf die Interaktion mit den verschiedenen nAChR-Subtypen auswirken. Diese Subtypen waren der $\alpha 4\beta 2^*$ -, der $\alpha 3\beta 4^*$ - der $\alpha 7^*$ - und der muskuläre $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptorsubtyp.

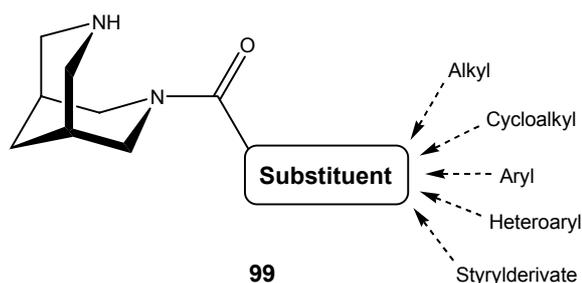


Abb. 5.2: Allgemeine Struktur der Bispidincarbonsäureamide

In einem Teilprojekt wurden Styrylderivate der Bispidinamide untersucht. Diese sollten Hinweise liefern, welchen Einfluss ein Spacer (Vinylgruppe) auf die Interaktion mit den nAChR-Subtypen besitzt. Diese Vinylgruppe befand sich zwischen der Carbonylfunktion und den aromatischen oder heteroaromatischen Substituenten (s. Abb. 5.3).

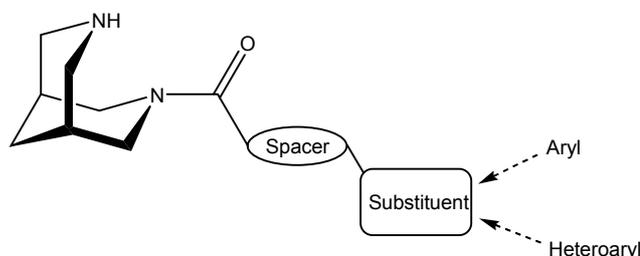


Abb. 5.3: Allgemeine Struktur der Bispidinamide mit Spacer (Vinylgruppe)

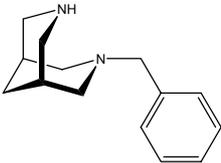
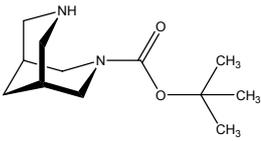
In einem zweiten Teilprojekt wurde der Einfluss des Linkers auf die Affinität und die Selektivität für den nAChR erforscht. Dabei wurde das Bispidin-Grundgerüst mit unterschiedlichen Linkern (funktionellen Gruppen) verknüpft, die jeweils die gleichen Substituenten trugen. Im Sinne eines isosteren Austausches wurde die Carbonsäureamidbindung durch die Sulfonsäureamidbindung oder die Harnstoffbindung ersetzt (s. Abb. 5.1). Der Vergleich der Bindungsdaten von Verbindungen, die die gleichen Substituenten aber unterschiedliche Linker trugen, lieferte Hinweise auf den Einfluss des Linkers auf die Interaktion mit dem nAChR.

5.1.1 N-Benzyl-Bispidin **92** und N-tBoc-Bispidin **93**

Ergebnisse und Diskussion

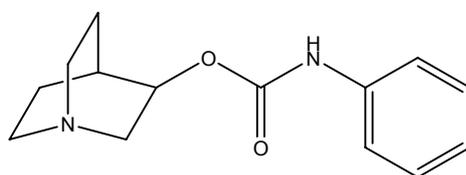
Die Synthesezwischenprodukte N-Benzyl-Bispidin **92** und N-tBoc-Bispidin **93** wurden ebenfalls in Radioligand-Bindungsstudien auf ihre Affinität zu den verschiedenen nAChR-Subtypen untersucht. N-Benzyl-Bispidin **92** zeigte in den Konkurrenzexperimenten keine Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, jedoch besaß es zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor eine Affinität im mittleren nanomolaren Bereich ($K_i = 570$ nM). Für N-tBoc-Bispidin **93** konnte dagegen ein K_i -Wert von 45.0 nM zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ermittelt werden und am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor zeigte es einen K_i -Wert von 1.28 μ M. Für beide Bispidin-Derivate **92** und **93** wurden weder am $\alpha 7^*$ -Rezeptor noch am muskulären Subtyp eine Affinität festgestellt (s. Tab. 5.1).

Tab. 5.1: nAChR-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für N-Benzyl-Bispidin **92** und N-tBoc-Bispidin **93**

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [³ H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [³ H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [³ H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [³ H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	92	> 10000	569.6 \pm 150.0	> 5000	> 10000
	93	45.0 \pm 5.3	1276.5 \pm 9.3	> 5000	> 10000

Anzahl unabhängiger Experimente n = 3-5

N-Benzyl-Bispidin **92** zeigte nur am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor eine Affinität im mittleren nanomolaren Bereich. An allen anderen Rezeptorsubtypen hatte N-Benzyl-Bispidin **92** keine Affinität, womit es eine Selektivität für den ganglionären Subtyp besaß. Demgegenüber zeigte N-*t*Boc-Bispidin **93** am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor eine Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 45 \text{ nM}$) und besaß eine etwa 30fache Selektivität gegenüber dem $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 1.28 \text{ }\mu\text{M}$). Im Vergleich zu Phenylcarbamaten des Chinuclidins, z. B. Verbindung **143** (s. Abb. 5.5), die bevorzugt an den $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 3084 \text{ nM}$, $\alpha 7^*$: 44 nM) binden,¹⁸⁹ war für N-*t*Boc-Bispidin **93** eine Selektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ - gegenüber dem $\alpha 7^*$ -Rezeptor erkennbar. Zwar besitzen beide Verbindungen unterschiedliche, überbrückte Ringsysteme (Azabicyclen) und in beiden Verbindungen ist die Carbamatgruppe unterschiedlich orientiert, dennoch könnte es interessant sein, in einem späteren Projekt den Einfluss von Bispidincarbamaten auf die Bindung zum nAChR zu untersuchen.



143

Abb. 5.4: Phenylcarbamate des Chinuclidins **143** mit $\alpha 7^*$ -selektiver Affinität

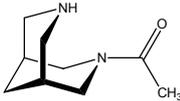
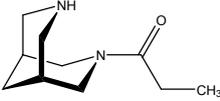
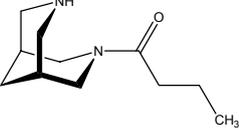
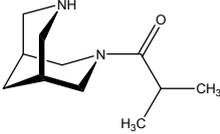
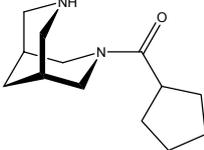
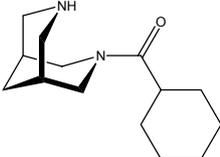
5.1.2 Aliphatisch und cycloaliphatisch substituierte Bispidinamide **144-149**

Ergebnisse und Diskussion

Durch die Einführung von kurzen unverzweigten, verzweigten oder cyclischen Carbonsäure-Substituenten konnten die aliphatisch oder cycloaliphatisch substituierten Bispidinamide **144-149** synthetisiert werden. Mit Ausnahme des Cyclohexan-Derivates **149**, besaßen alle Verbindungen dieser Gruppe eine Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 3.6-50.3 \text{ nM}$) für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Für die Verbindungen **144-147** konnten am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ebenfalls Affinitäten im nanomolaren Bereich ($K_i = 266-828 \text{ nM}$) ermittelt werden. Das Acetyl-Derivat **144** besaß daneben ebenfalls eine Affinität am $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 636 \text{ nM}$). Alle anderen getesteten Derivate besaßen weder eine Affinität am $\alpha 7^*$ - noch am $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptorsubtyp. Unter den drei Bispidin-Derivaten **144-146**, mit einer Alkylkette von 1-3 Kohlenstoffatomen, war die Tendenz zu niedrigeren K_i -Werten, d. h. zu höherer Affinität, sowohl für den $\alpha 4\beta 2^*$ - als auch für den $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor zu erkennen, je länger die Alkylkette wurde. Die aktiven Verbindungen **144-148** besaßen eine Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Die K_i -Werte am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor der Verbindungen **144-147** waren dabei 119fach, 73fach, 74fach bzw. 16fach niedriger als am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor (s. Tab. 5.2).

Die homologen Bispidin-Derivate **144-146** besitzen neben den zwei wichtigen Strukturmerkmalen, protonierbarer Stickstoff N⁺ und HBA/π-System (Carbonylgruppe), kurze und unverzweigte Alkylketten (C₁-C₃). Alle drei Derivate **144-146** besaßen eine Präferenz zum α4β2*-Rezeptor und zeigten darüber hinaus am α4β2*- und am α3β4*-Rezeptor kleinere K_i-Werten und geringere Selektivitäten (α4β2* vs. α3β4*), bei größerer Kettenlänge. Für die dargestellten Bispidinamid-Derivat scheint also eine kurze Alkylkette für eine Selektivität am α4β2*-Subtyp ausreichend zu sein.

Tab. 5.2: nAChR-Affinitätsdaten (K_i-Werte ± SEM) für aliphatisch und cycloaliphatisch substituierte Bispidinamide **144-149**

Struktur	Nr.	α4β2* [³ H]Epi Rattenhirn K _i -Wert [nM]	α3β4* [³ H]Epi Nebenniere (Schwein) K _i -Wert [nM]	α7* [³ H]MLA Rattenhirn K _i -Wert [nM]	(α1) ₂ β2γδ [³ H]Epi Torp. calif. electroplax K _i -Wert [nM]
	144	5.6 ± 1.4	663.8 ± 40.1	636 ^a	n. b.
	145	4.5 ± 2.3	328.7 ± 70.2	> 2000	> 1000
	146	3.6 ± 0.7	265.9 ± 83.4	> 1000	> 5000
	147	50.3 ± 10.4	828.0 ^a	> 5000	n. b.
	148	10.8 ± 0.8	n. b.	n. b.	n. b.
	149	> 5000	> 5000	> 10000	> 10000

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-8

^a n=1

Betrachtet man Verbindung **147** so fällt auf, dass eine Verzweigung der aliphatischen Kette offenbar einen negativen Einfluss auf die Bindung zum nAChR hat. Durch diese Verzweigung

verringerte sich sowohl die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor als auch zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor. Dabei wurde die Selektivität ($\alpha 4\beta 2^*$ vs. $\alpha 3\beta 4^*$) ebenfalls geringer. Während ein fünfgliedriger cycloaliphatischer Ring (Verbindung **148**) am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor offenbar gut toleriert wird, besaß das Cyclohexancarbonsäure-Derivat **149** keine Affinität zum nAChR. Der nAChR bzw. seine Bindungstasche scheint sehr sensitiv auf Substitution an der Carbonylgruppe zu reagieren. Voluminöse, aliphatische Substituenten wie der Cyclohexylrest der Verbindung **149** scheinen zu groß zu sein, während die linearen Verbindungen **144-146** gut in diese Bindungstasche passen.

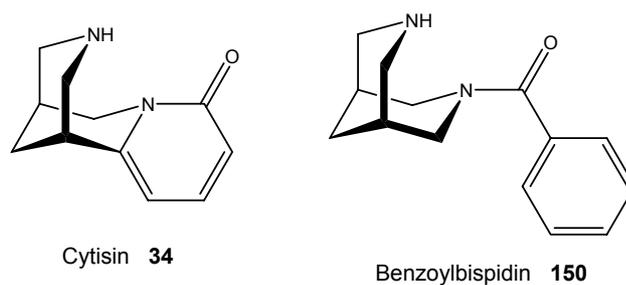
5.1.3 Benzoyl-Bispidin **150** und Ortho-substituierte Benzoyl-Bispidinamide **151-154**

Es wurde zunächst das Benzoessäureamid des Bispidins **150** als eine Art Basisverbindung synthetisiert und getestet. Durch den Vergleich von unterschiedlich substituierten Benzoessäure-Bispidinamiden (Verbindungen **151-167**, Tab. 5.3 - Tab. 5.6) wurde der Einfluss der Substituenten am aromatischen Ring auf die Interaktion zum nAChR untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Benzoyl-Bispidin **150** besaß einen K_i -Wert von 453.6 nM für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, jedoch keine Affinität für die weiteren Subtypen des nAChR. Es ist somit ein selektiver Ligand für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Mit Ausnahme von Verbindung **153**, brachte die Einführung eines Substituenten in die ortho-Position des Aromaten keine affinen Substanzen hervor. Nur für Verbindung **153**, die ein Iodatom in der ortho-Position trägt, wurde ein K_i -Wert von 293 nM am $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp erhalten (s. Tab. 5.3).

Cytisin **34** besitzt K_i -Werte von 0.122 nM ($\alpha 4\beta 2^*$), 250 nM ($\alpha 7^*$), 19 nM ($\alpha 3\beta 4^*$) und 1300 nM ($(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$) für die vier Rezeptorsubtypen des nAChR.³²⁰ Vergleicht man Benzoyl-Bispidin **150** und Cytisin **34** (s. Abb. 5.6), so fällt auf, dass beide Verbindungen über eine Carbonylgruppe und einen ungesättigten Ring verfügen. Während im Cytisin **34** die Carbonylgruppe einen Teil des anellierten Pyridonrings darstellt, besitzt Benzoyl-Bispidin **150** eine Carbonylgruppe, die den aromatischen Benzenring mit dem Bispidin-Grundgerüst als Linker verbindet. Benzoyl-Bispidin **150** besitzt im Vergleich zu Cytisin **34** eine höhere Flexibilität und eine andere räumliche Ausrichtung des Aromaten. Cytisin **34** jedoch scheint optimal in die Bindungstasche des nAChR zu passen, denn es besitzt sehr niedrige K_i -Werte (s. oben). Solch niedrige K_i -Werte zeigt das Benzoyl-Bispidin **150** nicht, da es anscheinend nicht über eine optimale Ausrichtung des Aromaten verfügt. Die aliphatisch substituierten Bispidinamide **144-146** (s. Tab. 5.2) besaßen deutlich niedrigere K_i -Werte ($K_i = 3.6-5.6$ nM) für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor als Benzoyl-Bispidin **150**. Dies zeigt, dass der Rezeptor in diesem Bereich der Bindungsdomäne, in die sich die Alkylketten der Verbindungen **144-146** und der Benzenring der Verbindung **150** vermutlich orientieren, sehr sensibel auf sterische Einflüsse der Liganden reagiert.

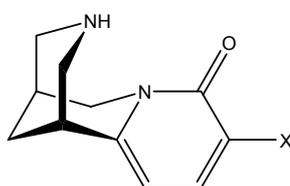
Abb. 5.5: Vergleich der Strukturen Cytisin **34** und Benzoyl-Bispidin **150**Tab. 5.3: *nAChR*-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für Benzoyl-Bispidinamid **150** und ortho-substituierte Benzoyl-Bispidinamide **151-154**

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [3 H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [3 H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [3 H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [3 H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	150	453.6 \pm 14.8	> 5000	k. E.	> 10000
	151	k. E.	k. E.	k. E.	k. E.
	152	k. E.	n. b.	n. b.	n. b.
	153	293.0 \pm 34.0	> 5000	> 10000	> 10000
	154	k. E.	k. E.	k. E.	k. E.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-5

Sowohl durch die Einführung einer Elektronen schiebenden Gruppe (Methylgruppe: Verbindung **151**) als auch durch die Einführung von Elektronen ziehenden Gruppen (Chloratom: Verbindung

152, Nitrogruppe: Verbindung **154**) resultierten Verbindungen ohne Affinität zum nAChR. Lediglich durch die Substitution mit einem Iodatom in der ortho-Position des Aromaten (Verbindung **153**) erhielt man eine selektive Verbindung mit Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor im mittleren nanomolaren Bereich zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 293$ nM). Cytisin-Derivate, die ein Chloratom, ein Iodatom oder eine Nitrogruppe in der Position 3 tragen (Verbindungen **125**, **127** und **128**, s. Abb. 5.7), zeigten dagegen subnanomolare Affinität am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor und nanomolare am $\alpha 7^*$ -Rezeptor (**125**: $\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 0.022$ nM, $\alpha 7^*$: $K_i = 2.5$ nM; **127**: $\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 0.017$ nM, $\alpha 7^*$: $K_i = 1.5$ nM; **128**: $\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 0.42$ nM, $\alpha 7^*$: $K_i = 40.7$ nM)^{257, 467} (s. Abb. 5.4). Verglichen mit den Cytisin-Derivaten **125**, **127**, **128** besitzen die Bispidin-Derivate **152**, **153** und **154** mehr Flexibilität und die Substituenten eine andere Orientierung im Raum. Dies könnte eine Erklärung für die fehlende Affinität der Bispidin-Derivate **152**, **153** und **154** am nAChR sein.



x = Cl	3-Chlor-Cytisin	125
x = I	3-Iod-Cytisin	127
x = NO ₂	3-Nitro-Cytisin	128

Abb. 5.6: Cytisin-Derivate: 3-Chlor-Cytisin **125**, 3-Iod-Cytisin **127** und 3-Nitro-Cytisin **128**

Bei den Verbindungen **152-154** waren in NMR-Experimenten Rotamere zu erkennen, die auch nach einer Erhöhung der Messtemperatur (70 °C in DMSO) noch sichtbar blieben. Dies könnte darauf hindeuten, dass der aromatische Ring durch die Einführung von Substituenten in die ortho-Position, nur in bestimmten Konformationen vorliegen kann, die für die Interaktion mit dem Rezeptor ungünstig sind. Um diese Hypothese zu bekräftigen, müssten jedoch weitere Verbindungen mit ortho-Substituenten, z. B. kurzen Alkylketten, hergestellt und getestet werden.

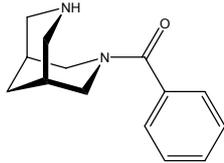
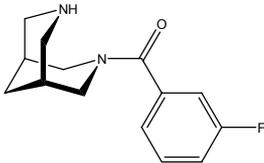
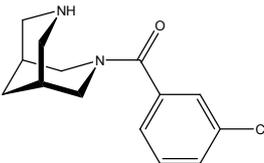
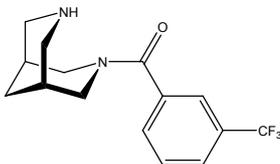
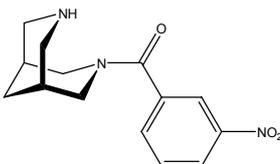
Bei Derivaten des Benzoyl-Bispidins **150**, scheint die Einführung von Substituenten in die ortho-Position des Aromaten insgesamt einen negativen Effekt auf die Affinität für die verschiedenen nAChR-Subtypen besitzen. Lediglich die Einführung eines Iodatoms (Verbindung **153**) wurde toleriert und führte zu einer Affinität am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 293$ nM), die mit der Affinität des Benzoyl-Bispidins **150** ($K_i = 454$ nM) vergleichbar war.

5.1.4 Meta-substituierte Benzoyl-Bispidinamide **155-158**

Ergebnisse und Diskussion

Durch die Einführung von Elektronen ziehenden Substituenten (Fluor, Chlor, Trifluormethylgruppe oder Nitrogruppe) in die meta-Position des aromatischen Ringes, wurden die Verbindungen **155-158** erhalten. Diese zeigten keine Affinität zu den nAChR-Subtypen $\alpha 3\beta 4^*$, $\alpha 7^*$ und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$. Die Einführung eines Fluoratoms (Verbindung **155**) ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 386.4$ nM) oder einer Trifluormethylgruppe (Verbindung **157**) ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 147.1$ nM) wurde vom nAChR toleriert. Beide Verbindungen waren zudem selektiv für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor (s. Tab. 5.4).

Tab. 5.4: nAChR-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für meta-substituierte Benzoyl-Bispidinamide **155-158**

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [3 H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [3 H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [3 H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [3 H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	150	453.6 \pm 14.8	> 5000	k. E.	> 10000
	155	386.4 \pm 42.7	> 5000	n. b.	k. E.
	156	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
	157	147.1 \pm 6.8	> 3000	n. b.	> 10000
	158	> 2000	k. E.	k. E.	k. E.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-6

Außer im Falle einer Substitution mit einer Nitrogruppe, zeigten die meta-substituierten Benzoyl-Bispidin-Derivate **155** und **157** eine Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor und eine Affinität im nanomolaren Bereich. Kleine, Elektronen ziehende Substituenten wurden also vom $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor in der meta-Position des Aromaten toleriert. Es muss jedoch noch untersucht werden, welchen Einfluss Elektronen schiebende Substituenten auf die Affinität zum nAChR besitzen. Während die Trifluormethylgruppe in der meta-Position des aromatischen Ringes (Verbindung **157**) die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 147$ nM), im Vergleich zum unsubstituierten Benzoyl-Bispidin **150** ($K_i = 454$ nM), etwa verdreifachte, wurde die ebenfalls Elektronen ziehende Nitrogruppe in dieser Position vom Rezeptor nicht toleriert (s. Tab. 5.4). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass der –M-Effekt der Nitrogruppe eine Rolle spielt oder die Nitrogruppe zu voluminös ist. Die bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, dass kleine Elektronen ziehende Substituenten in der meta-Position (Verbindungen **154** und **157**) vom $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor toleriert werden.

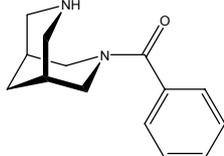
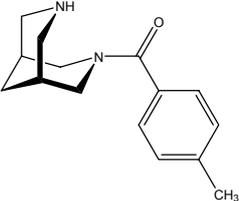
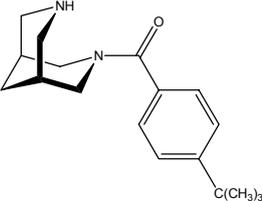
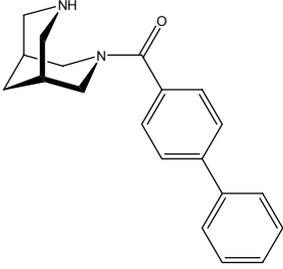
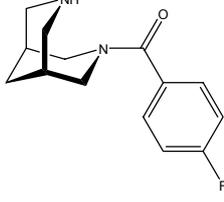
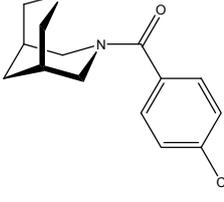
5.1.5 Para-substituierte Benzoyl-Bispidinamide 159-166

Ergebnisse und Diskussion

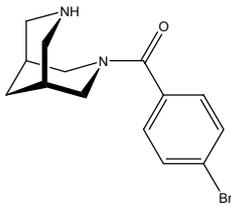
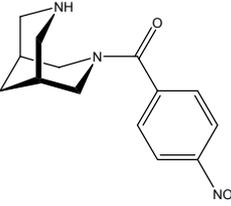
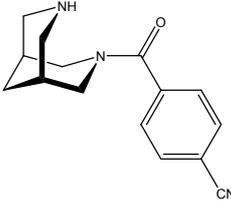
Durch die Substitution mit verschiedenen Elektronen schiebenden sowie Elektronen ziehenden Gruppen in der para-Position des Aromaten von Benzoyl-Bispidin **150**, konnten die Verbindungen **159-166** hergestellt werden. Mit Ausnahme der *tert*-Butylgruppe wurde durch diese Veränderung eine höhere Affinität ($K_i = 15.9-221$ nM) zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor erzielt, als durch die Basisverbindung Benzoyl-Bispidin **150** ($K_i = 454$ nM) (s. Tab. 5.5). Soweit dies bereits getestet wurde, besitzen diese Verbindungen keine Affinität am muskulären Subtyp. Für den $\alpha 3\beta 4^*$ - und den $\alpha 7^*$ -Rezeptor konnten nur für die Verbindungen **161** (Phenylgruppe) und **165** (Nitrogruppe) eine Affinität im mikromolaren Bereich ($K_i = 1.1-4.2$ μ M) ermittelt werden.

Im Vergleich zu Benzoyl-Bispidin **150**, erhöhte die Einführung eines zweiten Phenylrings (Verbindung **161**) die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp ($K_i = 39.9$ nM). Der Einfluss von Elektronen ziehenden Gruppen bzw. Atomen (Verbindungen **162-166**) führte zu niedrigeren K_i -Werten für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Dabei erzielten die stark Elektronen ziehenden und voluminösen Nitro- und Carbonitril-Gruppe (Verbindung **165** und **166**), einen stärkeren Effekt, als z. B. das Fluor- (Verbindung **162**) oder das Chloratom (Verbindung **163**). Dies könnte bedeuten, dass der –M-Effekt der Nitro- und der Carbonitrilgruppe eine Relevanz für die Stärke der Interaktion mit dem Rezeptor besitzt. Verbindung **165** (Nitrogruppe) hatte unter den para-substituierten Benzoyl-Bispidinamiden den niedrigsten K_i -Wert ($K_i = 15.9$ nM) für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, besaß also die höchste Affinität zu diesem Subtyp. Alle Verbindungen **159** und **161-166** waren zudem selektiv für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor und nur die beiden Verbindungen **161** und **165** zeigten daneben eine Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ - bzw. $\alpha 7^*$ -Rezeptor (s. Tab. 5.5).

Tab. 5.5: *nAChR*-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für *para*-substituierte Benzoyl-Bispidinamide 159-166

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [^3H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [^3H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [^3H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [^3H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	150	453.6 \pm 14.8	> 5000	k. E.	> 10000
	159	221.0 \pm 84.0	> 5000	k. E.	> 10000
	160	k. E.	k. E.	k. E.	k. E.
	161	39.9 \pm 7.1	1089.5 \pm 290.5	*	*
	162	197.3	> 10000	> 10000	> 10000
	163	130.2	n. b.	k. E.	n. b.

106 | Ergebnisse und Diskussion

	164	138.0 ± 17.3	k. E.	k. E.	n. b.
	165	15.9 ± 3.9	4200	1726	> 5000
	166	20.7 ± 8.9	k. E.	k. E.	> 5000

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-10

* Die Radioligand-Bindung wurde erhöht

Verbindung **161** zeigte am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor einen K_i -Wert von 1.1 μM und besaß damit eine etwa 27fache Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Das Nitro-Derivat **165** war zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor 264fach affiner als zum $\alpha 3\beta 4^*$ - ($K_i = 4.3 \mu\text{M}$) und 109fach affiner als zum $\alpha 7^*$ -Rezeptor ($K_i = 1.7 \mu\text{M}$). In den Radioligand-Bindungsstudien mit Verbindung **161** (Biphenyl-Derivat) ließ sich am $\alpha 7^*$ - und muskulären Subtyp ein Effekt auf die Bindung des Radioliganden feststellen. Verbindung **161** zeigte keine Affinität für diese Subtypen, erhöhte jedoch die Bindung der Radioliganden [^3H]MLA bzw. [^3H]Epibatidin zum Rezeptorprotein. Dieses Phänomen wird derzeit versucht aufzuklären.

Vergleicht man die para-substituierten Derivate **159-166** mit Verbindung **150**, ist ein Verlust der Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor nur bei Verbindung **160** (*tert*-Butylgruppe) zu beobachten. Dies ist wahrscheinlich auf die voluminöse Ausdehnung der *tert*-Butylgruppe zurückzuführen, denn die ebenfalls Elektronen schiebende Methylgruppe (Verbindung **159**) wurde vom nAChR toleriert und führte zu einer selektiven Bindung am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 221 \text{ nM}$). N-*t*Boc-Bispidin **93** besitzt ebenfalls eine *tert*-Butylgruppe. Diese ist jedoch über eine Carbamatfunktion mit dem Bispidinmolekül verbunden. Im Gegensatz zu Verbindung **160**, zeigt N-*t*Boc-Bispidin **93** eine Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 45.0 \text{ nM}$) für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor (s. Tab. 5.1). Die unterschiedliche Orientierung und Entfernung der *tert*-Butylgruppe zum Bispidin-Grundgerüst könnte dafür verantwortlich sein, dass Verbindung **93** affin, Verbindung **160** jedoch inaktiv am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ist.

Für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor lässt sich feststellen, dass sowohl Elektronen schiebende als auch Elektronen ziehende Gruppen in der para-Position des Benzoessäurerestes toleriert werden und die Affinität erhöhen. Lediglich die *tert*-Butylgruppe scheint zu voluminös zu sein und erzeugte keine Bindung zum Rezeptor. Daneben sind para-substituierte Verbindungen auch selektiv für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp. Insgesamt hatte die Einführung von Substituenten in die para-Position keinen Einfluss auf die Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -, zum $\alpha 7^*$ - sowie zum $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptor, mit Ausnahme des Nitro-Derivates **165** und des Biphenyl-Derivates **161**, die Affinitäten im mikromolaren Bereich erzeugten.

Der Vergleich von verschiedenen konstitutionsisomeren Bispidin-Derivaten (**151** mit einer ortho- und **159** mit einer para-Methylgruppe, **155** mit einem meta- und **162** mit einem para-Fluoratom, **152** mit einem ortho-, **156** mit einem meta- und **163** mit einem para-Chloratom sowie **154** mit einer ortho-, **158** mit einer meta- und **165** mit einer para-Nitrogruppe) zeigt, dass die Affinität zum Rezeptor v. a. von der Position der Substituenten abhängig sind. Während Verbindungen mit einer Methyl- (Verbindung **151**), einer Chlor- (Verbindung **152**) oder einer Nitrogruppe (Verbindung **154**) in der ortho-Position des Benzoessäurerestes keine Affinität zum nAChR aufwiesen, gelang es durch die Einführung dieser Substituenten in die para-Position (Verbindungen **159**, **163** und **165**), affine und selektive Liganden für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp herzustellen. Auch ein Fluoratom (Verbindung **155**) oder eine Nitrogruppe (Verbindung **158**) in der meta-Position ergab im Vergleich zu den entsprechenden para-substituierten Derivaten (Verbindungen **162** und **165**) eine schwächere Interaktion mit dem nAChR.

Damit lässt sich zusammenfassend sagen, dass die Einführung von Substituenten in die ortho-Position generell einen negativen Einfluss auf die Affinität zum nAChR hat. Eine Ausnahme bildet jedoch das ortho-Iod-Derivat (Verbindung **153**) ($K_i = 293$ nM). Die Einführung von Substituenten in die meta-Position wird generell toleriert, wobei das Fluor-Derivat (Verbindung **155**) ($K_i = 386$ nM) eine mit der Basisverbindung **150** ($K_i = 454$ nM) vergleichbare Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor besitzt. Die para-Position (Verbindungen **159** und **161-166**) ist für die Einführung von Substituenten gut geeignet, denn dadurch entstehen affine und selektive Liganden für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Verbindung **160** bildet dabei eine Ausnahme, da mit der voluminösen *tert*-Butylgruppe keine Bindung zum nAChR festgestellt werden konnte.

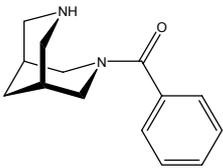
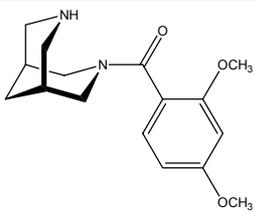
5.1.6 Disubstituiertes Benzoyl-Bispidinamid **167**

Ergebnisse und Diskussion

Verbindung **167**, die je eine Methoxygruppe in der ortho- und in der para-Position besitzt, zeigte keine Affinität zum nAChR (s. Tab. 5.6). Wie schon in Kapitel 5.1.3 erwähnt, besitzt die Einführung von Substituenten in die ortho-Position des aromatischen Ringes von Benzoyl-Bispidin **150** einen im Allgemeinen einen negativen Einfluss auf die Bindung zum nAChR. Da Ver-

bindung **167** neben einer Methoxygruppe in para-Position auch eine Methoxygruppe in ortho-Position besitzt, wird angenommen, dass die Methoxygruppe in der ortho-Position eine Interaktion mit dem Rezeptor verhindert.

Tab. 5.6: nAChR-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für das disubstituiertes Benzoyl-Bispidinamid **167**

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [3 H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [3 H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [3 H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [3 H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	150	453.6 \pm 14.8	> 5000	k. E.	> 10000
	167	> 1000	> 5000	> 5000	k. E.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2

5.1.7 Heteroarylcarbonsäurebispidinamide 168-178

Für weitere Untersuchungen des Bindungsverhaltens von Bispidin-Derivaten am nAChR, wurden einige Heteroarylcarbonsäureamide des Bispidins hergestellt und auf ihre Affinität zu den verschiedenen Rezeptorsubtypen untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

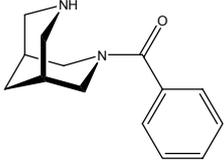
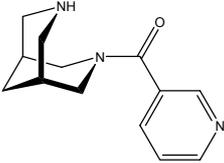
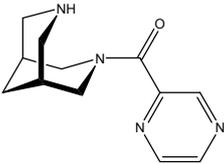
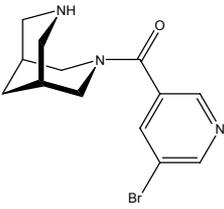
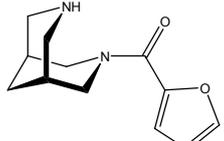
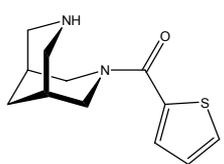
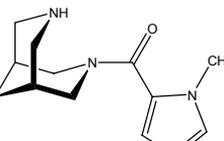
Das Nicotinsäure-Derivat **168** zeigte die gleiche nanomolare Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor (K_i = 454.8 nM), wie das Benzoyl-Bispidin **150** (K_i = 454 nM). Dagegen besaß das Pyrazincarbonsäure-Derivat **169** einen K_i -Wert von 73.2 nM an diesem Rezeptorsubtyp. Die Einführung eines Bromsubstituenten in die Position 5 des Pyridinringes (Verbindung **170**) erhöhte die Affinität nur leicht (K_i = 291.6 nM). Bispidin-Derivate die mit einem Furan- (Verbindung **171**) bzw. einem Thiophencarbonsäurerest (Verbindung **172**) verbunden waren, besaßen eine hohe Affinität im niedrigen nanomolaren Bereich. Die K_i -Werte für die Verbindungen **171** und **172** lagen bei 21.4 nM bzw. 17.6 nM. Die Einführung eines N-Methylpyrrolcarbonsäurerestes (Verbindung **173**)

führte zu einem K_i -Wert von 661.6 nM am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Die beiden Indol-Derivate (**174** und **175**) zeigten hingegen keine Affinität zum nAChR, während für die drei isomeren Chinolincarbonensäure-Derivate **176-178** sehr unterschiedliche K_i -Werte für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor gemessen wurden. Das 2-Chinolincarbonensäure-Derivat **176** war inaktiv an diesem Rezeptorsubtyp, während das 4-Chinolincarbonensäure- **177** und das 6-Chinolincarbonensäure-Derivat **178** K_i -Werte von 162.1 nM bzw. 81.3 nM besaßen. Bis auf Verbindung **171** waren diese Heteroarylcarbonensäureamide **168-178** an den getesteten nAChR-Subtypen $\alpha 3\beta 4^*$, $\alpha 7^*$ und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ inaktiv. Das Furancarbonsäure-Derivat **171** besaß für den $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor einen K_i -Wert von 2.2 μ M. Verbindungen **168-173** und **177** und **178** besaßen Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, verglichen mit den anderen Subtypen des nAChR. Das Furancarbonsäure-Derivat **171** besaß einen etwa 100fach niedrigeren K_i -Wert für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, verglichen mit dem $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor (s. Tab. 5.7).

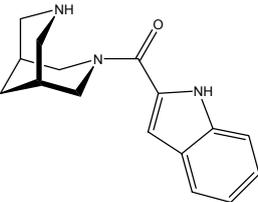
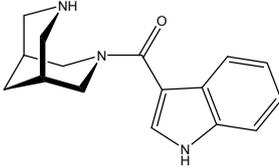
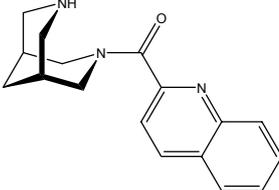
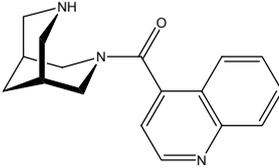
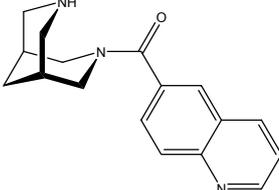
Der Einfluss der Heteroarylsubstituenten der Bispidinamide **168-178** auf die Bindung zum nAChR war sehr unterschiedlich. Ein Pyridinring (Verbindung **168** und **170**) erzeugte keine Veränderung im Bindungsverhalten dieser Substanzen, verglichen mit dem Benzoyl-Bispidin **150**. Die Einführung eines Bromatoms in die Position 5 des Pyridinringes (Verbindung **170**) erhöhte die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 292$ nM) nur leicht. Jedoch erhöhte die Einführung eines Pyridazinringes (Verbindung **169**) die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 73$ nM).

Die Verknüpfung des Bispidin-Grundgerüsts mit fünfgliedrigen Heterocyclen (Verbindungen **171-173**) über einen Carbonsäureamid-Linker führte zu affinen und selektiven Liganden am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp ($K_i = 17.6-662$ nM). Die Substanz mit der höchsten Affinität innerhalb dieser Gruppe, war Verbindung **172** ($K_i = 17.6$ nM), die einen Thiophenring, als bioisosteren Ersatz für den Benzenring der Verbindung **150**, trug. Die Erhöhung der Affinität der Verbindungen **171** und **172** im Vergleich zum Benzoyl-Bispidin **150** ist vermutlich auf die unterschiedliche Größe des aromatischen Rings zurückzuführen. Wie in Kapitel 5.1.2 gezeigt, konnten auch mit kurzen Alkylketten (Verbindungen **144-146**) oder einem Cyclopentanrest (Verbindung **148**) affine und selektive Liganden für den nAChR hergestellt werden ($K_i = 3.6-10.8$ nM). Die im Vergleich zu den Verbindungen **171** und **172** geringere Affinität von Verbindung **173** (Methylpyrrolcarbonensäureamid des Bispidins) ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 662$ nM) basiert wahrscheinlich auf demselben Effekt wie bei ortho-substituierten Benzoyl-Bispidin-Derivaten **151-154** (s. Kap. 5.3). Möglicherweise kann sich der Aromat durch die Methylgruppe des Stickstoffes nicht in eine für die Bindung zum Rezeptor optimale Position drehen.

Tab. 5.7: *nAChR*-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für heteroaromatisch substituierte Carbonsäurebispindinamide **168-178**

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [3 H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [3 H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [3 H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [3 H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	150	453.6 \pm 14.8	> 5000	k. E.	> 10000
	168	454.8 \pm 89.4	k. E.	> 10000	k. E.
	169	73.2 \pm 9.1	k. E.	k. E.	> 10000
	170	291.6 \pm 50.1	> 5000	> 10000	k. E.
	171[†]	21.4 \pm 2.3	2242.5	n. b.	> 10000
	172	17.6 \pm 0.8	k. E.	> 10000	> 10000
	173	661.6 \pm 47.3	n. b.	n. b.	n. b.

[†] Verbindung E4 wurde bereits patentiert. Die veröffentlichten Bindungsdaten ($\alpha 4\beta 2^*$: K_i = 31 nM; $\alpha 4\beta 2^*$: K_i = 9.9 nM; $\alpha 7^*$: K_i > 15 μ M) stimmen gut mit unseren Ergebnissen überein.³⁷⁹

	174	k. E.	k. E.	k. E.	k. E.
	175	k. E.	k. E.	k. E.	k. E.
	176	> 1000	n. b.	n. b.	> 10000
	177	162.1 ± 38.1	> 5000	n. b.	> 10000
	178	81.3 ± 20.6	> 5000	k. E.	n. b.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-10

Die Indolcarbonsäure-Derivate **174** und **175** führten zu inaktiven Verbindungen an allen Rezeptorsubtypen. Dagegen zeigten die Chinolincarbonsäure-Derivate **176-178** sehr unterschiedliche Affinitäten zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp. Da die Größe der Substituenten der Verbindungen **176** und **178** gleich ist, unterscheiden sie sich lediglich in der Stellung des Stickstoffes. Innerhalb der Chinolin-Derivate ist eine Tendenz zu höheren Affinitäten erkennbar, je größer die Entfernung des Stickstoffes zur Carbonylgruppe ist. Dies könnte bedeuten, dass sich zu diesem Stickstoff eine weitere Wasserstoffbrückenbindung von der Rezeptorseite aus bilden kann, die somit die Affinität zum nAChR erhöht. Die Position des Stickstoffes im Chinolincarbonsäurerest besitzt also einen großen Einfluss auf die Interaktion mit dem Rezeptor.

5.1.8 Unsubstituierte oder substituierte Cinnamoylbispidinamide 179-186

In einem Teilprojekt wurden Bispidinamid-Derivate synthetisiert, die einen Spacer zwischen dem Linker (Carbonylgruppe) und dem Substituenten besaß (s. Abb. 5.7). Dieser Spacer besteht aus einer Vinylgruppe (-CH=CH-), die eine trans-Geometrie besitzt. Ist der Substituent ein Benzenring, so handelt es sich bei dem gesamten Substituenten, bestehend aus Carbonylgruppe, Spacer und dem Benzenring, um ein Zimtsäure-Derivat. Mit den Ergebnissen der Bindungsstudien konnte erforscht werden, welchen Einfluss die Distanz des Aromaten vom Bispidinmolekül auf die Affinität zum nAChR besaß.

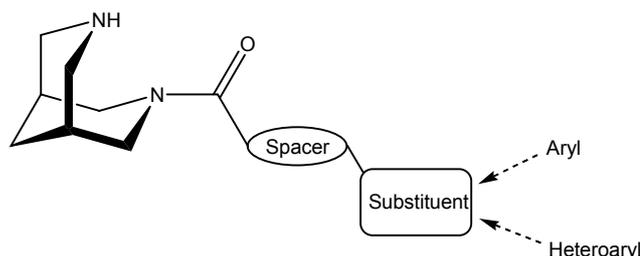


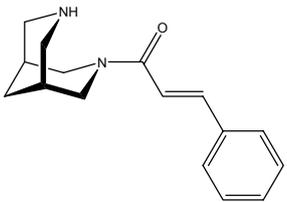
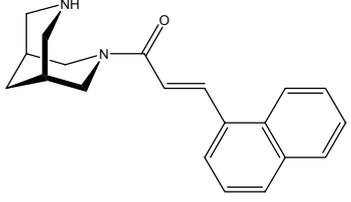
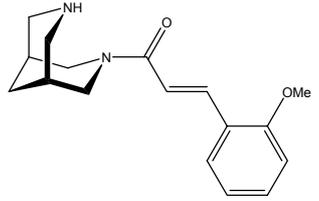
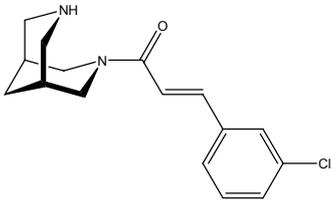
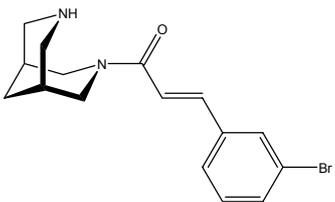
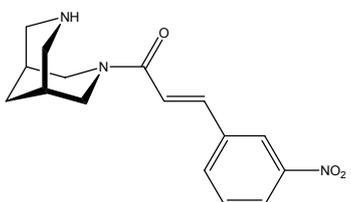
Abb. 5.7: Allgemeine Zielstruktur von Bispidinamiden mit einem Spacer

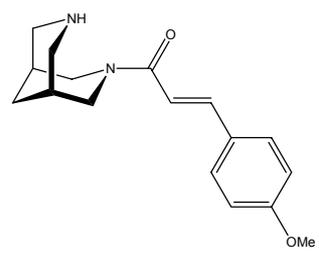
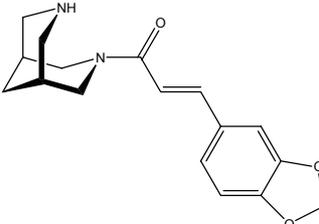
Ergebnisse und Diskussion

Mit der Synthese des Zimtsäure-Derivates (Verbindung **179**) wurde der Prototyp dieser Untergruppe von Bispidinamid-Derivaten hergestellt. Diese neue Basisverbindung **179** zeigte eine Affinität im niedrigen nanomolaren Bereich ($K_i = 55.1$ nM) am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Alle Zimtsäure-Derivate **179-186** besaßen Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor und eine Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 23.7-297$ nM). Das Naphthylacryloyl-Bispidinamid (Verbindung **180**) besaß die geringste Affinität ($K_i = 296.6$ nM) zu diesem Rezeptorsubtyp. Die Einführung von Substituenten am aromatischen Ring des Zimtsäuremoleküls, ergab Affinitäten im niedrigen bis mittleren nanomolaren Bereich ($K_i = 23.7-171.8$) (s. Tab. 5.8).

Das Zimtsäure-Bispidinamid **179**, als der Prototyp dieser Untergruppe von Bispidin-Derivaten, zeigte nanomolare Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 55.1$ nM) und keine Aktivität für die anderen Rezeptorsubtypen. Vergleicht man die Verbindung **179** mit dem Benzoyl-Bispidin **150** ($K_i = 454$ nM), erkennt man, dass die Einführung eines Spacers einen positiven Einfluss auf die Affinität zum nAChR besitzt. Die Vergrößerung des aromatischen Systems zu einem Naphthyl-ringsystem (Verbindung **180**) verringerte die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 297$ nM), verglichen mit dem Zimtsäure-Bispidinamid **179**. Welche Auswirkungen diese Veränderung auf die anderen Rezeptorsubtypen hat, ist z. Z. noch unbekannt.

Tab. 5.8: nAChR-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für substituierte oder unsubstituierte Cinnamoylbispidinamide 179-186

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [^3H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [^3H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [^3H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma\delta$ [^3H]Epi Torp. calif. electoplax K_i -Wert [nM]
	179	55.1 \pm 12.5	> 5000	> 5000	> 10000
	180	296.6 \pm 50.7	n. b.	n. b.	n. b.
	181	171.8 \pm 39.7	n. b.	n. b.	> 10000
	182	23.7 \pm 3.2	n. b.	k. E.	n. b.
	183	24.6 \pm 4.2	n. b.	k. E.	n. b.
	184	38.9	> 1000	n. b.	> 10000

	185	39.6 ± 5.4	n. b.	n. b.	n. b.
	186	36.9 ± 8.0	n. b.	n. b.	n. b.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-10

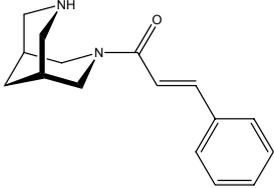
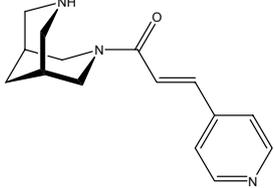
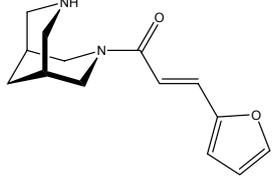
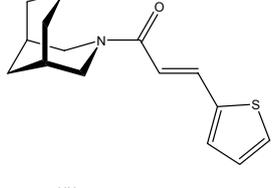
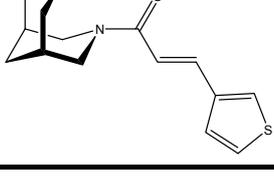
Im Gegensatz zu den ortho-substituierten Benzoyl-Derivaten **151-154** und **167**, wurde bei den Zimtsäure-Derivaten keine Verringerung der Affinität durch die Einführung eines Substituenten in die ortho-Position (Verbindung **181**) des aromatischen Systems festgestellt. Die Einführung einer Methoxy-Gruppe in die ortho-Position des aromatischen Ringes (Verbindung **181**) wurde toleriert und ergab für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor eine Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 171.8$ nM). Verglichen mit dem Zimtsäure-Bispidinamid **179**, verringerte sich jedoch die Affinität zu diesem Subtyp leicht. Dagegen zeigte die Einführung einer Methoxy-Gruppe in die para-Position des Aromaten, eine Erhöhung der Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 39.6$ nM), im Vergleich zur Basisverbindung **179**.

Durch die Einführung von Elektronen ziehenden Substituenten in die meta-Position des aromatischen Ringes, konnten die Verbindungen **182-184** erhalten werden, die eine höhere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor (K_i -Werte 23.7-38.9 nM) aufwiesen, als das Zimtsäure-Bispidinamid **179**. Die Einführung von Substituenten in die meta-Position des Benzoyl-Bispidins **150** wurde ebenfalls toleriert (s. Tab. 5.4). Und auch die Einführung des 3,4-Methylenedioxyringes (Verbindung **186**) konnte die Affinität dieser Verbindung zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor erhöhen ($K_i = 36.9$ nM), verglichen mit der Leitsubstanz **179**.

Insgesamt hatte die Einführung eines Spacers zwischen die Carbonylgruppe und den Substituenten einen positiven Effekt auf die Affinität und die Selektivität dieser Verbindungen zum nAChR. Die Einführung von Substituenten in das aromatische Ringsystem wurde toleriert, wobei eine höhere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor erhalten wurde, wenn die Substituenten in der meta- (Verbindung **182-184**) oder der para-Position (Verbindung **185**) eingeführt wurden, verglichen mit Verbindung **179**. Um die Selektivität der Substanzen **180-186** zu beurteilen, liegen z. Z. noch nicht genug Daten vor. Aus den vorliegenden Ergebnissen ergibt sich jedoch der Hinweis, dass die Zimtsäure-Derivate eine hohe Selektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor zu besitzen scheinen.

5.1.9 Heteroaromatisch-substituierte Acryloylbispidinamide 187-190

Tab. 5.9: nAChR-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für heteroaromatisch-substituierte Acryloylbispidinamide 187-190

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [3 H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [3 H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [3 H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [3 H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	179	55.1 \pm 12.5	> 5000	> 5000	> 10000
	187	1.03	n. b.	k. E.	n. b.
	188	287.5 \pm 25.7	n. b.	n. b.	n. b.
	189	96.9 \pm 20.5	2000	k. E.	n. b.
	190	57.1 \pm 12.3	n. b.	k. E.	n. b.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-10

Ergebnisse und Diskussion

Durch den Austausch des Phenylrings des Zimtsäure-Bispidinamid **179** durch Heteroaromaten (Pyridin, Furan, Thiophen), wurden neue Bispidinamid-Derivate **187-190** hergestellt und auf ihre Affinität zum nAChR untersucht. Dabei besaß das 4-Pyridyl-Analogon **187** eine hohe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 1.03$ nM). In den Verbindungen **188-190** wurde der Benzenring gegen die fünfgliedrige Heteroaromaten Furan oder Thiophen ausgetauscht. Ihre Affinität für

den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor lag ebenfalls im nanomolaren Bereich ($K_i = 57.1\text{-}287.5$ nM). Soweit dies schon bestimmt wurde, besaßen die heteroaromatisch substituierten Acrylsäure-Derivate keine Bindung zum $\alpha 3\beta 4^*$ -, $\alpha 7^*$ - oder dem $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptor. Die Verbindungen besaßen somit eine Selektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor (s. Tab. 5.9).

Die Verbindung **187** besaß die höchste Affinität aller in dieser Arbeit synthetisierten und getesteten Bispidin-Derivate ($K_i = 1.03$ nM). Im Vergleich zum Cinnamoyl-Derivat **179** ($K_i = 55.1$) konnte für die Verbindung **187** eine etwa 50fach höhere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ermittelt werden. Da die Verbindung **187** und **179** bis auf das Vorhandensein des Stickstoffs im Aromaten identisch sind, kann diese Steigerung der Affinität auf ebendiesen Stickstoff zurückgeführt werden. Ein Vergleich mit dem Effekt, der durch die Veränderung der Position des Stickstoffes im Chinolinrest der Verbindungen **176-178** (Tab. 5.7) auftrat, unterstützt die Hypothese, dass der Stickstoff sich auch in Verbindung **187** in einer Entfernung zur Carbonylgruppe befindet, bei der es von der Rezeptorseite möglicherweise eine weiteres Wasserstoffbrückenbindungsdonorsystem gibt, mit dem dieser Stickstoff interagieren kann.

Der Austausch des Benzenringes (Verbindung **179**) gegen einen Furanring (Verbindung **188**) oder einen Thiophenring (Verbindungen **189** und **190**) wurde vom nAChR toleriert und resultierte in Affinitäten im nanomolaren Bereich für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Für eine Beurteilung der Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, müssen die Verbindungen **187-190** jedoch noch vollständig an den weiteren nAChR-Subtypen auf ihre Affinität getestet werden.

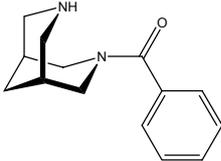
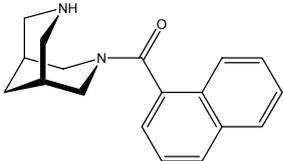
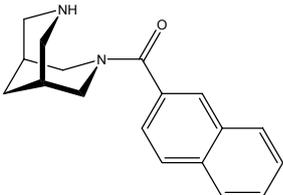
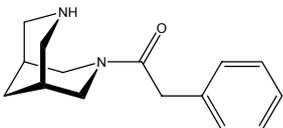
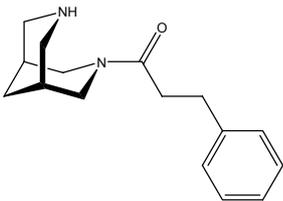
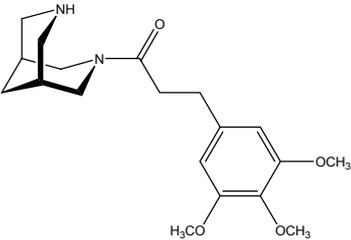
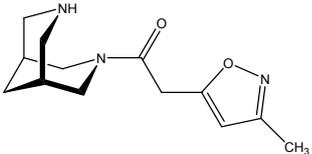
Der Vergleich der Verbindungen **188** und **189** mit dem Furancarbonsäure-Derivat **171** und dem Thiophencarbonsäure-Derivat **172** (s. Tab. 5.7) zeigt, dass die Einführung eines Spacers zwischen die Carbonylgruppe und den Heteroaromaten vom $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor toleriert wird, jedoch werden für die Verbindungen **188** und **189** (mit Spacer) am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor niedrigere Affinitäten gemessen (**188**: $K_i = 288$ nM, **189**: $K_i = 97$ nM) als für die Verbindungen **171** ($K_i = 21.4$ nM) und **172** ($K_i = 17.6$ nM) (ohne Spacer).

5.1.10 Unterschiedlich substituierte und unsubstituierte aromatische oder heteroaromatische Carbonsäure-Bispidinamide 191-199

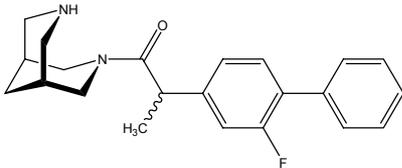
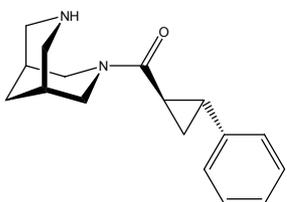
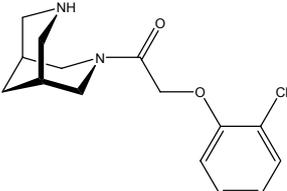
Ergebnisse und Diskussion

In dieser Gruppe sind unterschiedlich substituierte oder unsubstituierte aromatische oder heteroaromatische Carbonsäure-Bispidinamide zusammengefasst. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Strukturen, ließen sie sich nicht den bereits beschriebenen Gruppen zuordnen und sollen an dieser Stelle zusammengefasst und diskutiert werden. Dabei wird auf Analoga aus den oben beschriebenen Gruppen Bezug genommen.

Tab. 5.10: *nAChR*-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für unterschiedlich (un)substituierte aromatische oder heteroaromatische Carbonsäurebispidinamide 191-199

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [^3H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [^3H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [^3H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [^3H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	150	453.6 \pm 14.8	> 5000	k. E.	> 10000
	191	k. E.	n. b.	k. E.	n. b.
	192	447.2 \pm 100.5	k. E.	k. E.	n. b.
	193	57.6 \pm 15.4	n. b.	> 10000	n. b.
	194	52.5 \pm 0.7	395.8	k. E.	n. b.
	195	232.6	> 5000	k. E.	n. b.
	196	46.9 \pm 7.2	> 1000	> 1000	n. b.

118 | Ergebnisse und Diskussion

	197	158.7 ± 29.2	253.5	k. E.	n. b.
	198	1.2 ± 0.4	81.1	k. E.	n. b.
	199	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-5

Die Verbindungen **191-199** besaßen keine Affinität für den $\alpha 7^*$ -Rezeptor. Für den $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptor liegen die Ergebnisse noch nicht vor. Die Verbindungen **192-198** besaßen eine Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor im nanomolaren Bereich ($K_i = 1.2-447$ nM) und waren darüber hinaus auch selektiv für diesen Rezeptorsubtyp. Verbindung **191** zeigte keine Affinität an den getesteten Rezeptorsubtypen und die Daten für Verbindung **199** liegen noch nicht vor. **194, 197-198** besaßen auch gegenüber dem $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor eine Affinität im nanomolaren Bereich (**194**: $K_i = 395.8$ nM, **197**: $K_i = 253.5$ nM, **198**: $K_i = 81.1$ nM). Ihre Affinität gegenüber dem $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor war 7.5fach (**194**), 1.6fach (**197**) bzw. 68fach (**198**) höher im Vergleich zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor. Verbindung **191** (Napht-1-yl-Derivat) hatte keine Affinität zum nAChR, wohingegen die Strukturanaloge Verbindung **192** (Napht-2-yl-Derivat) zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor eine Affinität im mittleren nanomolaren Bereich ($K_i = 447.2$ nM) besaß. Bei Verbindungen **193, 194** und **196** wurden K_i -Werte von etwa 50 nM für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ermittelt. Verbindung **195** zeigte einen K_i -Wert von 232.6 nM. Bei Verbindung **198** lag der K_i -Wert bei 1.2 nM für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp (s. Tab. 5.10).

Verbindung **196** ($K_i = 46.9$ nM) zeigte hohe Affinität und Selektivität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, verglichen mit Benzoyl-Bispidin **150**. Ihre Affinität ist vergleichbar mit der, von Verbindung **193**, die statt einem 3-Methylisoxazol-5-yl-Rest einen Phenylring an der Acetylseitenkette trägt. Verbindung **197** zeigte die geringste Selektivität (1.6fach) ($\alpha 4\beta 2^*$ vs. $\alpha 3\beta 4^*$) unter allen in dieser Arbeit dargestellten Verbindungen.

Im Vergleich zu Benzoyl-Bispidin **150**, besitzt Verbindung **191**, die einen 1-Naphtyl-Rest trägt, keine Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Möglicherweise ist der Raumanpruch des aromatischen Systems in dieser Position zu groß, so dass Verbindung **191** nicht mehr in die Bindungstasche

hineinpasst. Die Erweiterung des aromatischen Systems in Form eines 2-Naphtyl-Restes (Verbindung **192**) ergab nahezu dieselbe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 447.2$ nM) wie Verbindung **150** ($K_i = 454$ nM). Verglichen mit den drei Chinolin-Derivaten **176-178** zeigte sich, dass die Anwesenheit eines Stickstoffes im aromatischen System einen positiven Einfluss auf die Affinität zum nAChR besitzt, besonders für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. So besaß Verbindung **177** (s. Tab. 5.7) einen K_i -Wert von 162 nM am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, wohingegen Verbindung **191** keine Aktivität zeigte. Ebenso wurde für das 2-Naphthyl-Derivat **192** ein K_i -Wert von 447 nM am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ermittelt und der Einbau eines Stickstoffatoms in die Position 6 dieses Aromaten (Verbindung **178**) erhöhte die Affinität zu diesem Rezeptorsubtyp ($K_i = 81$ nM).

Eine größere Distanz zwischen dem aromatischen System und der Carbonylgruppe bzw. dem Bispidin-Grundgerüst (Verbindungen **193-199**) lieferte Verbindungen mit einer erhöhten Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ - und zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor, verglichen zur Basisverbindung **150**. Mit Verbindung **195**, die drei Methoxygruppen am Aromaten trägt, fällt dieser Effekt am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 233$ nM) verglichen mit der unsubstituierten Verbindung **194** ($K_i = 52.5$ nM) jedoch geringer aus. Von 3-Phenyl-Cytisin **200** (s. Abb. 5.8) ist bekannt, dass es selektiv an den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor bindet ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 128$ nM, $\alpha 3\beta 4^*$: > 10 μ M, $\alpha 7^*$: > 10 μ M, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$: $> 10\mu$ M).³²⁰ Vergleicht man Verbindung **193** mit 3-Phenyl-Cytisin **200**, so erkennt man, dass die flexible Verbindung **193** ebenfalls ein selektiver Ligand für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ist, der eine vergleichbare Affinität besitzt. Die Affinität von Verbindung **193** für den $\alpha 3\beta 4^*$ - und den $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptor ist jedoch noch nicht untersucht. Die zu Verbindung **193** homologe Verbindung **194** zeigte ebenfalls eine hohe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 52.5$ nM), besaß jedoch daneben auch eine Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor im nanomolaren Bereich ($K_i = 396$ nM).

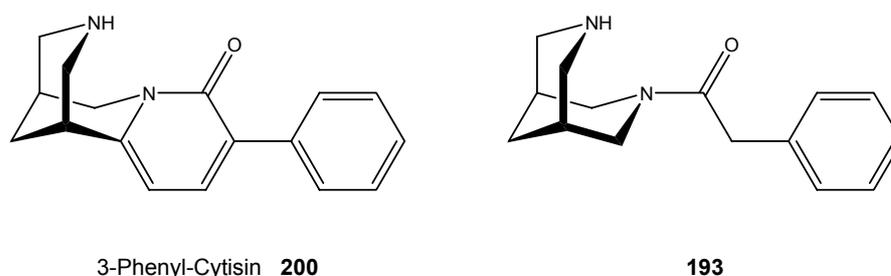


Abb. 5.8: Strukturvergleich von 3-Phenyl-Cytisin **200** mit dem Phenylacetyl-Bispidin **193**

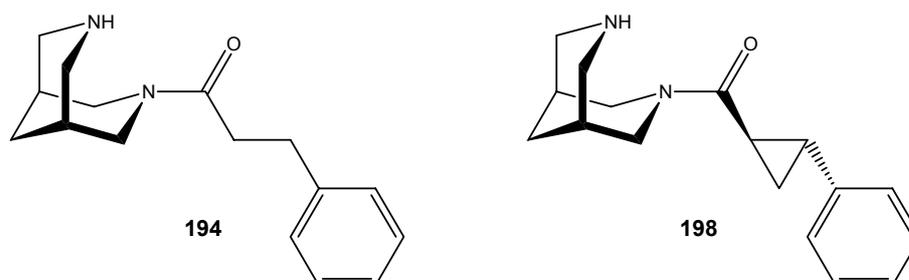


Abb. 5.9: Strukturvergleich zwischen den Bispidin-Derivaten **194** und **198**

Verbindung **198** hatte eine sehr hohe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 1.2 \text{ nM}$), war jedoch ebenfalls sehr affin zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 81.1 \text{ nM}$). Damit war Verbindung **198** fast 70fach selektiv für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Die hohe Affinität von Verbindung **198** ($K_i = 1.2 \text{ nM}$) ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass der Cyclopropylring den Phenylring in einer für die Rezeptorinteraktion optimalen geometrischen Anordnung hält. Verbindung **194** ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 52.5 \text{ nM}$), die diese Geometrie auch erreichen kann, besitzt jedoch eine niedrigere Affinität zu diesem Rezeptorsubtyp.

5.1.11 Bispidinsulfonamide 201-206

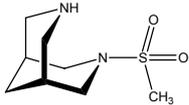
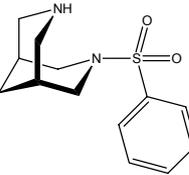
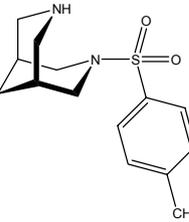
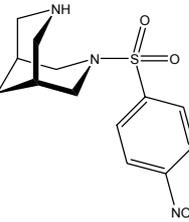
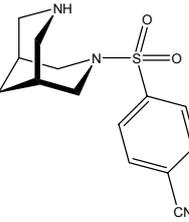
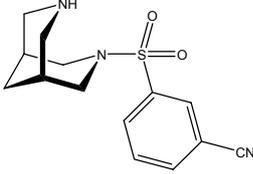
Ergebnisse und Diskussion

Die in Kapitel 3 beschriebenen Synthesen lieferten eine Gruppe von Bispidinsulfonamiden **201-206**, die ebenfalls in Konkurrenzexperimenten auf ihrer Interaktion mit dem nAChR getestet wurden. Die Ergebnisse sollten einen Hinweis darauf liefern, welchen Einfluss die Sulfonamidgruppe als Linker zwischen dem Bispidin-Grundgerüst und den Substituenten auf die Affinität und die Selektivität zu den verschiedenen nAChR-Subtypen besitzt.

Soweit die Verbindungen **201-206** vollständig getestet wurden, besaßen sie keine Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -, $\alpha 7^*$ und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptorsubtyp. Eine Ausnahme bildete Verbindung **206**, die eine Nitrogruppe in der para-Position des Aromaten trägt und am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor eine Affinität im mikromolaren Bereich zeigte ($K_i = 5.7 \text{ }\mu\text{M}$). Die Verbindungen **201** (Mesitylgruppe) und **202** (Phenylsulfonylgruppe) waren am $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp inaktiv. Dagegen wurden durch die Einführung von Substituenten (Methyl-, Nitro- oder Carbonitrilgruppe) in die para-Position bzw. durch die Einführung einer Carbonitrilgruppe in die meta-Position, Affinitäten im nanomolaren Bereich ($K_i = 135\text{-}970 \text{ nM}$) für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp ermittelt (s. Tab. 5.11).

Führt man in die meta- oder die para-Position des Phenylsulfonyl-Derivates **202** Elektronen schiebende oder ziehende Substituenten ein, lassen sich für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor K_i -Werte im nanomolaren Bereich ermitteln. Elektronen ziehende Substituenten in der para-Position (Nitrogruppe: Verbindung **203**, Carbonitrilgruppe: Verbindung **205**) bewirken tendenziell eine höhere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, als die Elektronen schiebende Methylgruppe (Verbindung **203**). Ein Vergleich zwischen den Verbindungen **205** und **206** zeigt, dass möglicherweise auch bei den Bispidinsulfonamiden Substituenten in der para-Position des Aromaten besser toleriert werden als in der meta-Position (vgl. dazu Kap. 5.1.5). Diese Hypothese müsste jedoch durch die Synthese und Testung weiterer Sulfonamid-Derivate untermauert werden.

Tab. 5.11: nAChR-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für Bispidinsulfonamide 201-206

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [^3H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [^3H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [^3H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [^3H]Epi Torp. calif. electroplax K_i -Wert [nM]
	201	> 5000	n. b.	n. b.	> 10000
	202	> 5000	> 10000	> 10000	n. b.
	203	858.3 \pm 66.7	k. E.	k. E.	n. b.
	204	135.2 \pm 8.1	5700	> 10000	> 10000
	205	645.1	k. E.	k. E.	n. b.
	206	970.4	k. E.	k. E.	n. b.

Anzahl unabhängiger Experimente n=2-5

Vergleicht man das Mesyl-Derivat **201** und das Phenylsulfonyl-Derivat **202** mit den Carbonsäureamid-analogen Verbindungen **144** (Acetyl-Bispidin) und **150** (Benzoyl-Bispidin), fällt auf, dass die Carbonsäureamid-Analoga **144** und **150** Affinität im nanomolaren zum Bereich für den

$\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor besitzen, während die Sulfonamid-Analoga **201** und **202** keine Affinität zum nAChR besitzen (vgl. Tab. 5.11 mit Tab. 5.2 und 5.3). Durch die Einführung von Substituenten in die para-Position des aromatischen Ringes, wurden sowohl für die Carbonsäureamid-Analoga als auch für die Sulfonsäureamid-Analoga K_i -Werte im nanomolaren Bereich erhalten. Dabei waren die K_i -Werte der Carbonsäureamid-Derivate **150**, **159**, **165** und **166** (s. Tab. 5.5) kleiner als die K_i -Werte der entsprechenden Sulfonamid-Derivate **202-205** (s. Tab. 5.11). So besaß z. B. das para-Nitro-Benzoesäure-Derivat **165** ($K_i = 15.9$ nM) eine höhere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor als das para-Nitro-Phenylsulfonsäure-Derivat **204** ($K_i = 135$ nM). Außerdem war die Rangfolge der K_i -Werte dieser vier para-substituierten Verbindungen in beiden Gruppen gleich. Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Sulfonsäureamidgruppe im Gegensatz zur Carbonsäureamidgruppe einen negativen Einfluss auf die Affinität von Bispidin-Derivaten zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor besitzt.

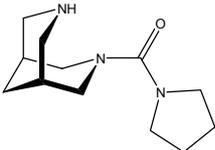
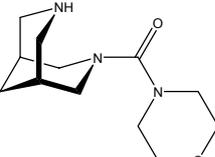
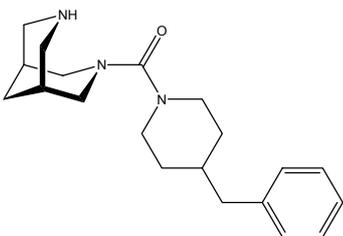
5.1.12 Bispidin-harnstoffe 207-209

Ergebnisse und Diskussion

Durch die in Kapitel 3 beschriebenen Synthesen konnten die Bispidin-harnstoff-Derivaten **207-209** synthetisiert und anschließend am nAChR auf ihre Interaktion mit dem Rezeptor untersucht werden. Hierbei sollte der Einfluss der Linkers (Harnstoffbrücke) auf die Affinität und die Selektivität zu den verschiedenen nAChR untersucht werden.

Von den drei dargestellten und getesteten Harnstoff-Derivaten **207-209** besaß lediglich das Morpholin-Harnstoff-Derivat **208** eine Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor im mikromolaren Bereich ($K_i = 3.8$ μ M). Daten für die Interaktion mit den weiteren nAChR-Subtypen liegen noch nicht vor. Sowohl das Pyrrolidin-Harnstoff-Derivat **207** als auch das Benzylpiperidin-Harnstoff-Derivat **209** zeigten keine Affinität zu den getesteten Rezeptorsubtypen (s. Tab. 5.12). Um eine Aussage über den Einfluss der Harnstoffbrücke als Linker auf die Affinität zum nAChR machen zu können, kann man Verbindung **207** mit dem entsprechenden Carbonsäureamid-Derivat **148** vergleichen. Dieses Carbonsäure-Analogon **148** (s. Tab. 5.2) besaß am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor einen K_i -Wert von 10.8 nM, während das Harnstoff-Derivat **207** an diesem Rezeptorsubtyp inaktiv war. Dadurch erhält man den Hinweis, dass auch die Harnstoffgruppe einen negativen Einfluss auf die Affinität von Bispidin-Derivaten zum nAChR besitzen könnte. Jedoch reicht der Vergleich zweier Verbindungen nicht aus, um diesen Einfluss ausreichend zu beschreiben.

Tab. 5.12: nAChR-Affinitätsdaten (K_i -Werte \pm SEM) für Bispidinarnstoffe 207-209

Struktur	Nr.	$\alpha 4\beta 2^*$ [^3H]Epi Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$\alpha 3\beta 4^*$ [^3H]Epi Nebenniere (Schwein) K_i -Wert [nM]	$\alpha 7^*$ [^3H]MLA Rattenhirn K_i -Wert [nM]	$(\alpha 1)_2\beta 2\gamma \delta$ [^3H]Epi Torp. calif. electoplax K_i -Wert [nM]
	207	> 5000	k. E.	k. E.	k. E.
	208	3800	n. b.	n. b.	n. b.
	209	> 10000	> 10000	> 5000	> 10000

Anzahl unabhängiger Experimente n=2

5.1.13 Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen

$\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp

- N-Benzyl-Bispidin **92** besaß keine Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp, während N-*t*-Boc-Bispidin **93** eine hohe Affinität ($K_i = 45$ nM) und Selektivität zeigte.

Bispidincarbonsäureamide

- Bispidinamide mit kurzen unverzweigten oder verzweigten Alkylketten (Verbindungen **144-147**) besaßen hohe Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 3.6$ - 50.3 nM).
- Von den cycloaliphatisch substituierten Bispidinamiden (**148** und **149**) wurde das Cyclopentyl-Derivat **148** toleriert ($K_i = 10.8$ nM). Das Cyclohexyl-Derivat **149** besaß keine Affinität.

- Benzoyl-Bispidin **150** zeigte Affinität ($K_i = 453 \text{ nM}$) und Selektivität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsibtyp.
- Durch Substitution der ortho-Position des Benzoyl-Derivates **150**, ging die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor verloren. Nur das ortho-Iod-Derivat **153** wurde toleriert.
- Elektronen ziehenden Substituenten in der meta-Position des Benzoyl-Bispidins **150** wurden toleriert. Das meta-Nitro-Derivat **154** besaß jedoch keine Affinität.
- Elektronen schiebende wie ziehende Substituenten in der para-Position des Benzoyl-Bispidins **150** erhöhten die Affinität. Durch die tert-Butylgruppe (Verbindung **160**) in der para-Position ging die Affinität verloren.
- Heteroaryl-Substituenten ergaben sehr unterschiedliche Affinitäten. 3-Pyridin-, Pyridazin- oder 5-Brom-3-Pyridin-Substituenten wurden toleriert. Fünfgliedrige Heterocyclen (Furan, Thiophen) besaßen eine hohe Affinität ($K_i = 21.4 \text{ nM}$ bzw. 17.6 nM), die Indolcarbonsäure-Derivate des Bispidins (**174** und **175**) dagegen keine Affinität. Die Chinolincarbonsäure-Derivate **176-178** besaßen K_i -Werte von 81.3 nM bis $> 1 \mu\text{M}$ für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.
- Die Einführung eines Spacers zwischen die Carbonylgruppe und den Aromaten (Verbindung **179**) erhöhte die Affinität ($K_i = 55.1 \text{ nM}$) im Vergleich zum Benzoyl-Bispidin **150**.
- Die Einführung Elektronen ziehender Gruppen in die ortho-, die meta- oder die para-Position des Zimtsäure-Derivates **179** (Verbindungen **181-186**) wurde toleriert.
- Der Austausch des Phenylringes der Verbindung **179** gegen einen 4-Pyridinring erhöhte die Affinität. Verbindung **187** besaß die höchste Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 1.03 \text{ nM}$) aller in dieser Arbeit getesteten Bispidin-Derivate.
- Der Austausch des Phenylringes der Verbindung **179** gegen fünfgliedrige Heterocyclen (Furan, Thiophen) wurde toleriert.
- Die Einführung eines 1-Naphthylrestes (Verbindung **191**) besaß keine Affinität, während ein 2-Naphthylrest toleriert wurde.
- Die homologen Verbindungen **193** und **194** besaßen eine erhöhte Affinität.
- Das 3-Methylisoxazol-5-ylacetyl-Derivat **196** besaß hohe Affinität und Selektivität.

Bispidinsulfonsäureamide

- Mesyl-Bispidin **201** und Phenylsulfonyl-Bispidin **202** besaßen keine Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.
- Die Einführung kleiner Elektronen schiebender oder ziehender Substituenten in die meta- oder die para-Position des Phenylringes von **202** resultierte in einer Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 135.2-970.4 \text{ nM}$).

$\alpha\beta_4^*$ -Rezeptorsubtyp

Bispidincarbonsäureamide

- N-Benzyl-Bispidin **92** zeigte Affinität und Selektivität zum $\alpha\beta_4^*$ -Rezeptorsubtyp
- N-*t*Boc-Bispidin **93** besaß Affinität im mikromolaren Bereich ($K_i = 1.2 \mu\text{M}$)
- Bispidinamide mit kurzen verzweigten oder unverzweigten Alkylketten (Verbindungen **144-147**) besaßen Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 265.9-828 \text{ nM}$).
- Das Cyclohexansäure-Bispidinamid **149** besaß keine Affinität zu diesem Subtyp.
- Benzoyl-Bispidin **150** und die ortho- (**151-154**) sowie die meta-substituierten Derivate (**155-158**) besaßen keine Affinität zum $\alpha\beta_4^*$ -Subtyp.
- Unter den para-substituierten Benzoyl-Bispidin-Derivaten besaßen das para-Phenyl- (**161**) und das para-Nitro-Derivat (**165**) eine Affinität im mikromolaren Bereich.
- Das disubstituierte Benzoyl-Bispidin **167** besaß keine Affinität zum $\alpha\beta_4^*$ -Subtyp.
- Die Substitution mit Heteroaromaten führte nur bei dem 2-Furancarbonsäure-Bispidinamid **171** zu einer Affinität im mikromolaren Bereich ($K_i = 2.2 \mu\text{M}$).
- Die Zimtsäure-Derivate **179-186** besaßen keine Affinität zum $\alpha\beta_4^*$ -Rezeptor.
- Unter den Derivaten **187-190**, die statt einem Benzenring (Verbindung **179**) einen unsubstituierten fünfgliedrigen Heteroaromaten trugen, besaß nur das 2-Thiophenylacryloyl-Derivat **189** eine Affinität zum $\alpha\beta_4^*$ -Rezeptor ($K_i = 2 \mu\text{M}$).
- Von den Derivaten **191-199** besaßen die Derivate **194** ($K_i = 395.8 \text{ nM}$) **197** ($K_i = 253.5 \text{ nM}$) und **198** ($K_i = 81.1 \text{ nM}$) Affinität zum $\alpha\beta_4^*$ -Rezeptor.

Bispidinsulfonsäureamide

- Nur das para-Nitrophenylsulfonyl-Bispidin **204** besaß eine Affinität ($K_i = 5.7 \mu\text{M}$) für den $\alpha\beta_4^*$ -Rezeptor.

Bispidinarnstoffe

- Kein Bispidinarnstoff **207-209** zeigte eine Affinität zum $\alpha\beta_4^*$ -Rezeptor.

α_7^* -Rezeptorsubtyp

- Unter den getesteten Verbindungen besaßen nur Acetyl-Bispidin **144** ($K_i = 636 \text{ nM}$) und para-Nitro-Benzoyl-Bispidin **165** ($K_i = 1.7 \mu\text{M}$) Affinität zum α_7^* -Rezeptor.

$(\alpha_1)_2\beta_1\gamma\delta$ -Rezeptorsubtyp

- Keine der getesteten Verbindungen besaß eine Affinität zum muskulären Rezeptorsubtyp

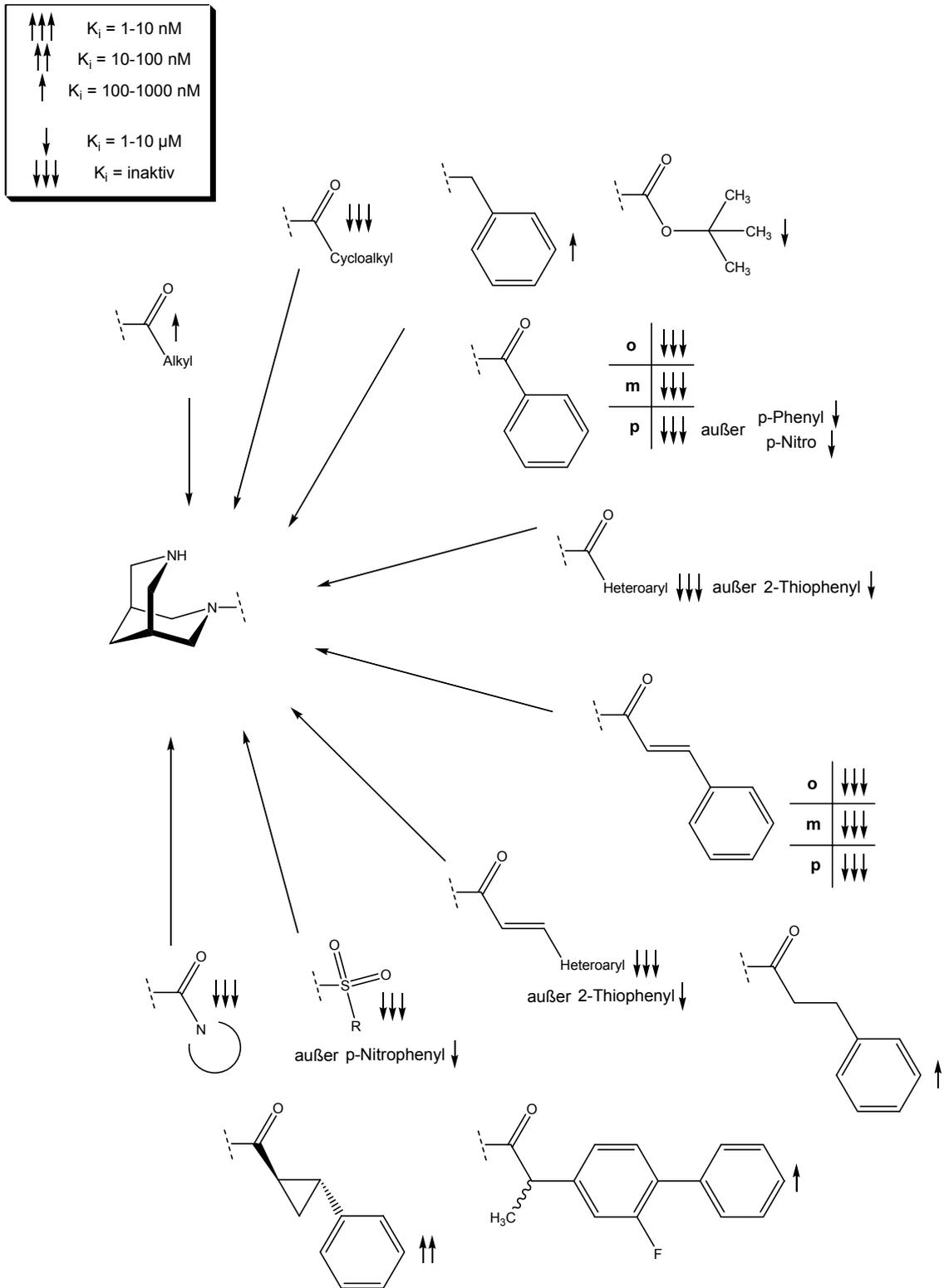


Abb. 5.11: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen für den $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor

5.2 Projekt II: Funktionelle Testung und in-vivo-Studien von Cytisin-Derivaten

Elektrophysiologische Untersuchungen und Verhaltensexperimente zu antidepressivem Verhalten an C57BL/6J-Mäusen wurden für die zwei Cytisin-Derivate, 5-Brom-Cytisin **52** und 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53**, durchgeführt. Das Ziel war es $\alpha 4\beta 2^*$ -selektive Partialagonisten zu finden, die als mögliche Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Antidepressiva fungieren könnten. Die elektrophysiologischen Untersuchungen wurden im Labor von *Roger L. Papke* an der Universität von Florida (Gainesville, USA) durchgeführt. Die In-vivo-Untersuchungen der Substanzen in Tiermodellen fanden an der Yale University (New Haven, USA) im Labor von *Marina R. Picciotto* statt und wurden von *Yann S. Mineur* durchgeführt.

3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** zeigte in funktionellen Studien (patch-clamp-Experimente an *Xenopus laevis* Oocyten) nur eine geringe Wirksamkeit an $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptoren (2-8 %, $EC_{50} = 33 \mu M$) und zusätzlich geringe Effekte an $\alpha 3\beta 4^*$ - und $\alpha 7^*$ -Subtypen, im Vergleich zu Cytisin **34** (5-10 %, $EC_{50} = 12.7 \mu M$). Im Gegensatz dazu wies 5-Brom-Cytisin **52** eine ungefähr doppelt so hohe Wirksamkeit (ca. 18 %, $EC_{50} = 38 \mu M$) für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor auf, im Vergleich zu 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53**. Auch an den weiteren nAChR-Subtypen $\alpha 3\beta 4^*$ (66 %) und $\alpha 7^*$ (ca. 40 %) zeigte 5-Brom-Cytisin **52** eine höhere Aktivität als 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53**.

Beide Cytisin-Derivate **52** und **53** sowie Cytisin **34** wurden in den drei Tiermodellen *tail-suspension test*, *forced swim test* und *novelty-suppressed feeding test* auf antidepressive Eigenschaften untersucht. Beim *tail suspension test* werden die Schwänze der Mäuse mit Klebeband an einem Bügel befestigt. Danach hängt man sie für 6 Minuten kopfüber auf und misst die Zeit, die sie in dieser Position reglos verbringen. Beim *forced swim test* werden die Versuchstiere in einen Zylinder mit Wasser platziert, in dem sie den Boden nicht berühren können und dessen Rand zu hoch ist, um darüber zu entkommen. Während einer 15-minütigen Testdauer wird die Zeit gemessen, die sie reglos im Wasser verharren. Im *novelty-suppressed feeding test*, wird Mäusen nach einem 24-stündigen Nahrungsentzug Futter angeboten, das sich in der Mitte eines Käfigs auf einer hellen Unterlage befindet. Solche Stellen werden von Mäusen für gewöhnlich zum Fressen vermieden und in diesem Tiermodell wird nun die Zeit gemessen, bis die Mäuse beginnen zu fressen. Bei allen drei Tests werden jeweils behandelte mit nicht behandelten Mäusen verglichen. Die Abnahme der Zeit, die die Mäuse reglos verharren bzw. bis sie sich an das Futter trauen und beginnen zu fressen, bedeutet einen antidepressiven Effekt.

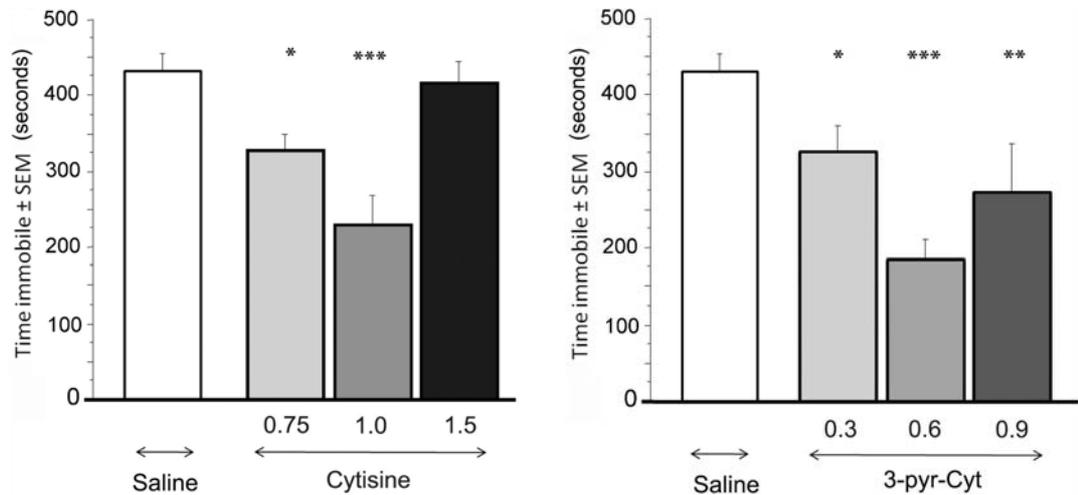


Abb. 5.12: Effekte von Cytisin **34** und 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** für den forced swim test (y-Achsen: Zeit, die die Versuchstiere reglos verharren, x-Achse: Injizierte Dosis in mg/kg KG)

3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** besaß eine höhere antidepressive Potenz als 5-Brom-Cytisin **52** und die Leitsubstanz Cytisin **34** (s. Abb. 5.13). 5-Brom-Cytisin **52** war jedoch nur bei intrathekalen Applikationen wirksam, was bedeutet, dass die Substanz nicht fähig war, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Stabilitätsuntersuchungen lieferten keinen Hinweis für eine schnelle Zersetzung der Verbindung. Da das 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** ein viel versprechendes Aktivitätsprofil sowohl hinsichtlich der Ergebnisse aus funktionellen Studien, als auch aus den Verhaltensexperimenten zeigte, wurde die Aufklärung der Ursache der Unwirksamkeit von 5-Brom-Cytisin **52** nicht weiter verfolgt. 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** kann als neue Leitsubstanz für die Entwicklung neuer Antidepressiva betrachtet werden. Es scheint jedoch ein so genanntes „fine tuning“ hinsichtlich der Pharmakologie von nAChR-Liganden nötig zu sein, um neue potentielle Therapeutika hervorbringen zu können, mit denen depressive Erkrankungen erfolgreicher behandelt werden können.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Nicotinische Acetylcholinrezeptoren (nAChR) sind ligandgesteuerte Ionenkanäle, die sich aus fünf Untereinheiten zusammensetzen. Durch die Kombination verschiedener Untereinheiten ($\alpha 1$ - $\alpha 10$, $\beta 1$ - $\beta 4$, γ , δ ϵ), entstehen zahlreiche Subtypen, die unterschiedliche Funktionen und Verteilungen im ZNS, im PNS sowie in einigen nicht-neuronalen Zelltypen besitzen. Sie sind an zahlreichen komplexen physiologischen Prozessen beteiligt, wie z. B. an kognitiven Vorgängen, Bewegungsabläufen und der Schmerzwahrnehmung. Funktionsstörungen der nACh-Rezeptoren werden mit neurodegenerativen Erkrankungen, der Nicotinabhängigkeit, Entzündungen und Krebs eindeutig in Zusammenhang gebracht. Daher sind nAChR zu einem interessanten Target für die Arzneistoffforschung geworden.

Insbesondere die Behandlung der Tabakabhängigkeit ist laut des letzten „*WHO Report on the Global Tobacco Epidemic*“ von hoher Dringlichkeit. Der Konsum von Tabakprodukten ist ein hoher Risikofaktor für sechs der acht führenden Todesursachen weltweit und wird in den nächsten Jahren mehr als acht Millionen Menschen jährlich töten, d. h. mehr als Tuberkulose, HIV/AIDS und Malaria zusammen. Weltweit sind nur wenige Wirkstoffe für die Behandlung der Tabakabhängigkeit zugelassen. Diese Substanzen zeigen keine hohe Erfolgsrate und weisen zudem teilweise starke Nebenwirkungen auf, die durch die Interaktion mit unterschiedlichen nAChR-Subtypen verursacht werden. Die Entwicklung von Vareniclin **123** (Champix™), dem neusten Arzneistoff zur Behandlung der Tabakabhängigkeit, ist auf das Alkaloid Cytisin **34** zurückzuführen. Dieser Naturstoff, der als Tabex® seit Jahrzehnten in Bulgarien für dieselbe Indikation zugelassen und ein partieller Agonist am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ist, hat momentan mit diesem funktionellen Profil einen großen Einfluss auf die Entwicklung von neuen Therapeutika zur Behandlung der Tabakabhängigkeit. Vor kurzem wurde außerdem eine antidepressive Wirksamkeit für Cytisin **34** in Tiermodellen demonstriert. Cytisin **34** ist damit zu einer der wichtigsten Leitsubstanzen auf dem Gebiet der nAChR geworden.

In der vorliegenden Arbeit wurden daher, ausgehend von der Leitstruktur Cytisin **34**, neue Template (Bispidin-Template) und Substanzen entwickelt, synthetisiert und deren Struktur-Wirkungsbeziehungen mit Hilfe von K_i -Werten aus Radioligand-Bindungsstudien beschrieben. Zusätzlich wurden die Synthesen für drei Cytisin-Derivate, 5-Brom-Cytisin **52**, 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **53** und 5-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **54**, die in unserer Arbeitsgruppe in der Vergangenheit bereits entwickelt wurden, im Hinblick auf eine effizientere Reaktionsführung verbessert. Dies sollte gewährleisten, dass eine ausreichende Menge an Substanz für funktionelle Experimente sowie für Tierversuche (Depressionsmodelle) zur Verfügung stand.

Synthese und Struktur-Wirkungsbeziehungen von Bispidin-Derivaten

Bispidin-Derivate sind in der Literatur aus vielen Publikationen und Patenten bekannt. Als Liganden für den nAChR sind sie jedoch weitgehend unerforscht. Bekannte Bispidin-Derivate als Liganden für den nAChR tragen meist einen substituierten 3-Pyridinring, der direkt an den Stickstoff gebunden ist.

Synthese

Es wurden Synthesen für neue Bispidin-Derivate (allgemeine Struktur: **51**) entwickelt. Diese bestehen aus dem Bispidin-Grundgerüst, wobei nur eins der beiden Stickstoffatome eine weitere Substitution trägt, d. h. dieser Stickstoff ist in die Funktion eines Linkers eingebunden, der das Bispidin-Grundgerüst mit unterschiedlichen Substituenten verbindet. Die Substituenten stellen dabei Alky-, Cycloalkyl-, Aryl-, Heteroaryl- oder Styrylreste dar. Als Linker wurden die Carbonsäureamid-, Sulfonsäureamid- oder die Harnstofffunktion gewählt. Damit ergab sich eine breite Vielfalt an unterschiedlichen Verbindungen. Ein Teil der Bispidinamid-Derivate enthielt einen zusätzlichen Spacer (Vinyl-Gruppe).

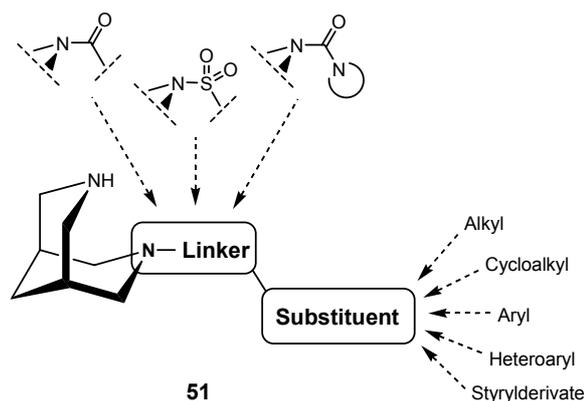


Abb. 6.1: Allgemeine Strukturformel der neuen Bispidin-Derivate 51

Es wurde eine effiziente Route zu neuen Bispidin-Derivaten in einer fünf- bis sechsstufigen Synthese gefunden. Daraus gingen 63 neue und 4 bekannte Bispidin-Derivate hervor, die unterschiedliche Substituenten und funktionelle Gruppen besaßen.

- N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **87** konnte in einer Bis-Mannich-Reaktion aus N-tBoc-4-Piperidon **85**, Formaldehyd **69** und Benzylamin **86** nach einer Vorschrift von *Stead et al.* synthetisiert werden. Die Ausbeute von 78 % war mit der Literatur identisch. Durch die Reduktion der Lösungsmittelmenge konnte die Synthese auch in einem 10 g Maßstab durchgeführt werden, ohne das Ausbeuteverlust aufzutreten. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie.
- Die Reduktion von N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **87** zu N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidin **88** wurde durch in eine temperatur- und zeitmodifizierte Huang-Minlon-Variante

der Wolff-Kishner-Reduktion in einer Ausbeute von 73 % erreicht. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie.

- N-*t*Boc-Bispidin **93** wurde aus N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** durch katalytische Hydrierung mit Wasserstoff und Palladium auf Aktivkohle (Pd/C) als Katalysator hergestellt. Die Umsetzung verlief quantitativ und nach einer Filtration war keine weitere Aufreinigung erforderlich.
- Die ersten drei Synthesestufen waren auch in größeren Maßstäben (1. Stufe: 10 g Maßstab; 2. Stufe: 20 g Maßstab; 3. Stufe: 10 g Maßstab) durchführbar und lieferten N-*t*Boc-Bispidin **93** in 57 % Gesamtausbeute über drei Stufen.
- Für die Synthese von *t*Boc-geschützten Bispidinamiden wurden drei Derivatisierungsmethoden mit N-*t*Boc-Bispidin **93** entwickelt.
 - Die erste Methode war die Aminolyse von Carbonsäurechloriden mit N-*t*Boc-Bispidin **93**. Dies lieferte *t*Boc-geschützte Bispidinamide **99** in 80-99 % Ausbeute. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch.
 - Eine zweite Methode nutzte CDI als Kopplungsreagenz. Dieses wurde mit N-*t*Boc-Bispidin **93** umgesetzt. Das säulenchromatographisch aufgereinigte N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** wurde mit Methyljodid aktiviert und mit unterschiedlichen Carbonsäuren umgesetzt. *t*Boc-geschützte Bispidinamide **99** wurden chromatographisch aufgereinigt. Die Ausbeuten betragen 31-89 %.
 - Mit einer dritten Methode wurden N-*t*Boc-Bispidin **93** mit Carbonsäuren und DCC als Kopplungsreagenz umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhielt man *t*Boc-geschützten Bispidinamide **99** 23-98 % Ausbeute.
- *t*Boc-geschützte Bispidinsulfonamide **114** wurden durch Aminolyse von N-*t*Boc-Bispidin **93** und Sulfonylchloriden synthetisiert. Die Produkte wurden säulenchromatographisch aufgereinigt. Die Ausbeuten betragen 65-98 %.
- *t*Boc-geschützte Harnstoffe **118** wurden aus cyclischen Aminen und CDI als Kopplungsreagenz hergestellt. Zunächst wurden die Amine mit CDI umgesetzt. Anschließend wurde mit Mel aktiviert und dann mit N-*t*Boc-Bispidin **93** umgesetzt. Die Produkte wurden säulenchromatographisch aufgereinigt. Die Ausbeuten betragen 69-99 %.
- Die Abspaltung der *t*Boc-Schutzgruppe erfolgte mit HCl/Dioxan oder ZnBr₂/DCM und verlief quantitativ.
- Abschließend wurden die Bispidin-Derivate, außer **167**, **203-207**, in die Fumarate überführt. Dies führte zu einer verbesserten Handhabbarkeit und Stabilität der Verbindungen. Daneben wurden die Produkte durch die Überführung in das Fumarat auch aufgereinigt. Die Reinheit der Fumarate betrug meist > 99.5 %. Die Ausbeuten lagen bei 28-95 %.
- Die erhaltenen Verbindungen wurden mittels NMR, LCMS, IR, Schmelzpunkt und Elementaranalyse vollständig charakterisiert.

Radioligand-Bindungsstudien und Struktur-Wirkungsbeziehungen

Die synthetisierten Bispidin-Derivate wurden in Radioligand-Bindungsstudien (Kompetitionsexperimenten) auf ihre Affinität zu vier nAChR-Subtypen ($\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 3\beta 4^*$, $\alpha 7^*$, $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$) getestet. Die gefundenen Affinitäten und Selektivitäten führten zu folgenden Struktur-Wirkungsbeziehungen.

- Bispidin-Derivate, die eine Affinität für den nAChR zeigten, waren selektiv für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.
- N-Benzyl-Bispidin **92** war dagegen selektiv für den $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 569.6$ nM).
- Die Bispidinamide **144-147** mit kurzen unverzweigten und verzweigten Alkylketten und N-*t*Boc-Bispidin **93** zeigten hohe Affinität ($K_i = 3.6-50.3$ nM) für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor, sowie eine geringere Affinität am $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 266-1276$ nM).
- Das Cyclopentyl-Derivat **148** wurde am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor toleriert ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 10.8$ nM), wohingegen das Cyclohexyl-Derivat **149** keine Affinität zum nAChR besaß.
- Die Benzoyl-Bispidin **150** war selektiv für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 453.6$ nM)
 - Die Einführung von Elektronen schiebenden oder ziehenden Substituenten in die ortho-Position des Benzoyl-Bispidins **150** resultierte in einem Verlust der Affinität für den nAChR. Eine Ausnahme war das ortho-Iod-Derivat **153** ($\alpha 4\beta 2^*$: $K_i = 293$ nM)
 - Die Einführung von Elektronen ziehenden Substituenten in die meta-Position von Benzoyl-Bispidin **150** wurde für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor toleriert ($K_i = 147.1-386.4$ nM). Eine Ausnahme war das meta-Nitro-Derivat **158**, das keine Affinität zum nAChR besaß.
 - Durch die Einführung von Elektronen ziehenden sowie schiebenden Substituenten in die para-Position von Benzoyl-Bispidin **150** erhöhte die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 15.9-221$ nM), mit Ausnahme des para-*tert*-Butyl-Derivates **160**, das keine Affinität zum nAChR zeigte. Das para-Phenyl-Derivat **162** ($K_i = 1089.5$ nM) und das para-Nitro-Derivat **165** ($K_i = 4.2$ μ M) besaßen daneben auch eine Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor.
 - Das disubstituierte Bispidin-Derivat **167** besaß keine Affinität zum nAChR.
- Bispidinamide mit Heteroaryl-Substituenten ergaben unterschiedliche Affinitäten. 3-Pyridin-, Pyridazin- und 5-Brom-3-Pyridin-Substituenten wurden am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor toleriert ($K_i = 73.2-454.8$ nM). Das Furan- und das Thiophen-Derivat besaßen hohe Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp ($K_i = 21.4$ nM bzw. 17.6 nM). Die Indolcarbonsäure-Derivate des Bispidins (**174** und **175**) besaßen keine Affinität zum nAChR. Die Chinolincarbonsäure-Derivate **176-178** besaßen K_i -Werte von 81.3 nM bis > 1 μ M für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor.
- Von den Bispidinamiden mit Heteroaryl-Substituenten **168-178** besaß nur das Furansäure-Derivat **171** eine Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 2242.5$ nM).

- Bispidinamide mit einem Spacer **179-190** hatten eine höhere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 55.1-296.6$ nM) als das Benzoyl-Bispidin **150** ($K_i = 453.6$ nM).
 - Die Einführung von Elektronen ziehenden Gruppen in die ortho-, meta- oder para-Position des Zimtsäure-Derivates **179** (Verbindungen **181-186**) wurde toleriert ($K_i = 36.9-171.8$ nM).
 - Der Austausch des Phenylringes des Zimtsäure-Derivates **179** gegen einen 4-Pyridinring erhöhte die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Verbindung **187** besaß die höchste Affinität aller getesteten Bispidin-Derivate **92, 93, 144-199, 201-209** für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp ($K_i = 1.03$ nM). Der Austausch gegen fünfgliedrige Heterocyclen (Furan, Thiophen) wurde für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor toleriert ($K_i = 57.1-287.5$ nM). Das 2-Thiophen-Derivat **189** besaß außerdem eine Affinität zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor.
- Das 1-Naphthyl-Bispidinamid **191** besaß keine Affinität für den nAChR, während der 2-Naphthyl-Derivat **192** am $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor toleriert wurde ($K_i = 447.2$ nM).
- Die homologen Verbindungen **193** ($K_i = 57.6$ nM) und **194** ($K_i = 52.5$ nM) besaßen eine höhere Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor als das Benzoyl-Bispidin **150**. Die Einführung von drei Methoxygruppen in die 3-, 4- und 5-Position des Aromaten verringerte die Affinität verglichen mit Verbindung **194**.
- Das 3-Methylisoxazol-5-ylacetyl-Derivat **196** besaß hohe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Subtyp ($K_i = 46.9$ nM). Das Derivat **197** mit einem Flurbiprofen-Substituenten besaß hohe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ - ($K_i = 158.7$ nM) und zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 253.5$ nM). Es besaß die geringste Selektivität aller getesteten Bispidin-Derivate. Das Derivat **198** besaß ebenfalls eine sehr hohe Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ - ($K_i = 1.2$ nM) und zum $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor ($K_i = 81.1$ nM).
- Mesyl-Bispidin **201** und Phenylsulfonyl-Bispidin **202** besaßen keine Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor. Die Einführung kleiner Elektronen schiebender oder ziehender Substituenten in die meta- oder die para-Position des Phenylringes von Verbindung **202** resultierte in einer Affinität im nanomolaren Bereich ($K_i = 135.2-970.4$ nM).
- Insgesamt besaßen die Bispidinsulfonamide **201-205** eine geringere Affinität als die entsprechend substituierten Bispidinamide **144, 150, 159, 165, 166**.
- Nur das para-Nitrophenylsulfonyl-Bispidin **204** besaß auch eine Affinität ($K_i = 5.7$ μ M) für den $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor.
- Die Bispidin-harnstoff-Derivate **207-209** besaßen keine Affinität zum nAChR, außer das Morpholin-Harnstoff-Derivate **209** für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor ($K_i = 3.8$ μ M).

- Kein Bispidin-Derivat außer Acetyl-Bispidin **144** ($K_i = 636 \text{ nM}$) und 4-Nitro-Benzoyl-Bispidin **165** ($K_i = 1.7 \text{ }\mu\text{M}$) besaß eine Affinität für den $\alpha 7^*$ -Rezeptor.
- Kein Bispidin-Derivat besaß eine Affinität zum muskulären $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ -Rezeptor.

Ein direkter Vergleich von Bispidinamid- und Bispidinsulfonamid-Derivaten zeigte, dass Bispidinamide eine höhere Affinität für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor besitzen als es die gleich substituierten Bispidinsulfonamid-Derivate zeigten. Für die Bispidin-harnstoffe ist es noch nicht möglich, ein Urteil zu fällen, da es noch zu wenig Verbindungen dieser Gruppe gibt.

Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass Bispidinamide mit kleinen aliphatischen und cycloaliphatischen Substituenten eine Affinität im niedrigen nanomolaren Bereich zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor besitzen, jedoch ebenfalls mit nanomolarer Affinität an den $\alpha 3\beta 4^*$ -Rezeptor binden. Bei den Benzoyl-Bispidin-Derivaten wird die ortho-Substitution kleiner Substituenten nicht toleriert, während in der meta-Position kleine Elektronen ziehende Substituenten toleriert werden und in der para-Position führen kleine Elektronen ziehende wie schiebende Substituenten zu einer Erhöhung der Affinität. Die Einführung eines Vinyl-Spacers wirkt sich positiv auf die Affinität zum $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor aus. Heteroaromatisch substituierte Bispidinamide ergeben sehr unterschiedliche Affinitäten für den nAChR. Die Sulfonamidgruppe als Linker wird z. T. toleriert, führt aber insgesamt zu einer niedrigeren Affinität zum nAChR im Vergleich mit ihren Carbonsäure-Analogen. Die Harnstoffgruppe als Linker lieferte bisher keine positiven Resultate.

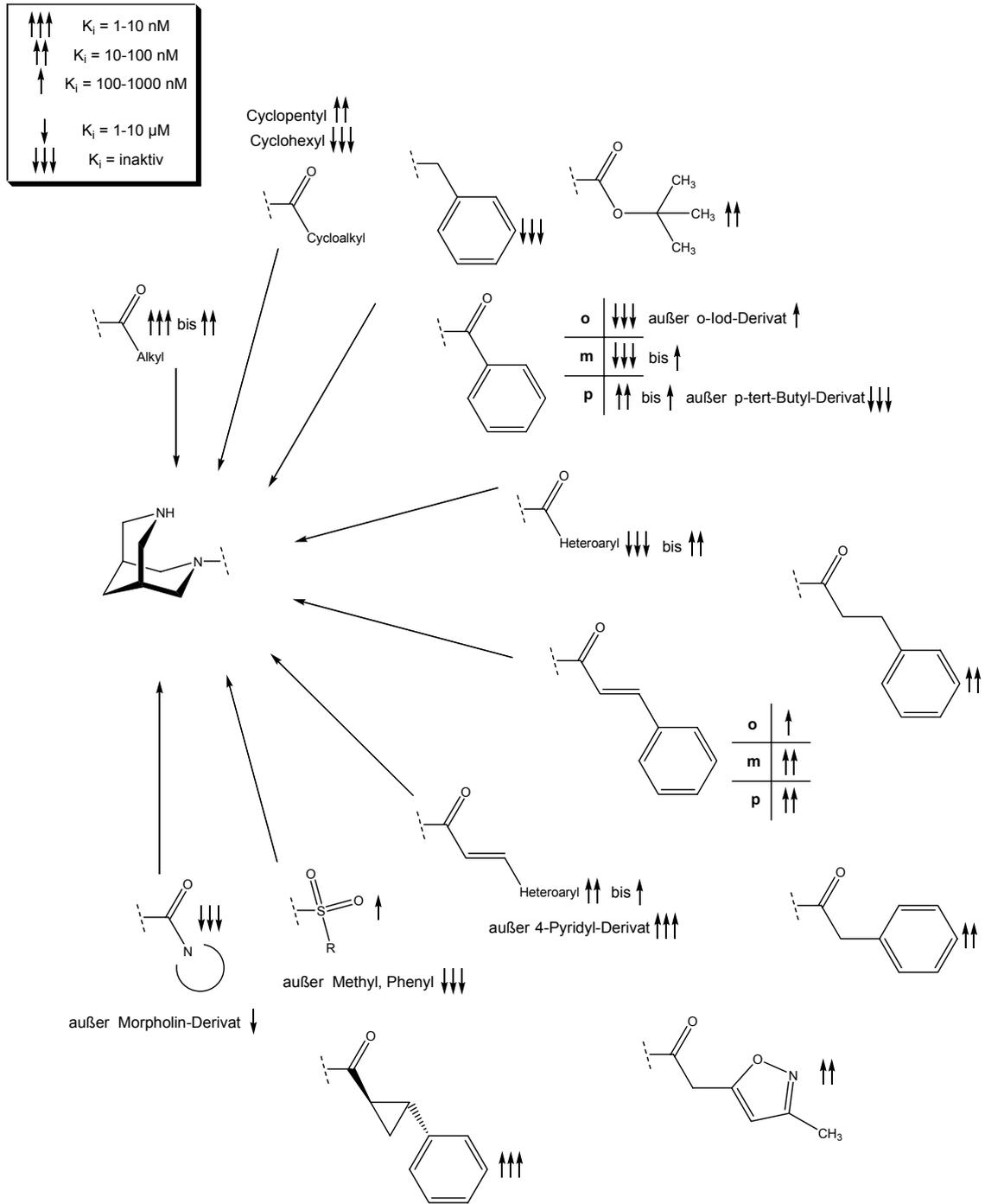


Abb. 6.2: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptorsubtyp

Projekt II: Synthese von Cytisin-Derivaten

In einem zweiten Projekt wurden bereits bekannte Cytisin-Derivate synthetisiert und in funktionellen Experimenten und Tiermodellen zu antidepressivem Verhalten untersucht. Für die Synthese der Cytisin-Derivate wurde auf Methoden unserer Arbeitsgruppe zurückgegriffen, die bereits publiziert waren.⁵³⁵ Die Synthesen konnten im Hinblick auf eine effizientere Reaktionsführung verbessert werden.

- Aus 8 kg Goldregensamen und -schoten konnten in acht Ansätzen mit Ausbeuten in Höhe von 0.49-0.99% insgesamt eine Menge von 56 g (-)-Cytisin **34** isoliert werden. Die alkalische Extraktion wurde dabei mit einer säulenchromatographischen Aufreinigung abgeschlossen.
- Für die Einführung der *t*Boc-Schutzgruppe in das Cytisin **34** wurde eine neue Methode etabliert, die Di-*tert*-butyldicarbonat und Iod als Katalysator benutzt. Dabei wurden Ausbeuten von 92 % erreicht. Zur Aufreinigung genügte eine wässrige Aufarbeitung.
- Für die Synthese der bromierten N-*t*Boc-Cytisin-Derivat **139** und **140** kam eine etablierte Methode zum Einsatz. Beide Derivate wurden in einer Reaktion mit NBS als ein Gemisch von 55.4-66.4 % 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** und 32.1-41.9 % 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** in einer Gesamtausbeute von 90.2-99.6 % synthetisiert. Die Synthese ließ sich ohne Ausbeuteverluste in größeren Maßstäben durchführen. Die Aufreinigung wurde auf einer Normalphasen-Kieselgelsäule etabliert, wodurch sich gleichzeitig größere Produktmengen aufreinigen ließen.
- Die palladiumkatalysierte Suzuki-Miyaura Kreuzkupplung wurde mit 3-Pyridinboronsäure, einer Base und DME/Wasser oder DMF/Wasser in einer Synthesemikrowelle durchgeführt. Für die Reaktionen von 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** und 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** wurden Optimierungen hinsichtlich der Reaktionszeit und -temperatur, sowie der Wahl der Base und des Lösungsmittels durchgeführt.
- Für die Synthese von 3-(Pyridin-3-yl)-N-*t*Boc-Cytisin **141** brachte die Optimierung keine Verbesserung. Die Ausbeute lag bei 68.3 % für die Verwendung von Ba(OH)₂ als Base, DMF/Wasser (3:1) als Lösungsmittel und einer Temperatur von 90 °C für 120 Minuten. Die beschriebene Ausbeute lag bei 66 % für die Verwendung von K₃PO₄ in DME/Wasser, 80 °C und 60 Minuten.
- Die Synthese von 5-(Pyridin-3-yl)-N-*t*Boc-Cytisin **142** konnte durch die Verwendung von Ba(OH)₂ in DME/Wasser (3:1), 90 °C und 120 Minuten verbessert werden und brachte 73.4 % Ausbeute. Die beschriebene Ausbeute lag bei 32 % bei der Verwendung von Ba(OH)₂ in DMF/Wasser, 80 °C für 90 Minuten.

- Die Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe gelang quantitativ, nach der etablierten Methode. Dabei wurde Wasser als Lösungsmittel verwendet und die Schutzgruppe in der Mikrowelle bei 150 W und 150 °C thermisch abgespalten.

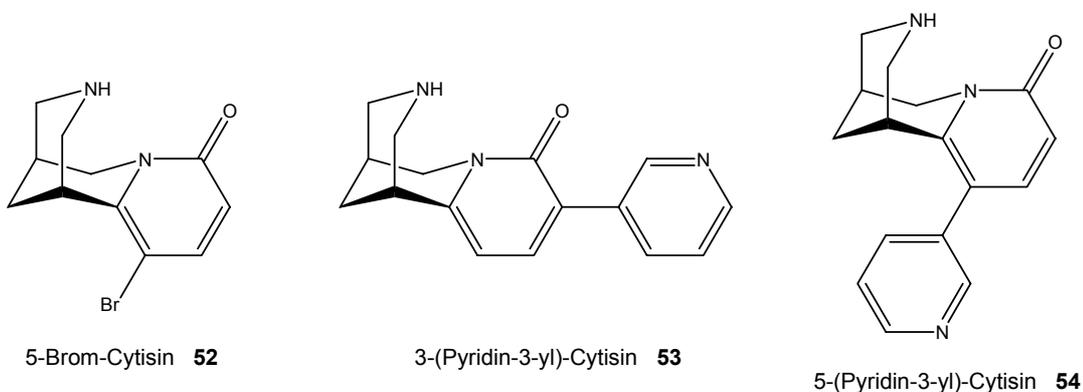


Abb. 6.3: Cytisin-Derivate **52**, **53** und **54** für funktionelle Testungen und Tierversuche

- Die Cytisin-Derivate **52-54** wurden für die funktionelle Testung und Tierversuche in ausreichender Menge und hoher Reinheit zur Verfügung gestellt. Die Substanzen **52** und **53** zeigten in funktionellen Experimenten (patch-clamp-Technik an *Xenopus laevis* Oocyten) ein partialagonistisches Profil für den $\alpha 4\beta 2^*$ -Rezeptor und antidepressive Wirkung in verschiedenen Mausmodellen zu antidepressivem Verhalten. 5-Brom-Cytisin **52** war nur nach intrathekalen Applikation wirksam, während das 3-(3-Pyridin-3-yl)-Derivat **53** eine ca. 1.5fach stärkere Wirkung als die Leitsubstanz Cytisin **34** zeigte. Da Verbindung **53** andere nAChR-Subtypen nicht in dem Umfang aktiviert wie die Leitsubstanz Cytisin **34**, wird es nun als neue Leitsubstanz mit potenziell weniger Nebenwirkungen betrachtet.
- Das 5-(Pyridin-3-yl)-Cytisin **54** wird in zukünftigen in-vivo-Experimenten getestet werden.

Ausblick

In zukünftigen Projekten werden die neuen Bispidin-Derivate elektrophysiologisch und in unterschiedlichen Tiermodellen untersucht werden (diverse Kooperationsprojekte). Ausgewählte Verbindungen dieser Substanzbibliothek zeigen in einem ersten elektrophysiologischen „Screening“ interessante Profile an nAChR. Diese Untersuchungen sollen ausgeweitet und vertieft werden, um das pharmakologische Profil der Bispidin-Derivate besser zu verstehen.

7 Experimenteller Teil

7.1 Allgemeine Angaben

Für die Synthese und Charakterisierung der nachfolgenden Verbindungen wurden folgende Materialien und Geräte verwendet.

Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen *ABCR* (Karlsruhe, Deutschland), *Acros Organics* (Geel, Belgien), *Alfa Aesar* (Karlsruhe, Deutschland), *Fluka* (Buchs, Schweiz), *Merck* (Darmstadt, Deutschland) und *Sigma-Aldrich* (Steinheim, Deutschland) über die *Zentrale Chemikalienversorgung Endenich* (ZVE) der Universität Bonn bezogen. Diese wurden mit einer Reinheit von > 97 % ohne weitere Aufreinigung in den Synthesen verwendet. Chemikalien mit Reinheiten < 97 % wurden mit Standardmethoden destilliert, umkristallisiert oder auf einer kurzen Kieselgelsäule chromatographisch aufgereinigt⁵³⁶. Freie Amine wurden unmittelbar vor Gebrauch in einer Kugelrohrdestille *Glasofen B-585 Kugelrohr* der Firma *Büchi* (Flawil, Schweiz) destilliert.

Lösungsmittel

Grundsätzlich wurden die verwendeten Lösungsmittel in der vom Hersteller gelieferten Qualität eingesetzt. Dichlormethan wurde vor Gebrauch über CaH_2 frisch destilliert. Methanol und Tetrahydrofuran wurden unter Argonatmosphäre über Natrium refluxiert, anschließend destilliert und über Molekularsieb (3 Å) gelagert. 1,4-Dioxan, Acetonitril, Et_2O , Isopropanol und Toluol wurden in analytischer Qualität in den Synthesen eingesetzt. Et_2O , PE und Toluol wurden zusätzlich durch Einpressen von Natriumdraht getrocknet. Wasser wurde stets in deionisierter Form eingesetzt. Für den Betrieb der HPLC-Anlage und zum Lösen von Endprodukten wurde stets Wasser aus der Demineralisationsanlage *PureLab Plus UV* der Firma *Elga Labwater* (High Wycombe, UK) benutzt.

Ultra-Turrax-Homogenisierung

Bei der Isolierung von (-)-Cytisin **34** aus Goldregensamenpulver wurde zur Zerkleinerung und Homogenisierung des Pflanzenmaterials ein *Ultra-Turrax® T50 DPX* Homogenisierer der Firma *IKA® GmbH & Co. KG* (Staufen, Germany) eingesetzt.

Mikrowellen-Synthesen

Die Mikrowellensynthesen wurden in dem Mikrowellen-Laborgerät *Discover* der Firma *CEM* (Kamp-Lintfort, Deutschland) in dafür vorgesehenen, dickwandigen und dicht verschlossenen Glasgefäßen mit einem maximalen Volumen von 10 bzw. 80 ml durchgeführt.

Festphasen Extraktion

Festphasenextraktionen wurden mit *Bakerbond spe™ Extraction Columns Octadecyl (C₁₈)* der Firma *Mallinckrodt Baker B.V.* (Deventer, Niederlande) durchgeführt. Als Lösungsmittel wurden Mischungen aus Wasser und Methanol (40:60) benutzt.

Dünnschichtchromatographie

Zur Reaktions- und Reinheitskontrolle sowie zur Bestimmung von R_F-Werten wurden die Substanzen auf Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtete Aluminiumplatten der Firma *Merck* (Darmstadt, Deutschland) aufgetragen. Als Fließmittel dienten die jeweils angegebenen Lösungsmittelgemische. Zur Detektion diente UV-Licht der Wellenlängen 254 bzw. 366 nm, wässrige Kaliumpermanganat-Lösung (1 %) sowie Dragendorff's Reagenz.

Präparative Säulenchromatographie

Die präparative Aufreinigung der Substanzen wurde je nach Substanzmenge auf unterschiedlich großen Säulen durchgeführt. Als stationäre Phase wurde *Kieselgel 60* (Korngröße 0,040 – 0,063 mm / 230-400 mesh ASTM) der Firma *Macherey-Nagel* (Düren, Deutschland) verwendet. Die flüssige Phase bestand aus Mischungen von DCM und MeOH im Verhältnis 40:1, 20:1 oder 9:1 oder Mischungen von PE und EtOAc im Verhältnis 4:1 oder 3:1. Zur Erhöhung der Fließgeschwindigkeit wurden das obere Ende der Säule bzw. des Lösungsmittelvorratsbehälters mit einer elektrischen Aquariumsluftpumpe *Schego WS2* der Firma *Schego* (Offenbach am Main, Deutschland) verbunden. Fraktionen wurden in Reagenzgläsern mit dem Fraktionssammler Typ *Pharmacia LKB Super Frac* der Firma *GMI* (Ramsey, MI, USA) oder mit einem *Gilson® FC 203B* der Firma *Gilson* (Middeltown, WI, USA) gesammelt und nach DC-Kontrolle vereinigt. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer *Vacuubrand CVC2* der Firma *Vacuubrand* (Wertheim, Deutschland) entfernt.

Präparative Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Aufreinigung einiger Produkte wurde mit einem HPLC-System durchgeführt, das folgende Systemkomponenten enthielt: Pumpe (*Wellchrome K-1800, Knauer GmbH, Berlin, Deutschland*), Probenauftragsschleife mit 10 mL Volumen (*Knauer GmbH, Berlin, Deutschland*), Photo-spektrometer (*Wellchrome K-2600, Knauer GmbH, Berlin, Deutschland*), Fraktionssammelventil (*Knauer GmbH, Berlin, Deutschland*). Die stationäre Phase bestand aus einer Vorsäule (*Eurospher 100-10 C18*, Abmessungen 30 x 20 mm innerer Durchmesser, *Knauer GmbH, Berlin, Deutschland*) und einer Hauptsäule (*Eurospher 100-10 C18*, Abmessungen 250 x 20 mm innerer Durchmesser, *Knauer GmbH, Berlin, Deutschland*). Die mobile Phase wurde aus MeOH (HPLC-Qualität) der Firma *Merck* (Darmstadt, Deutschland) und deionisiertem Wasser in einer Gradientenmischkammer gemischt. Die Flussrate betrug 15 mL/min.

Gefriertrocknung

Gefriertrocknungen wurden mit der Gefriertrocknungsanlage *Alpha 1-4 LSC* der Firma *Martin Christ* (Osterröde, Deutschland) durchgeführt.

Hydrierapparat

Katalytische Hydrierungen wurden mit einem Wasserstoffgenerator *Hogen® GC Hydrogen Generator* der Firma *Proton Energy Systems* (Wallington, CT, U.S.A.) durchgeführt. Dieser Wasserstoff wurde über ein Reduzierventil mit dem Reaktionsgefäß *Micro Vial* (10 mL) der Firma *Kimble & Kontes* (Owens, IL, U.S.A.) verbunden. Größere Ansätze wurden in einem 500 ml fassenden Druckgefäß durchgeführt, in das der Wasserstoff aus einer Druckgasflasche über Reduzierventile eingeleitet wurde. Für einen vollständigen Austausch der Luft gegen eine Wasserstoffatmosphäre wurde das Reaktionsgefäß drei- bis viermal hintereinander mit Wasserstoff bis zu einem Druck von 4 bar befüllt und anschließend bis auf 1 bar abgelassen, ohne dass dabei Luft einströmen konnte.

LC-Massenspektroskopie

Die Reinheit und Identität der Zwischen- und Endprodukte wurden mit einem Massenspektrometer bestimmt, das einer HPLC nachgeschaltet war. Das HPLC-Gerät *Agilent 1100* der Firma *Agilent* (Santa Clara, CA, USA) war mit einer analytischen Säule *Luna C-18* (Länge 50 mm, Breite 2 mm, Korngröße 3 µm) der Firma *Phenomenex* (Torrance, CA, USA) ausgestattet. Die Substanz (ca. 1 mg) wurde in 1 ml Methanol, Wasser oder Ammoniumformiat-Puffer (1 mM) gelöst. 10 µl dieser Lösung wurden auf die Säule gegeben und mit einem steigenden Gradienten von MeOH (10 % in den ersten 10 Minuten, dann ansteigend auf 100 % innerhalb der nächsten 10 Minuten und weitere 10 Minuten bei 100 % MeOH) auf der Säule aufgetrennt. Es wurde ein Massenspektrometer *API 2000* der Firma *Applied Biosystems* (Darmstadt, Deutschland) benutzt und der Analyt wurde per ESI (Electron Spray Ionisation) ionisiert. Die Analysen wurden von Frau Marion Schneider und Herrn Frank Umbach durchgeführt.

NMR-Spektroskopie

Die aufgenommenen NMR-Spektren wurden auf einem *Advance DRX 500* der Firma *Bruker BioSpin* (Rheinstetten, Deutschland) im Pharmazeutischen Institut Bonn aufgenommen. Die ^1H -Spektren wurden bei einer Frequenz von 500 MHz aufgenommen, die ^{13}C -Spektren bei 125 MHz. Die Kopplungskonstanten der ausgewerteten Spektren wurde in Hertz [Hz] angegeben, die chemischen Verschiebungen in parts per million [ppm]. Die verwendeten Lösungsmittel DMSO- d_6 , MeOD und CDCl_3 dienten als interner Standard: ^1H : δ [ppm] DMSO- d_6 : 2,50; MeOD: 3,31; CDCl_3 : 7,26. ^{13}C : δ [ppm] DMSO- d_6 : 39,52; MeOD: 49,0; CDCl_3 : 77,16.⁵³⁷ Bei Messungen in D_2O wurde Natriumtrimethylsilylpropionat als externer Standard unmittelbar vor den Probenmessungen vermessen und als Referenz auf 0.0 ppm eingestellt. Die Messungen wurden von Frau Sabine Terhart-Krabbe, Frau Annette Reiner und Frau Marion Schneider durchgeführt. Die Signalaufspaltungen werden mit folgenden Abkürzungen wiedergegeben: s = Singulett, d = Duplett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, br = breit.

Infrarot-Spektroskopie

Die angefertigten Spektren wurden mit dem FTIR-Gerät *Tensor 27* der Firma *Bruker Optic* (Ettlingen, Deutschland) im Pharmazeutischen Institut Bonn aufgenommen.

Elementaranalyse

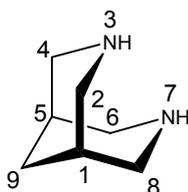
Die Mikroanalysen der Elemente Kohlen-, Wasser- und Stickstoff wurden auf einem Elementaranalysegerät *Elementar VarioEL* der Firma *Elementar Analysensysteme* (Hanau, Deutschland) im Pharmazeutischen Institut Bonn von Herrn Passgang durchgeführt.

Schmelzpunktbestimmung

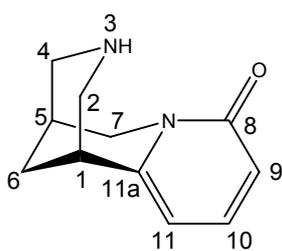
Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunktbestimmungsgerät der Firma *Weiss-Gallenkamp* (Loughborough, UK) bestimmt und sind unkorrigiert wiedergegeben.

IUPAC-Nomenklatur und Zählweise

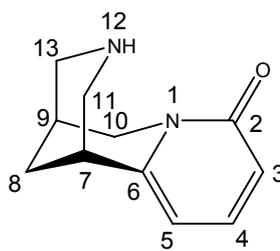
Bispidin wird in der IUPAC-Nomenklatur als 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan bezeichnet. Diese Verbindung und ihre Derivate werden in dieser Arbeit als Bispidin und Bispidin-Derivate benannt. Die IUPAC-Zählweise der Bispidine ist wie folgt festgelegt.



Cytisin wird nach der IUPAC-Nomenklatur als 1,2,3,4,5,6-Hexahydro-1,5-methano-pyrido[1,2-a][1,5]diazocin-8-on benannt. In dieser Arbeit werden diese Strukturen jedoch als Cytisin und Cytisin-Derivaten benannt. Von der IUPAC-Zählweise der Cytisine wird in dieser Arbeit zugunsten einer alternativen, traditionellen Zählweise genommen.



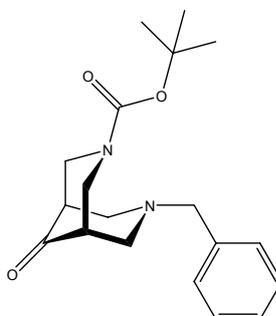
IUPAC-Nummerierung



alternative Nummerierung

7.2 Synthese von Bispidin-Zwischenprodukten

7.2.1 N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidinon **88**



Synthese: Zu einer unter Rückfluss siedenden Suspension von Paraformaldehyd (3.32 g, 110.6 mmol) in 30 ml MeOH wird unter einer Argonatmosphäre eine Lösung aus 4-oxo-1-piperidincarbonsäure-*tert*-butylester **85** (10.0 g, 50.2 mmol), Benzylamin **86** (5.5 ml, 50.4 mmol) und Eisessig (2.9 ml, 50.7 mmol), gelöst in 40 ml MeOH, getropft. Anschließend wird eine Stunde erhitzt, bevor eine weitere Portion Paraformaldehyd (3.32 g, 110.6 mmol) dazugegeben wird und weitere 5 Std. erhitzt wird. Nach dem Abkühlen der Reaktion wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der klebrige, rote Rückstand wird in 150 ml Et₂O gelöst und zweimal mit 80 ml wässriger Kalilauge (1N) ausgeschüttelt. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dreimal mit 50 ml Et₂O ausgeschüttelt. Dann werden alle organischen Phasen vereinigt und mit MgSO₄ getrocknet. Nach dem Filtrieren wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Eine Aufreinigung des zurückbleibenden roten Öls wird säulenchromatographisch auf Kieselgel mit einem Gemisch aus PE und EtOAc (3:1) als Fließmittel vorgenommen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittelgemischs erhält man zunächst ein leicht gelbliches Öl, das sehr langsam einen weißen Feststoff bildet.

Ausbeute: 13.0 g (78 %) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.89 (DCM:MeOH 9:1), 0.76 (DCM:MeOH 20:1), 0.36 (PE:EtOAc 3:1)

Smp.: 83 °C (Lit.: k. A.)

IUPAC: 7-Benzyl-9-oxo-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-3-carbonsäure-*tert*-butylester

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.53 (s, 9 H); 2.42 (br m, 2 H); 2.70 (br m, 2 H); 3.17 (br m, 2 H); 3.27 (br d, *J* = 12.5 Hz, 1 H); 3.35 (br d, *J* = 12.5 Hz, 1 H); 3.52 (br m, 2 H); 4.41 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 4.57 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 7.24-7.38 (m, 5H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 28.7 (+); 47.7 (+); 50.0 (-); 50.6 (-); 58.8 (-); 59.1 (-); 62.0 (-); 80.2 (C_{quart}); 127.4 (+); 128.5 (+); 128.9 (+); 137.5 (C_{quart}); 154.9(C=O); 213.6 (C=O)[†]

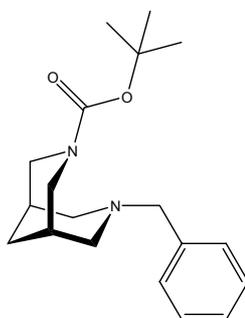
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3069 u. 3037 u. 3019 (v CH_{arom.}), 2983 u. 2936 u. 2862 (v CH₂), 2758, 1731 u. 1695 (v C=O), 1457 (δ CH₂), 1422, 1365, 1238, 1172, 1117, 989, 898, 765, 742, 701, 455[†]

MS (ESI): [M+H⁺] 331.3[†]

EA: C₁₉H₂₆N₂O₃

ber.:	C: 69.06 %	H: 7.93 %	N: 8.48 %
gef.:	C: 68.68 %	H: 8.07 %	N: 8.23 %

7.2.2 N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidin 89



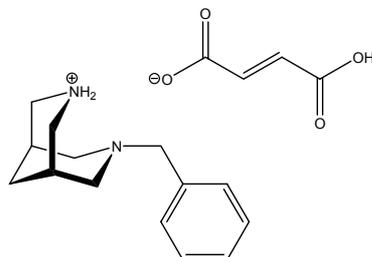
Synthese: N-Benzyl-N'-tBoc-Bispidinon **88** (18.9 g, 57.2 mmol) werden zusammen mit Natriumhydroxid (10.0 g, 250 mmol) und 80%iger Hydrazinhydratlösung (10.0 ml, 160 mmol) in 150 ml Diethylenglykol gelöst und 1,5-2 Std. bei 125 °C erhitzt. Danach wird der Rückflusskühler gegen einen Wasserabscheider (Dean-Stark) mit aufgesetztem Rückflusskühler ausgetauscht und das Reaktionsgemisch wird 8 Stunden auf 140 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen werden 250 ml Wasser und die entstehende Lösung wird viermal mit 150 ml Toluol ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden einmal mit 30 ml gesättigter NaHCO₃-

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^{350, 384}

Lösung und anschließend zweimal mit 30 ml Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wird das Rohprodukt säulenchromatographisch auf Kieselgel und einem Gemisch aus PE und EtOAc (4:1) aufgereinigt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittelgemischs erhält man zunächst ein leicht gelbliches Öl, das langsam einen Feststoff bildet.

Ausbeute:	13.24 g (73 %) – weißer Feststoff		
R_f-Wert:	0.86 (DCM:MeOH 9:1), 0.64 (DCM:MeOH 20:1), 0.56 (PE:EtOAc 3:1)		
Smp.:	66 °C (Lit.: 62-65 °C) [†]		
IUPAC:	7-Benzyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-3-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester		
¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 1.52 (s, 9 H); 1.61 (m, 1 H); 1.66 (m, 1 H); 1.79 (br s, 1 H); 1.87 (br s, 1 H); 2.16 (br d, $J = 10.9$ Hz, 1 H); 2.22 (br d, $J = 10.9$ Hz, 1 H); 2.89 (br d, $J = 10.8$ Hz, 1 H); 2.99 (br d, $J = 10.9$ Hz, 1 H); 3.05 (ddd, $J = 13.1, 3.9, 1.7$ Hz, 1 H); 3.10 (ddd, $J = 13.1, 3.9, 1.7$ Hz, 1 H); 3.30 (d, $J = 13.5$ Hz, 1 H); 3.44 (d, $J = 13.5$ Hz, 1 H); 3.99 (br d, $J = 13.1$ Hz, 1 H); 4.16 (br d, $J = 13.1$ Hz, 1 H); 7.19-7.34 (m, 5 H) [†]		
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 28.9 (+); 29.2 (+); 31.3 (-); 47.7 (-); 48.6 (-); 58.9 (-); 59.2 (-); 63.7 (-); 78.9 (C_{quart}); 126.8 (+); 128.2 (+); 128.7 (+); 139.1 (C_{quart}); 155.2 (C=O) [†]		
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3062 u. 3027 u. 3003 ($\nu \text{CH}_{\text{arom.}}$), 2976 u. 2916 u. 2851 (νCH_2), 2763, 1681 ($\nu \text{C=O}$), 1452 (δCH_2), 1422, 1363, 1265, 1237, 1181, 1127, 988, 873, 764, 736, 700, 551 [†]		
MS (ESI):	[M+H ⁺] 317.1 [†]		
EA:	$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$		
	ber.:	C: 72.12 %	H: 8.92 % N: 8.85 %
	gef.:	C: 72.22 %	H: 8.93 % N: 8.82 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^{350, 384}

7.2.3 N-Benzyl-Bispidin Fumarat **92**

Synthese: N-Benzyl-N'-*t*-Boc-Bispidin **89** (192 mg, 0.61 mmol) wird in 6 ml 1,4-Dioxan und 6 ml HCl/1,4-Dioxan (4M) über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 20 ml wässriger Kalilauge (1N) gelöst und dreimal mit je 20 ml Et₂O ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält ein leicht gelbliches Öl (131 mg, 0.60 mmol, 99 %). Das N-Benzyl-Bispidin **92** (131 mg, 0.60 mmol) wird nach AAV 6 aus 2 ml eines Gemisches von Et₂O und MeOH (9:1) als Fumarat gefällt.

Ausbeute: 139 mg (69 %); (68 % über 2 Schritte) – leicht gelblicher Feststoff

R_f-Wert: Salz

Smp.: 167-170 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Benzyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, MeOD) δ [ppm]: 1.77 (br m, 1 H); 1.93 (br m, 1 H); 2.10 (br s, 2 H); 2.46 (dt, *J* = 11.9, 2.4 Hz, 2 H); 3.13 (br m, 2 H); 3.25 (dt, *J* = 12.8, 2.8 Hz, 2 H); 3.43 (br m, 2 H); 3.53 (s, 2 H); 6.69 (s, 2.00H); 7.26-7.38 (m, 5 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, MeOD) δ [ppm]: 28.6 (+); 31.3 (-); 50.5 (-); 59.0 (-); 64.0 (-); 128.6 (+); 129.6 (+); 130.5 (+); 136.2 (+); 138.2 (C_{quart}); 171.5 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3060 u. 3028 (ν CH_{arom.}), 2933 u. 2817 (ν CH₂), 1708 u. 1636 (ν C=O), 1457 (δ CH₂), 1373, 1098, 986 u. 970 (trans-C=C-), 917, 739, 703

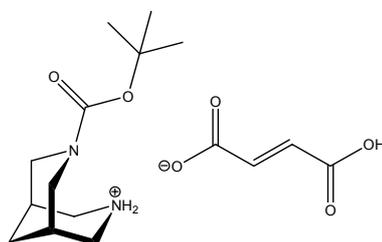
MS (ESI): [M+H⁺] 217.4 (Base)

EA: C₁₄H₂₀N₂ * 1.0 C₄H₄O₄ (332.40)

ber.: C: 65.04 % H: 7.28 % N: 8.43 %

gef.: C: 64.82 % H: 7.26 % N: 8.25 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein³⁶³

7.2.4 N-*t*Boc-Bispidin Fumarat **93**

Synthese: N-Benzyl-N'-*t*Boc-Bispidin **88** (1.5 g, 4.74 mmol) wird in 7 ml MeOH gelöst und zusammen mit ca. 1 g Pd/C 4 Std. bei RT unter einem Druck von 10 psi H₂ gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit einer Filterfritte (Porengröße 4) filtriert. Der Filtrückstand wird mit ca. 50 ml MeOH gewaschen und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält als Produkt ein klares Öl (1.05 g, 4.64 mmol, 98 %). Dieses Öl (161 mg, 0.71 mmol) wird nach AAV 6 aus 5 ml eines Gemisches von Et₂O und MeOH (9:1) als Fumarat gefällt.

Ausbeute: 201 mg (82 %); (80 % über 2 Schritte) – weißer Feststoff[†]

R_f-Wert: Salz

Smp.: 170 °C (Zers.)

IUPAC: 7-*tert*-Butyloxycarbonyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.47 (s, 9H); 1.86 (br d, *J* = 13.5 Hz, 1 H); 1.96 (br d, *J* = 13.5 Hz, 1 H); 2.25 (br s, 2 H); 3.17 (br d, *J* = 13.2 Hz, 2 H); 3.31 (br d, *J* = 13.2 Hz, 2 H); 3.48 (br d, *J* = 13.2 Hz, 2 H); 4.05 (br d, *J* = 13.2 Hz, 2 H); 6.70 (s, 2.00H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 30.3 (-); 30.5 (+); 50.7 (-); 50.9 (-); 85.3 (C_{quart}); 137.6 (+); 161.0 (C=O); 174.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3438 (ν OH), 2976 u. 2926 u. 2873 u. 2848 (ν CH₂), 1691 (ν C=O), 1657, 1595, 1456 (δ CH₂), 1390, 1332, 1240, 1172, 1134, 985 (trans-C=C-), 782, 647, 603, 510, 461

MS (ESI): [M+H⁺] 226.9 (Base)

EA: C₁₂H₂₂N₂O₂ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.1 H₂O (344.19)

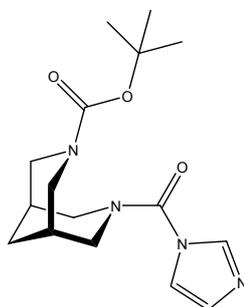
ber.: C: 55.83 % H: 7.67 % N: 8.14 %

gef.: C: 55.58 % H: 7.54 % N: 8.15 %

(Anm.: Für die weiteren Synthesen wurde N-*t*Boc-Bispidin **93** als freies Amin verwendet.)

[†] Keine analytischen Daten in der Literatur veröffentlicht ^{326, 350, 379, 538, 539}

7.2.5 N-Carbonylimidazol-N'-tBoc-Bispidin 108



Synthese: N-tBoc-Bispidin **93** (1.50 g, 6.63 mmol) wird mit CDI (1.18 g, 7.29 mmol) in 20 ml frisch destilliertem THF gelöst und 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch auf Kieselgel und einer Mischung aus DCM und MeOH (20:1) aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 1.98 g (93 %) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.55 (DCM:MeOH 9:1), 0.23 (DCM:MeOH 20:1), 0.0 (PE:EtOAc 3:1)

Smp.: 143 °C

IUPAC: 7-(1*H*-imidazol-1-carbonyl)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-3-carbonsäure-*tert*-butylester

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.43 (s, 9 H); 1.87 (s, 2 H); 1.96 (br s, 2 H); 3.01 (br m, 1 H); 3.09 (br m, 1 H); 3.26 (br s, 2H); 3.97 (br s, 1 H); 4.25 (br m, 3 H); 7.07 (s, 1 H); 7.33 (s, 1 H); 7.89 (s, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 27.8 (+); 28.5 (+); 31.2 (+); 47.4 (-); 48.8 (-); 50.2 (-); 51.8 (-); 80.3 (C_{quart}); 118 (+); 129.4 (+); 137.0 (+); 151.8 (C=O); 155.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3141 u. 3103 (ν CH_{arom.}), 2988 u. 2924 u. 2851 (ν CH₂), 1675 (ν C=O), 1434 (δ CH₂), 1365, 1309, 1249, 1136, 991, 900, 871, 774, 747, 657, 643, 555

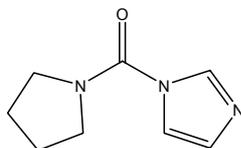
MS (ESI): [M+H⁺] 321.1, [M-H⁺] 319.0

EA: C₁₆H₂₄N₄O₃

ber.: C: 59.98 % H: 7.55 % N: 17.49 %

gef.: C: 59.68 % H: 7.67 % N: 17.25 %

7.2.6 N-Carbonylimidazol-pyrrolidin 116a



Synthese: CDI **100** (1.95 g, 12 mmol) wird zusammen mit Pyrrolidin (0.78 g, 11 mmol) in 20 ml THF gelöst und 16 Std. unter Rückfluss erhitzt. Danach wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 30 ml DCM gelöst und zweimal mit 10 ml Wasser gewaschen. Anschließend wird die organische Phase mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 1.63 g (90 %) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.78 (DCM:MeOH 9:1), 0.42 (DCM:MeOH 20:1), 0.0 (PE:EtOAc 3:1)

Smp.: 54-55 °C (Lit.: 50-52 °C)[†]

IUPAC: (1*H*-imidazol-1-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanon

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 1.98 (m, 4 H); 3.62 (m, 4 H); 7.06 (dd, $J = 1.4, 0.9$ Hz, 1 H); 7.34 (t, $J = 1.4$ Hz, 1 H); 8.01 (s, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 25.7 (-); 48.0 (-); 117.7 (+); 129.6 (+); 136.8 (+); 149.8 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3138 u. 3115 (v $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 2978 u. 2882 (v CH_2), 1672 (v C=O), 1423, 1361, 1339, 1259, 1224, 1098, 1071, 1013, 851, 750, 659, 591[†]

MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}^+]$ 166.1

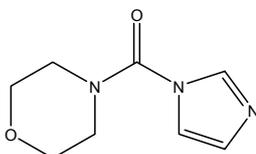
EA: $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}$

ber.: C: 58.17 % H: 6.71 % N: 25.44 %

gef.: C: 58.07 % H: 6.83 % N: 24.59 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein⁴¹²

7.2.7 N-Carbonylimidazol-morpholin 116b



Synthese: CDI **100** (1.95 g, 12 mmol) wird zusammen mit Morpholin (0.96 g, 11 mmol) in 20 ml THF gelöst und 16 Std. unter Rückfluss erhitzt. Danach wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 30 ml DCM gelöst und zweimal mit 10 ml Wasser gewaschen. Anschließend wird die organische Phase mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 1.29 g (65 %) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.73 (DCM:MeOH 9:1), 0.39 (DCM:MeOH 20:1), 0.0 (PE:EtOAc 3:1)

Smp.: 89-90 °C (Lit.: 83-84 °C)[†]

IUPAC: (1*H*-imidazol-1-yl)(morpholin-1-yl)methanon

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 3.62 (m, 4 H); 3.75 (m, 4 H); 7.10 (m, 1 H); 7.19 (t, J = 1.4 Hz, 1 H); 7.87 (s, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 46.9 (-); 66.6 (-); 117.9 (+); 130.1 (+); 137.0 (+); 151.0 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3128 u. 3107 (v $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 2961 u. 2929 u. 2870 (v CH_2), 1681 (v C=O), 1433 (δ CH_2), 1305, 1289, 1270, 1251, 1113, 1066, 995, 860, 837, 784, 752, 662, 595, 522

MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}^+]$ 181.9

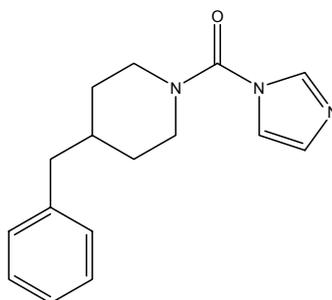
EA: $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2$

ber.: C: 53.03 % H: 6.12 % N: 23.19 %

gef.: C: 53.12 % H: 6.13 % N: 22.93 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein⁴¹²

7.2.8 N-Carbonylimidazol-4-benzylpiperidin 116c



Synthese: CDI **100** (1.95 g, 12 mmol) wird zusammen mit 4-Benzylpiperidin (1.93 g, 11 mmol) in 20 ml THF gelöst und 16 Std. unter Rückfluss erhitzt. Danach wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 30 ml DCM gelöst und zweimal mit 10 ml Wasser gewaschen. Anschließend wird die organische Phase mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 2.57 g (87 %) – weißer Feststoff[†]

R_f-Wert: 0.93 (DCM:MeOH 9:1), 0.59 (DCM:MeOH 20:1), 0.0 (PE:EtOAc 3:1)

Smp.: 64 °C

IUPAC: (4-Benzylpiperidin-1-yl)(1H-imidazol-1-yl)methanon

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 1.30 (m, 2 H); 1.77 (m, 2 H); 1.83 (m, 1 H); 2.59 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H); 2.96 (m, 2 H); 4.09 (br d, $J = 13.1$ Hz, 2 H); 7.07 (dd, $J = 1.4$, 0.9 Hz, 1 H); 7.14 (m, 2 H); 7.18 (t, $J = 1.4$ Hz, 1 H); 7.22 (m, 1 H); 7.29 (m, 2 H); 7.84 (t, $J = 1.0$ Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 32.0 (-); 38.1 (+); 42.9 (-); 47.0 (-); 118.1 (+); 126.4 (+); 128.5 (+); 129.2 (+); 129.7 (+); 137.0 (+); 139.6 (C_{quart}); 151.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3154 u. 3115 u. 3060 u. 3025 ($\nu \text{CH}_{\text{arom.}}$), 2951 u. 2930 u. 2912 u. 2872 (νCH_2), 1680 ($\nu \text{C=O}$), 1464 u. 1430 (δCH_2), 1302, 1276, 1233, 1212, 1109, 1070, 997, 828, 746, 699, 655, 588, 532, 494

MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}^+]$ 270.1, $[\text{M}-\text{H}^+]$ 268.0

EA: $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$

ber.: C: 71.35 % H: 7.11 % N: 15.60 %

gef.: C: 71.19 % H: 7.34 % N: 15.10 %

[†] Keine analytischen Daten in der Literatur veröffentlicht⁵⁴⁰

7.3 Allgemeine Arbeitsvorschriften für Bispidin-Derivate

7.3.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift 1 (AAV 1) zur Synthese von N-substituierten N'-tBoc-Bispidin-Derivaten

N-tBoc-Bispidin **93** (230 mg, 1mmol) wird in einem 10 ml Kolben in 5 ml Toluol gelöst und mit einem Silikonseptum verschlossen. Unter Rühren wird bei RT erst TEA (101 mg, 1mmol) und anschließend das Säurechlorid (1mmol) entweder in flüssiger Form oder gelöst in 1-2 ml Toluol dazugegeben. Nach 2 Stunden wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wird säulenchromatographisch auf einer Kieselgelsäule mit einer Mischung aus DCM und MeOH (40:1, 20:1 oder 9:1) aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

7.3.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift 2 (AAV 2) zur Synthese von N-substituierten N'-tBoc-Bispidin-Derivaten

N-Carbonylimidazol-N'-tBoc-Bispidin **108** (320 mg, 1mmol) wird in einem 10 ml Kolben in 2 ml ACN und 2 ml THF gelöst und mit einem Silikonseptum verschlossen. Anschließend wird Mel (568 mg, 4mmol) dazugegeben und bei RT für 24 Stunden gerührt. Am folgenden Tag werden die Lösungsmittel und das überschüssige Mel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 4 ml ACN gelöst, mit TEA (101 mg, 1 mmol) und der Carbonsäure (1 mmol) versetzt und 12-120 Stunden bei RT gerührt. Danach wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wird säulenchromatographisch auf einer Kieselgelsäule mit einer Mischung aus DCM und MeOH (40:1, 20:1 oder 9:1) aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch wird am Rotationsverdampfer abgezogen.

7.3.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift 3 (AAV 3) zur Synthese von N-substituierten N'-tBoc-Bispidin-Derivaten

N-tBoc-Bispidin **93** (249 mg, 1.1 mmol) wird in einem 10 ml Kolben zusammen mit der Carbonsäure (1 mmol) in 5 ml DCM gelöst oder suspendiert und mit einem Silikonseptum verschlossen in einem Eisbad auf 0 °C gekühlt. Anschließend gibt man DCC **110** (206 mg, 1mmol) und DMAP (6.1 mg, 0.05 mmol) dazu. Das Eisbad wird entfernt und Reaktionsgemisch kann bei RT über Nacht reagieren. Am folgenden Tag wird der Niederschlag mit einer Filterfritte (Porengröße 4) abgesaugt und mit 2 ml kaltem DCM gewaschen. Das Lösungsmittel des Filtrats wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch auf einer Kieselgelsäule mit einer Mischung aus DCM und MeOH (40:1, 20:1 oder 9:1) aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

7.3.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift 4 (AAV 4) zur tBoc-Entschützung von N-substituierten N'-tBoc-Bispidin-Derivaten

N-substituiertes-N'-tBoc-Bispidin wird in 4-5 ml 1,4-Dioxan in einem 25 ml Kolben gelöst und das Gefäß wird mit einem Silikonseptum verschlossen. Anschließend werden 4-5 ml HCl/1,4-Dioxan (4M) mit einer Spritze dazugegeben und das Reaktionsgemisch kann bei RT 2-12 Std. reagieren. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wird in 25 ml wässriger Kalilauge (0.25 N) gelöst. Die wässrige Lösung wird drei- bis fünfmal mit je 20 ml Chloroform oder DCM ausgeschüttelt, die organischen Phasen werden vereinigt, mit 10 ml NaHCO₃-Lösung und 10 ml Wasser gewaschen, über MgSO₄ oder Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

7.3.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift 5 (AAV 5) zur tBoc-Entschützung von N-substituierten N'-tBoc-Bispidin-Derivaten

N-substituiertes-N'-tBoc-Bispidin wird in 5 ml DCM in einem 25 mL Kolben gelöst und das Gefäß wird mit einem Silikonseptum verschlossen. Anschließend wird die zwei- bis dreifache molare Menge wasserfreies ZnBr₂ dazugegeben. Die Reaktion kann 12-120 Std. bei RT reagieren. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wird in 25 ml wässriger Kalilauge (0.25 N) gelöst. Die wässrige Lösung wird fünfmal mit je 20 ml Chloroform oder DCM ausgeschüttelt, die organischen Phasen werden vereinigt, mit 10 ml NaHCO₃-Lösung und 10 ml Wasser gewaschen, mit MgSO₄ oder Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

7.3.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift 6 (AAV 6) zum Fällen von N-substituierten Bispidin-Derivaten als Fumarat

Das freie Amin (0.2 – 1.0 mmol) wird in 2-5 ml einer Mischung von Et₂O und MeOH (9:1) gelöst. Dann wird die Lösung langsam bei RT gerührt und tropfenweise solange eine gesättigte Lösung von Fumarsäure im gleichen Lösungsmittelgemisch (Et₂O:MeOH 9:1) dazugegeben, bis kein weiterer Niederschlag mehr ausfällt. Das Gefäß wird verschlossen und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Am folgenden Tag wird der Niederschlag mit einer Filterfritte (Porengröße 4) am Vakuum abgesaugt und zweimal mit 2 ml des gleichen Lösungsmittelgemischs und anschließend zweimal mit 2 ml absolutem Et₂O gewaschen. Der Niederschlag wird in 20-30 ml Wasser gelöst, anschließend wird die Lösung in flüssigem Stickstoff eingefroren und für mindestens 24 Std. gefriergetrocknet.

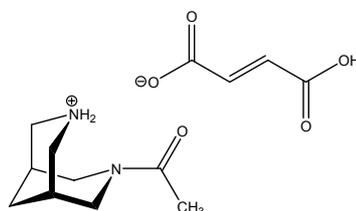
7.3.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift 7 (AAV 7) zum Fällen von N-substituierten Bispidin-Derivaten als Fumarat

Das freie Amin (0.2 – 1.0 mmol) wird in 5 ml Isopropanol gelöst, filtriert, in einen 25mL Kolben gefüllt und auf dem Ölbad auf ca. 80 °C erhitzt. Dieselbe molare Menge Fumarsäure wird in

einem 10 ml Spitzkolben eingewogen, mit 3 ml Isopropanol versetzt und ebenfalls auf dem Ölbad auf ca. 80 °C erhitzt, wobei sich die Fumarsäure löst. Dann werden beide Lösungen zusammengegeben und unter Rühren auf RT abgekühlt. Dann gibt man unter Rühren tropfenweise ca. 10 ml absoluten Et₂O dazu. Das Gemisch wird verschlossen und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Am folgenden Tag wird der Niederschlag mit einer Filterfritte (Porengröße 4) am Vakuum abgesaugt und dreimal mit 2 ml absolutem Et₂O gewaschen. Der Niederschlag wird in 20-30 ml Wasser gelöst und anschließend wird die Lösung in flüssigem Stickstoff eingefroren und für mindestens 24 Std. gefriergetrocknet.

7.4 Synthese der Bispidin-Derivate

7.4.1 Acetyl-Bispidin Fumarat 144



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Acetylchlorid (79 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (9:1) benutzt. Man erhält 268 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (250 mg, 0.93 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (420 mg, 1.86 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 146 mg (93 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (48 mg, 0.29 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (33 mg, 0.29 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 66 mg (69 %); (63 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 152-156 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Acetyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.93 (br m, 1 H); 1.99 (br m, 1 H); 2.16 (s, 3 H); 2.32 (br m, 2 H); 3.06 (br d, *J* = 14.1 Hz, 1 H); 3.32 (br m, 2 H); 3.44 (br d, *J* = 13.1 Hz, 1 H); 3.50 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 3.54 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 4.05 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.35 (br d, *J* = 14.0 Hz, 1 H); 6.68 (s, 2.5 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 24.3 (+); 28.0 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 48.7 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.8 (-); 137.4 (+); 173.6 (C=O); 178.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3455 (v OH), 2979 u. 2917 u. 2837 (v CH₂), 2742 u. 2597 (v NH), 1696 u. 1624 (v C=O), 1584, 1443 u. 1430 (δ CH₂), 1265, 1252, 1058, 984 u. 975 (trans-C=C-), 647, 586, 483

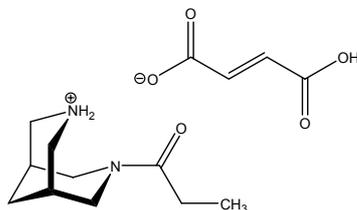
MS (ESI): [M+H⁺] 169.1 (Base)

EA: C₉H₁₆N₂O * 1.25 C₄H₄O₄ * 1.15 H₂O (334.05)

ber.: C: 50.34 % H: 7.03 % N: 8.39 %

gef.: C: 50.34 % H: 7.06 % N: 8.26 %

7.4.2 Propionyl-Bispidin Fumarat 145



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Propionylchlorid (93 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 285 mg (99 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (210 mg, 0.74 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 132 mg (97 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (35 mg, 0.19 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (22 mg, 0.19 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 32 mg (54 %); (52 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 158-161 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Propionyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.07 (t, *J* = 7.5 Hz, 3 H); 1.95 (br m, 1 H); 2.00 (br m, 1 H); 2.32 (br s, 2H); 2.50 (dt, *J* = 17.5, 7.5 Hz, 1 H); 3.06 (br d, *J* = 13.1 Hz, 1 H); 3.33 (br m, 2 H); 3.46 (br m, 2 H); 3.53 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.11 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.39 (br d, *J* = 13.8 Hz, 1 H); 6.70 (s, 2.0 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 11.1 (+); 28.1 (+); 28.4 (+); 29.9 (-); 30.2 (-); 48.9 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.0 (-); 137.5 (+); 174.3 (C=O); 182.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3440 (v OH), 2972 u. 2939 u. 2866 (v CH₂), 1679 u. 1638 (v C=O), 1462 (δ CH₂), 1415, 1361, 1311, 1226, 1113, 984 u. 972 (trans-C=C-), 646

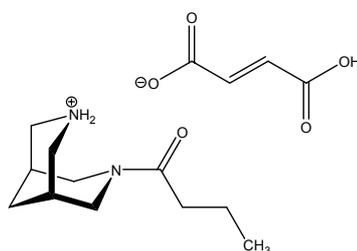
MS (ESI): [M+H⁺] 183.4 (Base)

EA: C₁₀H₁₈N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (309.15)

ber.: C: 54.39 % H: 7.56 % N: 9.06 %

gef.: C: 54.34 % H: 7.31 % N: 9.03 %

7.4.3 Butyryl-Bispidin 146



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Butyrylchlorid (107 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 292 mg (97 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (200 mg, 0.67 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 128 mg (97 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (45 mg, 0.23 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (27 mg, 0.23 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 46 mg (73 %); (59 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 159-161 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Butyryl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 0.94 (t, *J* = 7.4 Hz, 3 H); 1.58 (br m, 2 H); 1.95 (br m, 1 H); 2.00 (br m, 1 H); 2.32 (br s, 2 H); 2.42 (br m, 1 H); 2.53 (br m, 1 H); 3.07 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 3.33 (br m, 2 H); 3.42-3.55 (br m, 3 H); 4.14 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 4.39 (br d, *J* = 14.1 Hz, 1 H); 6.69 (s, 2.0 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 15.9 (+); 20.7 (-); 28.1 (+); 28.4 (+); 30.2 (-); 38.5 (-); 48.7 (-); 50.2 (-); 50.6 (-); 52.2 (-); 137.6 (+); 174.5 (C=O); 181.3 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3466 (v OH), 2960 u. 2933 u. 2905 u. 2871 (v CH₂), 2643 (v NH₂⁺), 1700 u. 1650 u. 1619 (v C=O), 1464 (δ CH₂), 1423, 1359, 1278, 1254, 1215, 1172, 1097, 994 u. 980 (trans-C=C-), 907, 803, 641, 477

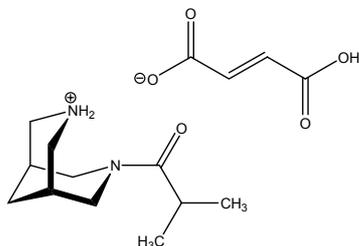
MS (ESI): [M+H⁺] 197.4 (Base)

EA: C₁₁H₂₀N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.3 H₂O (317.77)

ber.: C: 56.70 % H: 7.80 % N: 8.82 %

gef.: C: 56.65 % H: 7.71 % N: 8.77 %

7.4.4 Isobutyryl-Bispidin Fumarat 147



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Isobutyrylchlorid (107 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 281 mg (95 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (210 mg, 0.71 mmol) nach AAV 4 für 18 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 130 mg (93 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (64 mg, 0.33 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (38 mg, 0.33 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 60 mg (57 %); (51 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 165-168 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Isobutyryl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.04 (br m, 3 H); 1.12 (br m, 3 H); 1.95 (br m, 1 H); 2.00 (br m, 1 H); 2.33 (br s, 2 H); 3.06 (br m, 2 H); 3.28-3.39 (br m, 2 H); 3.44 (br m, 1 H); 3.52 (br m, 2 H); 4.24 (br d, *J* = 12.7 Hz, 1 H); 4.40 (br d, *J* = 13.3 Hz, 1 H); 6.69 (s, 2.0 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 20.4 (+); 21.1 (+); 28.1 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 33.5 (+); 49.1 (-); 50.1 (-); 50.7 (-); 52.1 (-); 137.6 (+); 174.4 (C=O); 184.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3448 (ν OH), 2973 u. 2922 u. 2855 (ν CH₂), 2716 (ν NH₂⁺), 1700 u. 1650 u. 1638 (ν C=O), 1447 (δ CH₂), 1360, 1281, 1226, 1171, 1096, 984 u. 975 (trans-C=C-), 908, 788, 643, 491

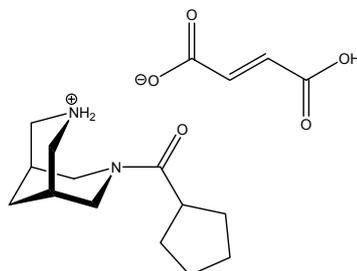
MS (ESI): [M+H⁺] 197.3 (Base)

EA: C₁₁H₂₀N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.45 H₂O (320.47)

ber.: C: 56.31 % H: 7.83 % N: 8.74 %

gef.: C: 56.20 % H: 7.94 % N: 8.79 %

7.4.5 Cyclopentanoyl-Bispidin Fumarat 148



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 72 Std. mit Cyclopentancarbonsäure (114 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 228 mg (71 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (198 mg, 0.61 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 134 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (134 mg, 0.60 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (70 mg, 0.60 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 164 mg (79 %); (55 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 164-166 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Cyclopentancarbonyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.40-1.48 (br m, 1 H); 1.57-1.72 (br m, 4 H); 1.77-1.87 (br m, 2 H); 1.93-2.03 (br m, 3 H); 2.32 (br s, 2 H); 3.06 (br d, *J* = 13.7 Hz, 1 H); 3.18 (quint, *J* = 8.0 Hz, 1 H); 3.29-3.39 (br m, 2 H); 3.45 (br m, 2 H); 3.52 (br d, *J* = 13 Hz, 1 H); 4.27 (br d, *J* = 13.1 Hz, 1 H); 4.41 (br d, *J* = 13.8 Hz, 1 H); 6.69 (2.0 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.4 (-); 28.5 (+); 28.6 (-); 30.4 (-); 31.9 (-); 32.2 (-); 44.5 (+); 49.2 (-); 50.2 (-); 50.7 (-); 52.3 (-); 137.6 (+); 174.4 (C=O); 184.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3441 (v OH), 2954 u. 2865 (v CH₂), 2644 (v NH₂⁺), 1707 u. 1654 (v C=O), 1459 (δ CH₂), 1413, 1359, 1224, 1172, 1110, 979 (trans-C=C-), 905, 793, 642, 517, 474

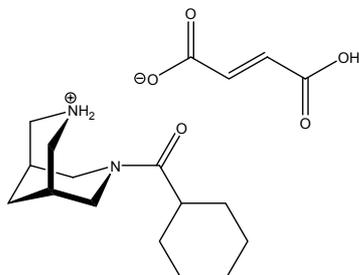
MS (ESI): [M+H⁺] 223.4 (Base)

EA: C₁₃H₂₂N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.35 H₂O (344.71)

ber.: C: 59.23 % H: 7.81 % N: 8.13 %

gef.: C: 59.24 % H: 7.86 % N: 8.12 %

7.4.6 Cyclohexanoyl-Bispidin Fumarat 149



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Cyclohexancarbonsäurechlorid (147 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 332 mg (97 %) einen weißen Feststoff. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (220 mg, 0.65 mmol) nach AAV 4 für 18 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 153 mg (99 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (93 mg, 0.39 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (46 mg, 0.39 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 107 mg (73 %); (70 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 166-167 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Cyclohexancarbonsäure-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.21 (br m, 2 H); 1.31 (br m, 2 H); 1.47 (br m, 1 H); 1.65-1.82 (br m, 5 H); 1.95 (br m, 1 H); 2.00 (br m, 1 H); 2.32 (br s, 2 H); 2.75 (tt, *J* = 11.6, 2.9 Hz, 1 H); 3.05 (br d, *J* = 13.3 Hz, 1 H); 3.28-3.39 (br m, 2 H); 3.43 (br d, *J* = 12.7 Hz, 1 H); 3.51 (br m, 2 H); 4.24 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 4.39 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1 H); 6.69 (s, 2.0 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (-); 28.07 (-); 28.11 (+); 28.3 (-); 28.5 (+); 30.3 (-); 30.9 (-); 31.7 (-); 43.8 (+); 50.0 (-); 50.1 (-); 50.7 (-); 52.1 (-); 137.6 (+); 174.4 (C=O); 183.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3443 (v OH), 2933 u. 2851 (v CH₂), 2704 (v NH₂⁺), 1709 u. 1633 (v C=O), 1594, 1449 (δ CH₂), 1423, 1361, 1334, 1291, 1251, 1218, 1178, 1106, 985 u. 975 (trans-C=C-), 792, 647, 513, 491, 457

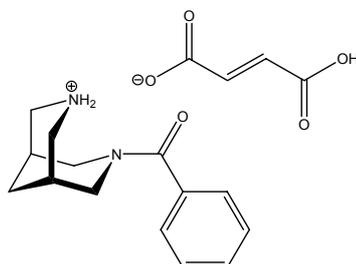
MS (ESI): [M+H⁺] 237.4 (Base)

EA: C₁₄H₂₄N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 1.05 H₂O (371.35)

ber.: C: 58.22 % H: 8.17 % N: 7.54 %

gef.: C: 58.18 % H: 8.22 % N: 7.57 %

7.4.7 Benzoyl-Bispidin Fumarat 150



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Benzoylchlorid (141 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 325 mg (97 %) einen weißen Feststoff. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (200 mg, 0.61 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 138 mg (99 %) eines leicht rosa Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (67 mg, 0.29 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (34 mg, 0.29 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 46 mg (44 %); (42 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 162-165 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Benzoyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.99 (br m, 1 H); 2.07 (br m, 1 H); 2.27 (br s, 2 H); 3.35-3.37 (br m, 2 H); 3.37-3.40 (br m, 2 H); 3.46 (br d, *J* = 13.1 Hz, 1 H); 3.98 (br s, 1 H); 4.56 (br s, 1 H); 6.73 (s, 1.8 H); 7.53 (m, 5 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.3 (+); 29.1 (-); 48.3 (-); 48.5 (-); 128.3 (+); 129.7 (+); 131.2 (+); 136.2 (C_{quart}); 136.8 (+); 171.3 (C=O); 175.4 (C=O)

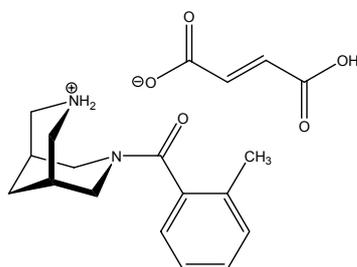
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3420 (ν OH), 3057 (ν CH_{arom.}), 2863 (ν CH₂), 1701 u. 1613 (ν C=O), 1576, 1441 (δ CH₂), 1373, 1340, 1266, 1124, 987 u. 969 (trans-C=C-), 788, 741, 711, 648, 527, 462

MS (ESI): [M+H⁺] 231.4 (Base)

EA: C₁₄H₁₈N₂O * 0.9 C₄H₄O₄ * 1.5 H₂O (361.80)

ber.: C: 58.43 % H: 6.85 % N: 7.74 %

gef.: C: 58.47 % H: 6.69 % N: 7.71 %

7.4.8 o-Methylbenzoyl-Bispidin Fumarat **151**

Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-tBoc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 48 Std. mit 2-Methylbenzoesäure (136 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 186 mg (54 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der tBoc-Schutzgruppe wird dieses Öl (165 mg, 0.48 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (216 mg, 0.96 mmol) für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 92 mg (79 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (77 mg, 0.32 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (37 mg, 0.32 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 61 mg (52 %); (22 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 155-157 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-Methylbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.17 (br s, 1 H); 2.20 (s, 3 H); 2.45 (br s, 1 H); 3.33-3.44 (br m, 5 H); 3.52 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 3.66 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 4.54 (br d, *J* = 14.2 Hz, 1 H); 6.68 (s, 2.0 H); 7.33-7.39 (m, 3 H); 7.41-7.45 (m, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 20.8 (+); 20.9 (+); 28.3 (+); 30.0 (-); 48.6 (-); 49.5 (-); 50.6 (-); 53.3 (-); 127.9 (+); 129.1 (+); 132.6 (+); 133.6 (+); 137.4 (C_{quart}); 137.5 (C_{quart}); 137.6 (+); 174.4 (C=O); 178.5 (C=O)

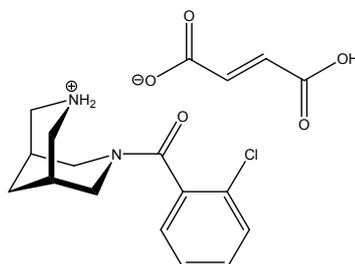
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3485 (ν OH), 3101 u. 3072 (ν CH_{arom.}), 2952 u. 2921 u. 2868 (ν CH₂), 2573 (ν NH₂⁺), 1704 u. 1615 (ν C=O), 1597, 1445 (δ CH₂), 1339, 1266, 1127, 1093, 984 u. 967 (trans-C=C-), 910, 800, 751, 642, 531, 474, 457

MS (ESI): [M+H⁺] 245.4 (Base)

EA: C₁₅H₂₀N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.55 H₂O (370.32)

ber.:	C: 61.63 %	H: 6.83 %	N: 7.56 %
gef.:	C: 61.61 %	H: 6.73 %	N: 7.57 %

7.4.9 o-Chlorbenzoyl-Bispidin Fumarat 152



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 2-Chlorbenzoylchlorid (175 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 323 mg (87 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (250 mg, 0.69 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 180 mg (99 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (96 mg, 0.36 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (42 mg, 0.36 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 109 mg (79 %); (68 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 183-184 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-Chlorbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.95-2.07 (br m, 2 H); 2.17-2.24 (br m, 1 H); 2.43-2.50 (br m, 1 H); 3.31-3.45 (br m, 4 H); 3.49-3.65 (br m, 3 H); 4.51-4.62 (br m, 1 H); 6.68 (s, 1.8 H); 7.35-7.61 (m, 4 H) [Rotamere sichtbar]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.8 (+); 28.2 (+); 29.9 (-); 48.8 (-); 49.5 (-); 50.5 (-); 53.0 (-); 129.8 (+); 130.7 (+); 131.0 (+); 132.6 (C_{quart}); 132.7 (+); 134.2 (+); 137.0 (C_{quart}); 137.6 (+); 174.4 (C=O); 175.5 (C=O) [Rotamere sichtbar]

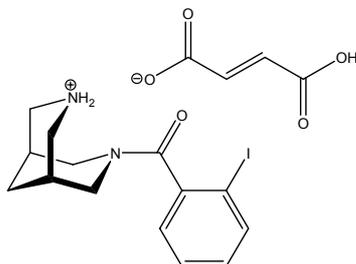
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3070 u. 3041 (ν CH_{arom.}), 2998 u. 2969 u. 2914 u. 2860 (ν CH₂), 2602 (ν NH₂⁺), 1705 u. 1648 (ν C=O), 1583, 1459 u. 1436 (δ CH₂), 1407, 1359, 1338, 1242, 1101, 1040, 984 u. 977 (trans-C=C-), 769, 741, 643, 518

MS (ESI): [M+H⁺] 265.4 (Base)

EA: C₁₄H₁₇ClN₂O * 0.9 C₄H₄O₄ * 0.5 H₂O (378.23)

ber.:	C: 55.89 %	H: 5.76 %	N: 7.41 %
gef.:	C: 55.82 %	H: 5.62 %	N: 7.40 %

7.4.10 o-Iodbenzoyl-Bispidin Fumarat 153



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 12 Std. mit 2-Iodbenzoesäure (248 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 227 mg (50 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (255 mg, 0.56 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 196 mg (98 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (110 mg, 0.31 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (36 mg, 0.31 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 122 mg (82 %); (40 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 162-163 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-Iodbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.96-2.07 (br m, 2 H); 2.18-2.27 (br m, 1 H); 2.44-2.52 (br m, 1 H); 3.32-3.65 (br m, 7 H); 4.51-4.62 (br m, 1 H); 4.53 (br d, *J* = 14.2 Hz, 1H); 6.69 (s, 2.0 H); 7.27 (m, 1 H); 7.46 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1 H); 7.56 (dt, *J* = 7.6, 1.1 Hz, 1 H); 7.97 (dd, *J* = 8.0, 0.8 Hz, 1 H) [Rotamere sichtbar]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.8 (+); 28.2 (+); 29.9 (-); 49.0 (-); 49.5 (-); 50.6 (-); 53.5 (-); 94.1 (C_{quart}); 129.2 (+); 131.8 (+); 134.0 (+); 137.6 (+); 142.2 (+); 143.4 (C_{quart}); 174.4 (C=O); 177.6 (C=O) [Rotamere sichtbar]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3379 (ν OH), 3089 u. 3071 (ν CH_{arom.}), 2947 u. 2924 u. 2862 (ν CH₂), 2609 (ν NH₂⁺), 1702 u. 1610 (ν C=O), 1564, 1471 u. 1456 (δ CH₂), 1376, 1290, 1262, 1205, 989 u. 969 (trans-C=C-), 743, 648, 555, 463

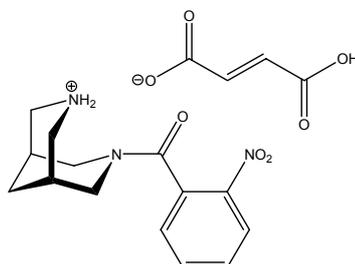
MS (ESI): [M+H⁺] 357.3 (Base)

EA: C₁₄H₁₇IN₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (483.09)

ber.: C: 44.75 % H: 4.63 % N: 5.80 %

gef.: C: 44.78 % H: 4.66 % N: 5.90 %

7.4.11 o-Nitrobenzoyl-Bispidin Fumarat 154



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 2-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 371 mg (97 %) eines gelblichen Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (290 mg, 0.77 mmol) nach AAV 4 für 18 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 205 mg (96 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (103 mg, 0.37 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (43 mg, 0.37 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 95 mg (65 %); (61 % über 3 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 184-185 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-Nitrobenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.97-2.04 (br m, 2 H); 2.16-2.24 (br m, 1 H); 2.48 (br s, 1 H); 3.34-3.73 (br m, 7 H); 4.49-5.57 (br m, 0.5 H); 4.68-4.76 (br m, 0.5 H); 6.68 (s, 1.8 H); 7.54 (br s, 0.5 H); 7.70-7.76 (br m, 0.5 H); 7.78 (m, 1 H); 7.93 (t, *J* = 7.5 Hz, 1 H); 8.35 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H) [Rotamere sichtbar]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.8 (+); 28.1 (+); 30.2 (-); 48.7 (-); 49.6 (-); 50.8 (-); 53.3 (-); 128.3 (+); 130.3 (+); 133.6 (C_{quart}); 134.0 (+); 137.6 (+); 138.9 (+); 147.2 (C_{quart}); 174.4 (C=O); 175.4 (C=O) [Rotamere sichtbar]

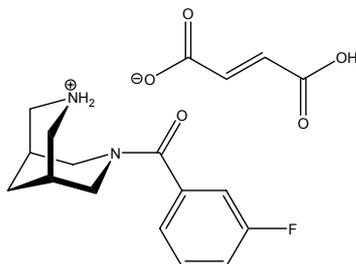
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3442 (ν OH), 3039 (ν CH_{arom.}), 2964 u. 2934 u. 2963 (ν CH₂), 2628 (ν NH₂⁺), 1706 u. 1647 (ν C=O), 1576, 1531 (ν NO), 1481 u. 1458 (δ CH₂), 1407, 1348 (ν NO), 1256, 1174, 1103, 970 (trans-C=C-), 852, 794, 763, 720, 643

MS (ESI): [M+H⁺] 276.4 (Base)

EA: C₁₄H₁₇N₃O₃ * 0.9 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (390.58)

ber.:	C: 54.12 %	H: 5.63 %	N: 10.76%
gef.:	C: 54.10 %	H: 5.35 %	N: 10.74 %

7.4.12 m-Fluorbenzoyl-Bispidin Fumarat 155



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit 3-Fluorbenzoesäure (140 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 230 mg (66 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (210 mg, 0.60 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 107 mg (71 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (96 mg, 0.39 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (45 mg, 0.39 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 84 mg (58 %); (27 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 157-158 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-Fluorbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.43 (br s, 1 H); 3.30-3.41 (br m, 3 H); 3.43-3.56 (br m, 3 H); 3.86 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 4.50 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.70 (s, 2.0 H); 7.28 (m, 3 H); 7.54 (dt, *J*_{H,H} = 8.0 Hz, *J*_{H,F} = 5.8 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 49.3 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.6 (-); 116.7 (d, *J*_{C,F} = 23.6 Hz, +); 120.2 (d, *J*_{C,F} = 21.2 Hz, +); 125.5 (d, *J*_{C,F} = 3.0 Hz, +); 133.8 (d, *J*_{C,F} = 8.3 Hz, +); 137.5 (+); 139.2 (d, *J*_{C,F} = 7.4 Hz, C_{quart}); 165.1 (d, *J*_{C,F} = 245.5 Hz, C_{quart}); 174.0 (C=O); 176.5 (C=O)

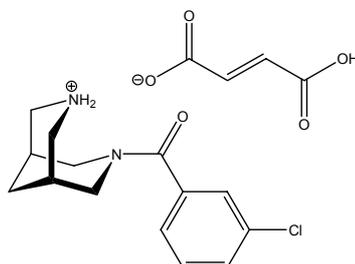
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3448 (ν OH), 3064 (ν CH_{arom.}), 2939 u. 2857 (ν CH₂), 2624 (ν NH₂⁺), 1701 u. 1648 (ν C=O), 1586, 1458 u. 1446 (δ CH₂), 1401, 1266, 1211, 1099, 982 u. 971 (trans-C=C-), 794, 751, 645, 521, 486, 457, 419

MS (ESI): [M+H⁺] 249.4 (Base)

EA: C₁₄H₁₇FN₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.7 H₂O (376.98)

ber.:	C: 57.35 %	H: 5.99 %	N: 7.43 %
gef.:	C: 57.29 %	H: 5.82 %	N: 7.34 %

7.4.13 m-Chlorbenzoyl-Bispidin Fumarat 156



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 3-Chlorbenzoylchlorid (175 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 362 mg (98 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (280 mg, 0.77 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 200 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (132 mg, 0.50 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (58 mg, 0.50 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 126 mg (58 %); (56 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 163-165 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-Chlorbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.43 (br s, 1 H); 3.30-3.40 (br m, 3 H); 3.42-3.54 (br m, 3 H); 3.84 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.50 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1 H); 6.73 (s, 2.65 H); 7.39 (m, 1 H); 7.50 (m, 2 H); 7.57 (m, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 49.3 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.6 (-); 127.9 (+); 129.5 (+); 133.26 (+); 133.29 (+); 137.0 (C_{quart}); 137.4 (+); 139.0 (C_{quart}); 173.6 (C=O); 176.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3445 (ν OH), 3138 u. 3066 (ν CH_{arom.}), 2944 u. 2866 (ν CH₂), 2567 (ν NH₂⁺), 1699 u. 1616 (ν C=O), 1567, 1434 (δ CH₂), 1338, 1258, 1205, 1166, 1098, 983 u. 969 (trans-C=C-), 903, 807, 759, 739, 676, 635, 563, 531, 475, 451

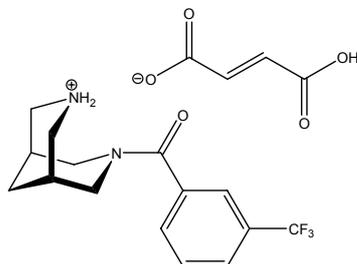
MS (ESI): [M+H⁺] 265.5 (Base)

EA: C₁₄H₁₇ClN₂O * 1.32 C₄H₄O₄ * 0.85 H₂O (433.28)

ber.: C: 53.45 % H: 5.58 % N: 6.47 %

gef.: C: 53.35 % H: 5.48 % N: 6.45 %

7.4.14 m-Trifluormethylbenzoyl-Bispidin Fumarat 157



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 72 Std. mit 3-Trifluormethylbenzoesäure (190 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 190 mg (48 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (180 mg, 0.45 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 126 mg (93 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (126 mg, 0.42 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (49 mg, 0.42 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 70 mg (39 %); (18 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 154-156 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-Trifluormethylbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.01 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.44 (br s, 1 H); 3.32-3.56 (br m, 6 H); 3.81 (br d, *J* = 13.3 Hz, 1 H); 4.54 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 6.65 (s, 1.6 H); 7.68-7.90 (m, 4 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.5 (-); 54.7 (-); 126.61 (q, *J*_{C,F} = 271.8 Hz, C_{quart}); 126.63 (q, *J*_{C,F} = 3.8 Hz, +); 130.0 (q, *J*_{C,F} = 3.6 Hz, +); 132.5 (+); 133.2 (+); 133.3 (q, *J*_{C,F} = 32.6 Hz, C_{quart}); 137.7 (+); 138.1 (C_{quart}); 175.0 (C=O); 176.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3440 (ν OH), 2955 u. 2869 u. 2828 (ν CH₂), 2702 u. 2631 (ν NH₂⁺), 1680 u. 1637 (ν C=O), 1459 (δ CH₂), 1412, 1325, 1257, 1169, 1124, 1073, 985 u. 975 (trans-C=C-), 909, 806, 646, 516, 480, 456

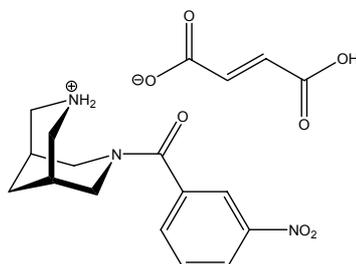
MS (ESI): [M+H⁺] 299.3 (Base)

EA: C₁₅H₁₇F₃N₂O * 0.8 C₄H₄O₄ * 1.6 H₂O (419.99)

ber.: C: 52.05 % H: 5.62 % N: 6.67 %

gef.: C: 52.05 % H: 5.69 % N: 7.42 %

7.4.15 m-Nitrobenzoyl-Bispidin Fumarat 158



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 3-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 369 mg (97 %) eines gelblichen Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (290 mg, 0.77 mmol) nach AAV 4 für 18 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 206 mg (97 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (87 mg, 0.32 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (37 mg, 0.32 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 101 mg (79 %); (74 % über 3 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 166-169 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-Nitrobenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.02 (br m, 2 H); 2.23 (br s, 1 H); 2.46 (br s, 1 H); 3.34-3.46 (br m, 4 H); 3.52-3.61 (br m, 2 H); 3.82 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 4.55 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1 H); 6.68 (s, 2.0 H); 7.77 (m, 1 H); 7.90 (m, 1 H); 8.38 (m, 1 H); 8.40 (m, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.5 (-); 54.6 (-); 125.0 (+); 128.0 (+); 133.2 (+); 136.1 (+); 137.6 (+); 138.8 (C_{quart}); 150.7 (C_{quart}); 174.5 (C=O); 175.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3443 (ν OH), 3081 (ν CH_{arom.}), 2939 u. 2868 (ν CH₂), 2623 (ν NH₂⁺), 1707 u. 1643 (ν C=O), 1535 (ν N=O), 1482 u. 1462 u. 1439 (δ CH₂), 1412, 1355 (ν N=O), 1262, 1106, 978 u. 970 (trans-C=C-), 910, 816, 723, 644, 522, 467

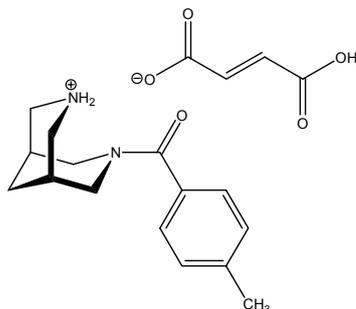
MS (ESI): [M+H⁺] 276.4 (Base)

EA: C₁₄H₁₇N₃O₃ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (404.89)

ber.: C: 53.40 % H: 5.60 % N: 10.38 %

gef.: C: 53.44 % H: 5.63 % N: 10.47 %

7.4.16 p-Methylbenzoyl-Bispidin Fumarat 159



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 4-Methylbenzoylchlorid (155 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 322 mg (92 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (200 mg, 0.58 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 130 mg (92 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (49 mg, 0.20 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (23 mg, 0.20 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 49 mg (56 %); (47 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 166-167 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-Methylbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.99 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.40 (s, 3 H); 2.42 (br s, 1 H); 3.30-3.40 (br m, 3 H); 3.43-3.53 (br m, 3 H); 3.93 (br s, 1 H); 4.50 (br s, 1 H); 6.74 (s, 3.0 H); 7.38 (m, 4 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 23.4 (+); 28.1 (+); 28.4 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 49.7 (-); 50.6 (-); 54.8 (-); 129.8 (+); 132.1 (+); 134.2 (C_{quart}); 137.3 (+); 144.2 (C_{quart}); 173.4 (C=O); 178.3 (C=O)

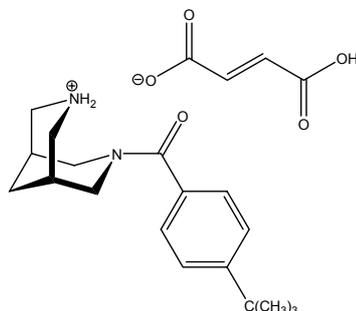
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3580, 3429 (ν OH), 3106 (ν CH_{arom.}), 2935 u. 2858 (ν CH₂), 2618 (ν NH₂⁺), 1702 u. 1610 (ν C=O), 1565, 1461 u 1439 (δ CH₂), 1373, 1294, 1264, 1206, 1165, 1099, 982 (trans-C=C-), 910, 834, 755, 682, 647, 561, 525, 470, 433

MS (ESI): [M+H⁺] 245.4 (Base)

EA: C₁₅H₂₀N₂O * 1.5 C₄H₄O₄ * 1.0 H₂O (436.46)

ber.: C: 57.79 % H: 6.47 % N: 6.42 %

gef.: C: 57.78 % H: 6.34 % N: 6.42 %

7.4.17 *p*-*tert*-Butylbenzoyl-Bispidin Fumarat 160

Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 4-*tert*-Butylbenzoylchlorid (197 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 384 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (340 mg, 0.88 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 242 mg (96 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (113 mg, 0.39 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (46 mg, 0.39 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 100 mg (60 %); (56 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 151-153 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-*tert*-Butylbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.34 (s, 9 H); 2.00 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.43 (br s, 1 H); 3.30-3.40 (br m, 3 H); 3.43-3.54 (br m, 3 H); 3.91 (br m, 1 H); 4.51 (br m, 1 H); 6.70 (s, 1.9 H); 7.44 (d, *J* = 8.5 Hz, 2 H); 7.62 (d, *J* = 8.6 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 33.2 (+); 37.2 (C_{quart}); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.8 (-); 128.6 (+); 129.8 (+); 134.4 (C_{quart}); 137.6 (+); 157.3 (C_{quart}); 174.2 (C=O); 178.1 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3491 (ν OH), 2963 u. 2912 u. 2870 (ν CH₂), 2572 (ν NH₂⁺), 1705 u. 1611 (ν C=O), 1444 (δ CH₂), 1363, 1338, 1264, 1166, 975 (trans-C=C-), 909, 849, 646, 601, 542, 502, 456

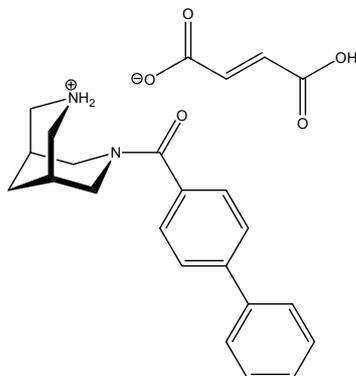
MS (ESI): [M+H⁺] 287.0 (Base)

EA: C₁₈H₂₆N₂O * 0.95 C₄H₄O₄ * 1.6 H₂O (425.51)

ber.: C: 61.54 % H: 7.82 % N: 6.58 %

gef.: C: 61.57 % H: 7.85 % N: 6.60 %

7.4.18 4-Biphenoyl-Bispidin Fumarat 161



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 12 Std. mit 4-Biphenylcarbonsäure (198 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 293 mg (72 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (250 mg, 0.61 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 141 mg (75 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (60 mg, 0.20 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (23 mg, 0.20 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 54 mg (63 %); (34 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 148-150 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Biphenyl-4-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.99 (br m, 2 H); 2.20 (br s, 1 H); 2.43 (br s, 1 H); 3.30-3.41 (br m, 3 H); 3.42-3.54 (br m, 3 H); 3.91 (br m, 1 H); 4.53 (br m, 1 H); 6.67 (s, 2.0 H); 7.48 (m, 1 H); 7.56 (m, 4 H); 7.74 (d, *J* = 7.9 Hz, 2 H); 7.79 (d, *J* = 8.3 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.8 (-); 129.9 (+); 130.0 (+); 130.5 (+); 131.2 (+); 132.1 (+); 136.2 (C_{quart}); 137.6 (+); 142.4 (C_{quart}); 145.5 (C_{quart}); 174.6 (C=O); 177.8 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3427 (ν OH), 3056 u. 3030 (ν CH_{arom.}), 2933 u. 2863 (ν CH₂), 2604 (ν NH₂⁺), 1705 u. 1624 (ν C=O), 1423, 1337, 1262, 1171, 1098, 982 u. 970 (trans-C=C-), 908, 851, 750, 700, 647, 541, 514, 477, 451

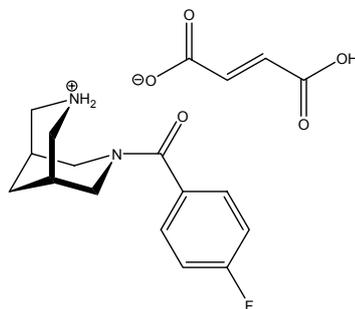
MS (ESI): [M+H⁺] 307.5 (Base)

EA: C₂₀H₂₂N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.9 H₂O (438.69)

ber.: C: 65.71 % H: 6.39 % N: 6.39 %

gef.: C: 65.75 % H: 6.52 % N: 6.44 %

7.4.19 p-Fluorbenzoyl-Bispidin Fumarat 162



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 4-Fluorbenzoylchlorid (159 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 347 mg (98 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (260 mg, 0.75 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 178 mg (96 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (87 mg, 0.35 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (41 mg, 0.35 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 126 mg (95 %); (89 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 157-158 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-Fluorbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.43 (br s, 1 H); 3.31-3.39 (br m, 3 H); 3.44-3.54 (br m, 3 H); 3.91 (br m, 1 H); 4.51 (br m, 1 H); 6.69 (s, 1.8 H); 7.26 (m, 2 H); 7.52 (m, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.4 (+); 30.2 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.8 (-); 118.6 (d, *J*_{C,F} = 22.1 Hz, +); 132.2 (d, *J*_{C,F} = 8.9 Hz, +); 133.4 (d, *J*_{C,F} = 3.3 Hz, C_{quart}); 137.5 (+); 166.4 (d, *J*_{C,F} = 248.2 Hz, C_{quart}); 174.2 (C=O); 177.2 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3427 (v OH), 3074 (v CH_{arom.}), 2955 u. 2860 (v CH₂), 2703 (v NH₂⁺), 1701 u. 1616 (v C=O), 1510, 1440 (δ CH₂), 1372, 1266, 1227, 1160, 1123, 1099, 984 u. 969 (trans-C=C-), 851, 813, 761, 647, 591, 531, 481, 446

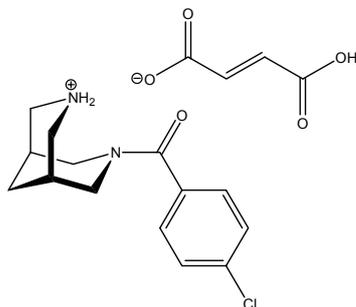
MS (ESI): [M+H⁺] 249.6 (Base)

EA: C₁₄H₁₇FN₂O * 0.9 C₄H₄O₄ * 1.5 H₂O (379.79)

ber.: C: 55.66 % H: 6.26 % N: 7.38 %

gef.: C: 55.70 % H: 6.25 % N: 7.42 %

7.4.20 p-Chlorbenzoyl-Bispidin Fumarat 163



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 4-Chlorbenzoylchlorid (175 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 355 mg (96 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (300 mg, 0.82 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 211 mg (97 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (83 mg, 0.31 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (36 mg, 0.31 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 78 mg (63 %); (59 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 150-154 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-Chlorbenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.43 (br s, 1 H); 3.30-3.40 (br m, 3 H); 3.42-3.54 (br m, 3 H); 3.87 (br m, 1 H); 4.50 (br m, 1 H); 6.70 (s, 2.0 H); 7.46 (d, *J* = 8.7 Hz, 2 H); 7.55 (d, *J* = 8.7 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.5 (+); 30.2 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.7 (-); 131.4 (+); 131.8 (+); 135.8 (C_{quart}); 137.5 (+); 138.8 (C_{quart}); 174.1 (C=O); 177.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3048 (ν CH_{arom.}), 2936 u. 2864 (ν CH₂), 2613 (ν NH₂⁺), 1706 u. 1637 (ν C=O), 1459 (δ CH₂), 1423, 1395, 1337, 1262, 1174, 1097, 981 u. 970 (trans-C=C-), 908, 842, 757, 638, 579, 520, 492, 471, 436

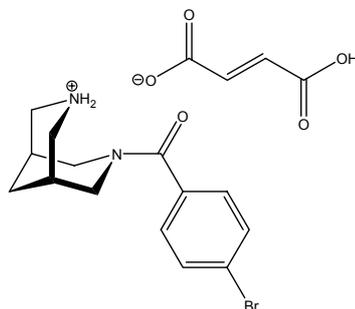
MS (ESI): [M+H⁺] 265.5 (Base)

EA: C₁₄H₁₇ClN₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (394.34)

ber.: C: 54.83 % H: 5.75 % N: 7.10 %

gef.: C: 54.87 % H: 5.63 % N: 6.97 %

7.4.21 p-Brombenzoyl-Bispidin Fumarat 164



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 4-Brombenzoylchlorid (219 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 406 mg (99 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (320 mg, 0.78 mmol) nach AAV 4 für 18 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 237 mg (98 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (134 mg, 0.43 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (50 mg, 0.43 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 143 mg (78 %); (76 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 147-149 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-Brombenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.42 (br s, 1 H); 3.29-3.39 (br m, 3 H); 3.42-3.54 (br m, 3 H); 3.86 (br m, 1 H); 4.50 (br m, 1 H); 6.68 (s, 1.7 H); 7.39 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H); 7.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.4 (+); 30.2 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.7 (-); 127.1 (C_{quart}); 131.5 (+); 134.7 (+); 136.2 (C_{quart}); 137.6 (+); 174.4 (C=O); 177.0 (C=O)

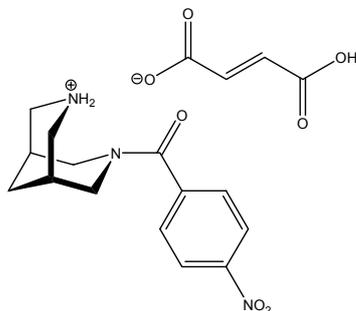
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3053 (ν CH_{arom.}), 2934 u. 2863 (ν CH₂), 2602 (ν NH₂⁺), 1705 u. 1636 (ν C=O), 1458 (δ CH₂), 1421, 1390, 1261, 1169, 1097, 1012, 970 (trans-C=C-), 908, 837, 754, 646, 520, 470, 434

MS (ESI): [M+H⁺] 309.4 und 311.4 (Base)

EA: C₁₄H₁₇BrN₂O * 0.85 C₄H₄O₄ * 0.7 H₂O (420.48)

ber.: C: 49.70 % H: 5.32 % N: 6.66 %

gef.: C: 49.73 % H: 5.29 % N: 6.59 %

7.4.22 p-Nitrobenzoyl-Bispidin Fumarat **165**

Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 12 Std. mit 4-Nitrobenzoesäure (167 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 184 mg (49 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (170 mg, 0.45 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (204 mg, 0.90 mmol) für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 76 mg (61 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (42 mg, 0.15 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (18 mg, 0.15 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 37 mg (54 %); (20 % über 4 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 144-146 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-Nitrobenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.96-2.07 (br m, 2 H); 2.23 (br s, 1 H); 2.46 (br s, 2 H); 3.34-3.49 (br m, 6 H); 3.77 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 4.50 (br d, *J* = 14.0 Hz, 1 H); 6.73 (s, 2.0 H); 7.72 (d, *J* = 8.9 Hz, 2 H); 7.57 (d, *J* = 8.9 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 49.3 (-); 49.5 (-); 50.5 (-); 54.5 (-); 127.0 (+); 130.9 (+); 137.6 (+); 143.7 (C_{quart}); 151.3 (C_{quart}); 174.5 (C=O); 175.8 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3105 u. 3070 (ν CH_{arom.}), 2936 u. 2866 (ν CH₂), 2607 (ν NH₂⁺), 1704 u. 1634 (ν C=O), 1600, 1521 (ν N=O), 1526, 1353 (ν N=O), 1263, 1175, 1097, 983 u. 969 (trans-C=C-), 864, 848, 721, 647, 517, 476

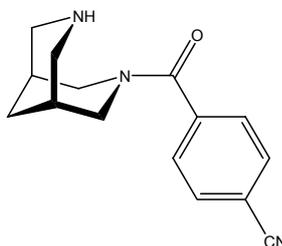
MS (ESI): [M+H⁺] 276.3 (Base)

EA: C₁₄H₁₇N₃O₃ * 1.0 C₄H₄O₄ * 3.0 H₂O (445.43)

ber.: C: 48.54 % H: 6.11 % N: 9.43 %

gef.: C: 48.42 % H: 5.82 % N: 10.33 %

7.4.23 p-Cyanobenzoyl-Bispidin 166



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 12 Std. mit 4-Cyanobenzoessäure (147 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (9:1) benutzt. Man erhält 109 mg (31 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (100 mg, 0.28 mmol) nach AAV 4 für 2 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 69 mg (96 %) eines weißen Feststoffes.

Ausbeute: 69 mg (96 %); (30 % über 2 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 157 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-Cyanobenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.68 (br s, 1 H); 1.88 (br m, 3 H); 2.12 (br m, 1 H); 3.00 (br s, 1 H); 3.05 (d, *J* = 12.2 Hz, 2 H); 3.14 (br d, *J* = 12.1 Hz, 1 H); 3.27 (br d, *J* = 11.3 Hz, 1 H); 3.36 (br d, *J* = 10.1 Hz, 1 H); 3.66 (br d, *J* = 10.8 Hz, 1 H); 4.81 (br d, *J* = 11.7 Hz, 1 H); 7.51 (d, *J* = 8.0 Hz, 2 H); 7.70 (d, *J* = 8.0 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 28.8 (+); 32.2 (-); 47.1 (-); 51.0 (-); 51.3 (-); 52.7 (-); 113.1 (C_{quart}); 118.4 (C_{quart}); 127.6 (+); 132.6 (+); 141.7 (C_{quart}); 168.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3365 (v OH), 3088 u. 3071 u. 3058 (v CH_{arom.}), 2976 u. 2966 u. 2920 u. 2898 u. 2849 (v CH₂), 2234 (v CN), 1633 (v C=O), 1436 (δ CH₂), 1320, 1257, 1238, 1216, 1124, 1098, 927, 914, 850, 805, 759, 740, 591, 543, 530

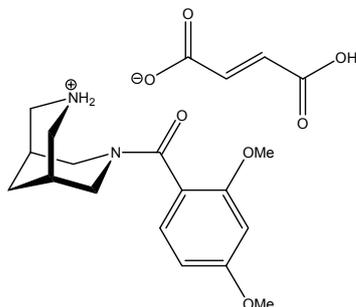
MS (ESI): [M+H⁺] 256.1 (Base)

EA: C₁₅H₁₇N₃O * 0.25 H₂O (259.82)

ber.: C: 69.34 % H: 6.79 % N: 16.17 %

gef.: C: 69.73 % H: 6.82 % N: 15.65 %

7.4.24 o,p-Dimethoxybenzoyl-Bispidin Fumarat 167



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 2,4-Dimethoxybenzoylchlorid (201 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 325 mg (82 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (320 mg, 0.82 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (369 mg, 1.64 mmol) für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 231 mg (97 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (96 mg, 0.33 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (38 mg, 0.33 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 106 mg (78 %); (62 % über 3 Schritte) – leicht gelblicher Feststoff

Smp.: 175 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2,4-Dimethoxybenzoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.98 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 2.04 (br d, *J* = 13.7 Hz, 1 H); 2.16 (br s, 1 H); 2.40 (br s, 1 H); 3.25 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1 H); 3.33-3.42 (br m, 3 H); 3.48 (br d, *J* = 12.8 Hz, 1 H); 3.61 (br d, *J* = 12.6 Hz, 1 H); 3.72 (br d, *J* = 14.4 Hz, 1 H); 3.88 (s, 3 H); 3.90 (s, 3 H); 4.55 (br d, *J* = 13.8 Hz, 1 H); 6.68 (s, 1.8 H); 6.74 (m, 2 H); 7.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 31.1 (-); 49.2 (-); 50.8 (-); 51.0 (-); 54.2 (-); 58.3 (+); 58.5 (+); 101.5 (+); 109.5 (+); 119.4 (C_{quart}); 132.2 (+); 137.5 (+); 158.0 (C_{quart}); 165.0 (C_{quart}); 174.3 (C=O); 175.2 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3442 (v OH), 3200 (v CH_{arom.}), 2951 u. 2843 (v CH₂), 2598 (v NH₂⁺), 1704 u. 1628 u. 1611 (v C=O), 1508, 1433 (δ CH₂), 1261, 1212, 1171, 1130, 1022, 985 u. 970 (trans-C=C-), 910, 831, 647, 617, 516, 468

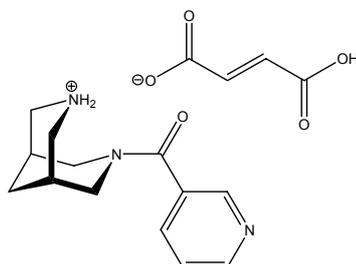
MS (ESI): [M+H⁺] 291.4 (Base)

EA: C₁₆H₂₂N₂O₃ * 0.9 C₄H₄O₄ * 1.0 H₂O (412.84)

ber.: C: 57.02 % H: 6.74 % N: 6.79 %

gef.: C: 56.94 % H: 6.74 % N: 6.81 %

7.4.25 Nicotinoyl-Bispidin Fumarat 168



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 12 Std. mit Nicotinsäure (185 mg, 1.5 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (9:1) benutzt. Man erhält 197 mg (59 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (175 mg, 0.53 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (358 mg, 1.58 mmol) für 72 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 105 mg (86 %) eines klaren Öls. Zur Überführung diesen Öls (48 mg, 0.21 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (24 mg, 0.21 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 47 mg (63 %); (32 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 144-148 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Nicotinoyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.01 (br m, 2 H); 2.25 (br s, 1 H); 2.45 (br s, 1 H); 3.33-3.40 (br m, 3 H); 3.46 (br d, *J* = 13.3 Hz, 1 H); 3.52 (br d, *J* = 12.7 Hz, 1 H); 3.59 (br d, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 3.84 (br d, *J* = 12.8 Hz, 1 H); 4.54 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1 H); 6.65 (s, 2.0 H); 7.68 (dd, *J* = 8.0, 5.2 Hz, 1 H); 8.10 (ddd, *J* = 8.0, 2.1, 1.6 Hz, 1 H); 8.71 (m, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.5 (-); 54.5 (-); 127.6 (+); 134.6 (C_{quant}); 137.7 (+); 140.4 (+); 148.6 (+); 151.9 (+); 174.3 (C=O); 174.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (v OH), 3060 (v CH_{arom.}), 2955 u. 2868 (v CH₂), 2620 (v NH₂⁺), 1701 u. 1635 (v C=O), 1459 (δ CH₂), 1411, 1264, 1167, 1100, 984 u. 969 (trans-C=C-), 909, 824, 743, 727, 709, 647, 517, 462

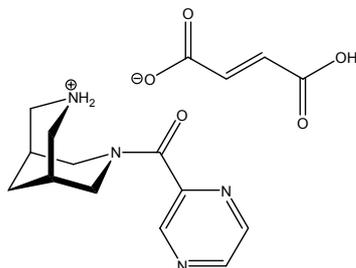
MS (ESI): [M+H⁺] 232.3 (Base)

EA: C₁₃H₁₇N₃O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (358.18)

ber.: C: 57.01 % H: 6.25 % N: 11.73 %

gef.: C: 57.03 % H: 6.24 % N: 11.62 %

7.4.26 2-Pyrazinoyl-Bispidin Fumarat 169



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (249 mg, 1.1 mmol) wird nach AAV 3 für 12 Std. mit Pyrazin-2-carbonsäure (124 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 285 mg (86 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (231 mg, 0.69 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (469 mg, 2.08 mmol) für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 160 mg (99 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (160 mg, 0.69 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (80 mg, 0.69 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 187 mg (76 %); (65 % über 4 Schritte) – oranger Feststoff

Smp.: 154-156 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Pyrazin-2-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.06 (br s, 2 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.45 (br s, 1 H); 3.37-3.47 (br m, 4 H); 3.55 (br d, *J* = 12.2 Hz, 1 H); 3.72 (br d, *J* = 12.3 Hz, 1 H); 4.00 (br d, *J* = 13.1 Hz, 1 H); 4.50 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 6.68 (s, 2.0 H); 8.77 (m, 2 H); 8.91 (m, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 28.6 (+); 30.9 (-); 49.8 (-); 50.2 (-); 50.3 (-); 54.0 (-); 137.6 (+); 146.8 (+); 147.2 (+); 148.8 (+); 150.8 (C_{quart}); 172.4 (C=O); 174.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3506 u. 3446 (v OH), 3046 (v CH_{arom.}), 2934 u. 2866 (v CH₂), 2703 (v NH₂⁺), 1701 u. 1639 (v C=O), 1459 u. 1433 (δ CH₂), 1392, 1360, 1341, 1272, 1184, 1101, 1019, 985 u. 967 (trans-C=C-), 861, 645, 515, 414

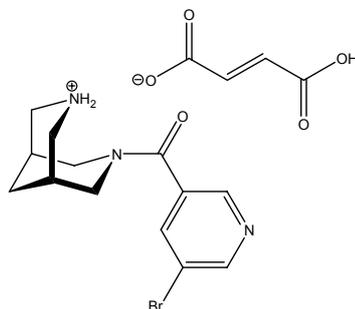
MS (ESI): [M+H⁺] 233.4 (Base)

EA: C₁₂H₁₆N₄O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.5 H₂O (357.37)

ber.: C: 53.78 % H: 5.92 % N: 15.68 %

gef.: C: 53.79 % H: 5.90 % N: 15.62 %

7.4.27 5-Bromnicotinoyl-Bispidin Fumarat 170



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-tBoc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 12 Std. mit 5-Bromnicotinsäure (303 mg, 1.5 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 166 mg (41 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der tBoc-Schutzgruppe wird dieses Öl (210 mg, 0.51 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (231 mg, 1.02 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 142 mg (89 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung diesen Öls (81 mg, 0.26 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (30 mg, 0.26 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 84 mg (75 %); (27 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 186-187 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(5-Bromnicotinoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.01 (br m, 2 H); 2.25 (br s, 1 H); 2.44 (br s, 1 H); 3.36 (br m, 3 H); 3.45 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 3.52 (br d, *J* = 12.6 Hz, 1 H); 3.59 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 3.83 (br d, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 4.52 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.68 (s, 1.84 H); 8.18 (dd, *J* = 2.1, 1.9 Hz, 1 H); 8.61 (dd, *J* = 1.7 Hz, 1 H); 8.79 (dd, *J* = 2.1 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (+); 28.4 (+); 30.0 (-); 49.4 (-); 49.5 (-); 50.4 (-); 54.5 (-); 123.4 (C_{quart}); 135.3 (C_{quart}); 137.6 (+); 141.2 (+); 148.0 (+); 154.4 (+); 173.2 (C=O); 174.5 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3440 (ν OH), 3041 (ν CH_{arom.}), 2961 u. 2867 u. 2840 (ν CH₂), 2630 (ν NH₂⁺), 1697 u. 1639 (ν C=O), 1438 (δ CH₂), 1401, 1262, 1103, 1094, 984 u. 969 (trans-C=C-), 903, 749, 674, 647, 518

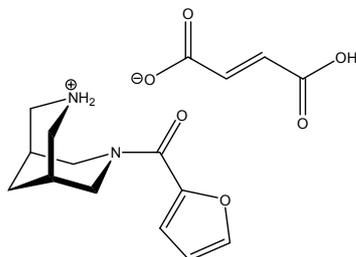
MS (ESI): [M+H⁺] 310.3 und 312.3 (Base)

EA: C₁₃H₁₆BrN₃O * 0.92 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (427.79)

ber.: C: 46.83 % H: 4.92 % N: 9.82 %

gef.: C: 46.77 % H: 4.93 % N: 9.78 %

7.4.28 2-Furanoyl-Bispidin Fumarat 171



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 2-Furancarbonsäurechlorid (131 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 267 mg (82 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (240 mg, 0.75 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 164 mg (99 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (79 mg, 0.36 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (42 mg, 0.36 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 48 mg (38 %); (31 % über 3 Schritte) – leicht gelblicher Feststoff

Smp.: 157-162 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Furan-2-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.05 (br m, 2 H); 2.37 (br s, 2 H); 3.35-3.45 (br m, 4 H); 3.57 (br d, *J* = 13.0 Hz, 2 H); 4.51 (br d, *J* = 13.2 Hz, 2 H); 6.65 (dd, *J* = 3.6, 1.8 Hz, 1 H); 6.69 (s, 2.0 H); 7.13 (dd, *J* = 3.6, 0.6 Hz, 1 H); 7.73 (dd, *J* = 1.8, 0.6 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 30.7 (-); 50.2 (-); 114.6 (+); 120.8 (+); 137.6 (+); 148.6 (+); 148.7 (C_{quant}); 166.7 (C=O); 174.5 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3426 (ν OH), 3122 u. 3104 (ν CH_{arom.}), 2988 u. 2936 u. 2863 u. 2826 (ν CH₂), 2710 (ν NH₂⁺), 1701 u. 1613 (ν C=O), 1564, 1484 u. 1459 (δ CH₂), 1422, 1264, 1185, 1100, 983 u. 968 (trans-C=C-), 920, 753, 663, 647, 592, 558, 503, 459, 417

MS (ESI): [M+H⁺] 221.1 (Base)

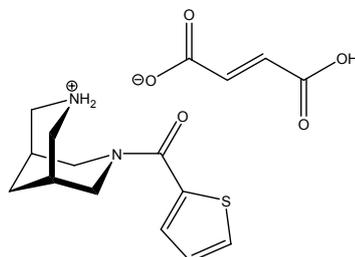
EA: C₁₂H₁₆N₂O₂ * 1.0 C₄H₄O₄ * 1.0 H₂O (354.36)

ber.: C: 54.23 % H: 6.26 % N: 7.91 %

gef.: C: 54.24 % H: 6.40 % N: 7.91 %

[†] Diese Substanz wurde bereits patentiert. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein³⁷⁹

7.4.29 2-Thiophenoyl-Bispidin Fumarat 172



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 2-Thiophencarbonsäurechlorid (147 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 275 mg (80 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (240 mg, 0.71 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 150 mg (89 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (67 mg, 0.28 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (33 mg, 0.28 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 73 mg (70 %); (50 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 158-162 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Thiophen-2-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.03 (br m, 2 H); 2.36 (br s, 2 H); 3.35-3.40 (br m, 2 H); 3.44-3.56 (br m, 4 H); 4.46 (br d, *J* = 13.8 Hz, 2 H); 6.69 (s, 1.9 H); 7.19 (dd, *J* = 5.0, 3.7 Hz, 1 H); 7.50 (dd, *J* = 3.7, 1.0 Hz, 1 H); 7.72 (dd, *J* = 5.0, 0.8 Hz, 1 H)

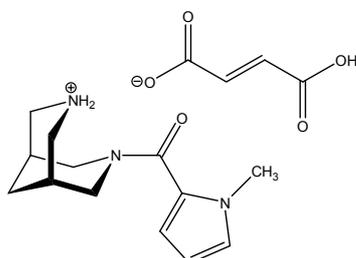
¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 30.4 (-); 50.2 (-); 130.2 (+); 133.3 (+); 133.8 (+); 137.6 (+); 138.1 (C_{quant}); 171.2 (C=O); 174.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3379 (ν OH), 3089 (ν CH_{arom.}), 2947 u. 2924 u. 2862 (ν CH₂), 2609 (ν NH₂⁺), 1702 u. 1610 (ν C=O), 1564, 1472 u. 1456 (δ CH₂), 1420, 1376, 1290, 1262, 1205, 1125, 1048, 989 u. 969 (trans-C=C-), 955, 912, 865, 845, 743, 648, 555, 528, 463, 415

MS (ESI): [M+H⁺] 237.1 (Base)

EA: C₁₂H₁₆N₂OS * 0.95 C₄H₄O₄ * 1.25 H₂O (369.13)
ber.: C: 51.41 % H: 6.06 % N: 7.52 %
gef.: C: 51.41 % H: 6.09 % N: 7.59 %

7.4.30 2-Methylpyrroloyl-Bispidin Fumarat 173



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (249 mg, 1.1 mmol) wird nach AAV 3 für 12 Std. mit 1-Methylpyrrol-2-carbonsäure (125 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 325 mg (98 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (297 mg, 0.89 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (602 mg, 2.67 mmol) für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 201 mg (97 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung diesen Öls (201 mg, 0.86 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (100 mg, 0.86 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 226 mg (67 %); (64 % über 3 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 136-137 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(1-Methyl-1*H*-pyrrol-2-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.01 (br m, 2 H); 2.35 (br s, 2 H); 3.36-3.44 (br m, 4 H); 3.54 (br d, *J* = 13.4 Hz, 2 H); 3.72 (s, 3H); 4.47 (br d, *J* = 14.0 Hz, 2 H); 6.22 (dd, *J* = 3.9, 2.6 Hz, 1 H); 6.55 (dd, *J* = 3.9, 1.6 Hz, 1 H); 6.72 (s, 2.4 H); 6.95 (dd, *J* = 2.2, 1.7 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 30.7 (-); 38.0 (+); 50.3 (-); 110.0 (+); 117.4 (+); 127.1 (C_{quart}); 137.5 (+); 170.5 (C=O); 173.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3434 (ν OH), 3108 (ν CH_{arom.}), 2952 u. 2866 (ν CH₂), 2627 (ν NH₂⁺), 1709 u. 1617 (ν C=O), 1430 (δ CH₂), 1389, 1299, 1254, 1169, 1096, 972 (trans-C=C-), 910, 736, 638, 609, 550, 502, 455

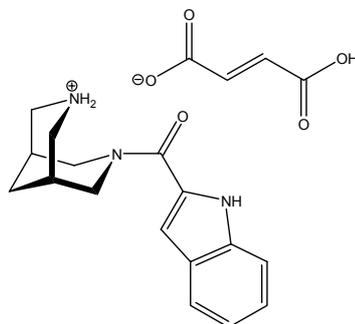
MS (ESI): [M+H⁺] 234.4 (Base)

EA: C₁₃H₁₉N₃O * 1.2 C₄H₄O₄ * 0.95 H₂O (389.72)

ber.: C: 54.86 % H: 6.65 % N: 10.78 %

gef.: C: 54.91 % H: 6.50 % N: 10.82 %

7.4.31 2-Indoloyl-Bispidin Fumarat 174



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (249 mg, 1.1 mmol) wird nach AAV 3 für 12 Std. mit Indol-2-carbonsäure (161 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 353 mg (96 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (340 mg, 0.37 mmol) nach AAV 4 für 4 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 244 mg (98 %) eines klaren Öls. Zur Überführung diesen Öls (244 mg, 0.91 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (105 mg, 0.91 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 228 mg (67 %); (63 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 198-200 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(1*H*-Indol-2-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.97 (br m, 2 H); 2.28 (br s, 2 H); 3.25-3.34 (br m, 3 H); 3.39-3.47 (br m, 3 H); 4.51 (br d, *J* = 16.3 Hz, 2 H); 6.62 (s, 1.5 H); 6.91 (d, *J* = 0.7 Hz, 1 H); 7.20 (ddd, *J* = 8.0, 7.1, 0.9 Hz, 1 H); 7.36 (ddd, *J* = 8.2, 7.0, 1.1 Hz, 1 H); 7.55 (dd, *J* = 8.3, 0.8 Hz, 1 H); 7.75 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.3 (+); 30.4 (-); 50.2 (-); 109.8 (+); 115.0 (+); 123.5 (+); 125.0 (+); 127.7 (+); 129.6 (C_{quart}); 131.8 (C_{quart}); 137.7 (+); 138.9 (C_{quart}); 169.4 (C=O); 175.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3422 (ν OH), 3058 (ν CH_{arom.}), 2982 u. 2935 u. 2865 (ν CH₂), 2628 (ν NH₂⁺), 1701 u. 1617 (ν C=O), 1528, 1420 (δ CH₂), 1255, 1139, 1101, 970 (trans-C=C-), 909, 814, 749, 648, 572, 511, 459, 434

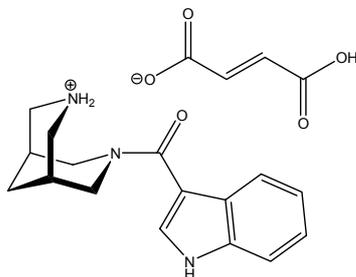
MS (ESI): [M+H⁺] 270.3, [M-H⁺] 268.4 (Base)

EA: C₁₆H₁₉N₃O * 0.75 C₄H₄O₄ * 1.0 H₂O (374.42)

ber.: C: 60.95 % H: 6.46 % N: 11.22 %

gef.: C: 61.02 % H: 6.32 % N: 11.23 %

7.4.32 3-Indoloyl-Bispidin Fumarat 175



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (249 mg, 1.1 mmol) wird nach AAV 3 für 12 Std. mit Indol-3-carbonsäure (161 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 85 mg (23 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (135 mg, 0.37 mmol) nach AAV 4 für 2 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 97 mg (99 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (96 mg, 0.36 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (41 mg, 0.36 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 76 mg (56 %); (13 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 185-190 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(1*H*-Indol-3-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.98 (br m, 2 H); 2.28 (br s, 2 H); 3.30-3.35 (br m, 2 H); 3.40-3.48 (br m, 4 H); 4.46 (br d, *J* = 13.5 Hz, 2 H); 6.62 (s, 1.6 H); 7.27 (ddd, *J* = 8.1, 7.1, 1.1 Hz, 1 H); 7.32 (ddd, *J* = 8.2, 7.1, 1.2 Hz, 1 H); 7.58 (d, *J* = 7.9 Hz, 1 H); 7.70 (s, 1 H); 7.79 (d, *J* = 7.9 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 30.5 (-); 50.3 (-); 52.0 (br, -); 111.0 (C_{quart}); 115.2 (+); 123.2 (+); 124.1 (+); 125.8 (+); 128.9 (C_{quart}); 132.0 (+); 137.7 (+); 138.5 (C_{quart}); 173.9 (C=O); 175.1 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3398 (v OH), 3048 (v CH_{arom.}), 2928 u. 2860 (v CH₂), 2629 (v NH₂⁺), 1701 u. 1600 (v C=O), 1529, 1437 (δ CH₂), 1248, 1205, 1127, 1107, 985 (trans-C=C-), 909, 752, 648, 571, 505, 460, 431

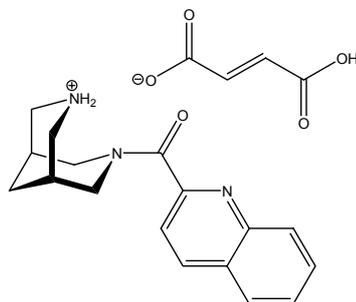
MS (ESI): [M+H⁺] 270.3, [M-H⁺] 268.3 (Base)

EA: C₁₆H₁₉N₃O * 0.8 C₄H₄O₄ * 1.1 H₂O (382.02)

ber.: C: 60.37 % H: 6.44 % N: 11.00 %

gef.: C: 60.35 % H: 6.43 % N: 11.13 %

7.4.33 2-Chinolinoyl-Bispidin Fumarat 176



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 72 Std. mit Chinolin-2-carbonsäure (173 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 210 mg (55 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (180 mg, 0.47 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (213 mg, 0.94 mmol) für 72 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 130 mg (98 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (60 mg, 0.21 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (25 mg, 0.21 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 49 mg (56 %); (30 % über 4 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 145-150 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Chinolin-2-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.06 (br m, 2 H); 2.13 (br s, 1 H); 2.46 (br s, 1 H); 3.40-3.49 (br m, 4 H); 3.65 (br m, 2 H); 3.83 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 4.56 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 6.62 (s, 2.0 H); 7.70 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H); 7.72 (ddd, *J* = 8.1, 7.0, 1.0 Hz, 1 H); 7.87 (ddd, *J* = 8.5, 6.9, 1.4 Hz, 1 H); 7.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H); 8.01 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H); 8.52 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 28.6 (+); 30.9 (-); 50.0 (-); 50.1 (-); 50.3 (-); 53.5 (-); 122.5 (+); 130.6 (+); 131.2 (+); 131.3 (+); 134.2 (+); 137.5 (+); 142.3 (+); 148.7 (C_{quart}); 155.1 (C_{quart}); 174.4 (C=O); 174.6 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3060 (ν CH_{arom.}), 2932 u. 2866 (ν CH₂), 2609 (ν NH₂⁺), 1702 u. 1641 (ν C=O), 1471 (δ CH₂), 1423, 1376, 1252, 1122, 1098, 973 (trans-C=C-), 907, 846, 777, 646, 623, 550, 527, 484

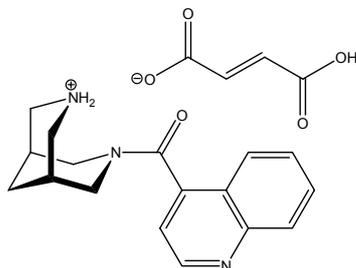
MS (ESI): [M+H⁺] 282.5 (Base)

EA: C₁₇H₁₉N₃O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (410.94)

ber.: C: 61.38 % H: 6.01 % N: 10.23 %

gef.: C: 61.34 % H: 6.13 % N: 10.23 %

7.4.34 4-Chinolinoyl-Bispidin Fumarat 177



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 72 Std. mit Chinolin-4-carbonsäure (173 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 177 mg (46 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (150 mg, 0.39 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (177 mg, 0.79 mmol) für 72 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 98 mg (89 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung diesen Öls (45 mg, 0.16 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (19 mg, 0.16 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 49 mg (67 %); (30 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 168-170 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Chinolin-4-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.09 (br s, 1 H); 2.50 (br s, 1 H); 3.30-3.42 (br m, 4 H); 3.45-3.60 (br m, 3 H); 4.65 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.63 (s, 2.0 H); 7.73 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H); 7.79 (m, 1 H); 7.83 (d, *J* = 4.7 Hz, 1 H); 7.96 (m, 1 H); 8.17 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H); 9.01 (d, *J* = 4.7 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.7 (+); 28.1 (+); 29.8 (-); 48.7 (-); 49.2 (-); 50.5 (-); 53.3 (-); 121.1 (+); 126.7 (C_{quart}); 127.5 (+); 129.8 (+); 132.1 (+); 135.0 (+); 137.6 (+); 146.8 (C_{quart}); 147.9 (C_{quart}); 152.0 (+); 174.1 (C=O); 174.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3424 (ν OH), 3086 u. 3049 (ν CH_{arom.}), 2955 u. 2861 (ν CH₂), 2636 (ν NH₂⁺), 1700 u. 1646 (ν C=O), 1457 (δ CH₂), 1419, 1260, 1209, 985 u. 967 (trans-C=C-), 878, 760, 663, 648, 641, 630, 518, 472, 446

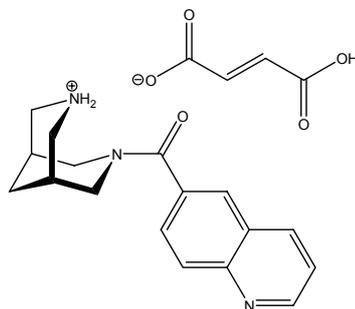
MS (ESI): [M+H⁺] 282.3 (Base)

EA: C₁₇H₁₉N₃O * 1.0 C₄H₄O₄ * 1.45 H₂O (423.55)

ber.: C: 59.55 % H: 6.16 % N: 9.92 %

gef.: C: 59.51 % H: 6.08 % N: 9.98 %

7.4.35 6-Chinolinoyl-Bispidin Fumarat 178



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-tBoc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 72 Std. mit Chinolin-6-carbonsäure (173 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 303 mg (79 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der tBoc-Schutzgruppe wird dieses Öl (270 mg, 0.71 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (319 mg, 1.42 mmol) für 72 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 191 mg (96 %) eines klaren Öls. Zur Überführung diesen Öls (45 mg, 0.16 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (19 mg, 0.16 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 27 mg (40 %); (30 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 162-165 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Chinolin-6-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.02 (br m, 2 H); 2.21 (br s, 1 H); 2.47 (br s, 1 H); 3.34-3.48 (br m, 4 H); 3.53-3.61 (br m, 2 H); 3.86 (br d, *J* = 12.7 Hz, 1 H); 4.59 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.58 (s, 2.0 H); 7.79 (dd, *J* = 8.4, 4.7 Hz, 1 H); 7.95 (dd, *J* = 8.7, 1.9 Hz, 1 H); 8.18 (d, *J* = 1.8 Hz, 1 H); 8.19 (d, *J* = 8.9 Hz, 1 H); 8.68 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H); 9.00 (d, *J* = 4.7, 1.4 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.7 (-); 125.4 (+); 129.0 (+); 130.4 (+); 130.8 (C_{quart}); 132.3 (+); 136.7 (C_{quart}); 137.8 (+); 144.2 (+); 146.8 (C_{quart}); 152.7 (+); 175.7 (C=O); 176.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3426 (v OH), 3048 (v CH_{arom.}), 2934 u. 2863 (v CH₂), 2604 (v NH₂⁺), 1701 u. 1633 (v C=O), 1461 (δ CH₂), 1415, 1255, 1124, 1094, 969 (trans-C=C-), 907, 848, 831, 782, 620, 582, 522, 471

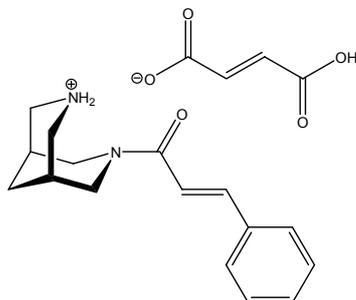
MS (ESI): [M+H⁺] 282.5 (Base)

EA: C₁₇H₁₉N₃O * 1.0 C₄H₄O₄ * 1.5 H₂O (424.45)

ber.: C: 59.42 % H: 6.17 % N: 9.90 %

gef.: C: 59.25 % H: 6.00 % N: 10.11 %

7.4.36 Cinnamoyl-Bispidin Fumarat 179



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 48 Std. mit Zimtsäure (148 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 256 mg (72 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (240 mg, 0.67 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (303 mg, 1.35 mmol) für 72 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 150 mg (87 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (73 mg, 0.28 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (33 mg, 0.28 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 40 mg (37 %); (23 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 155-159 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Cinnamoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.02 (br m, 2 H); 2.38 (br s, 2 H); 3.20 (br d, *J* = 13.7 Hz, 1 H); 3.32-3.42 (br m, 2 H); 3.46-3.59 (br m, 3 H); 4.38 (br d, *J* = 12.7, 1 H); 4.49 (br d, *J* = 13.8 Hz, 1 H); 6.68 (s, 1.8 H); 7.16 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.49 (m, 3 H); 7.59 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.68 (m, 2 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.4 (-); 120.5 (+); 130.9 (+); 132.0 (+); 133.3 (+); 137.5 (C_{quart}); 137.6 (+); 146.5 (+); 173.9 (C=O); 174.5 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3059 u. 3022 (ν CH_{arom.}), 2938 u. 2844 (ν CH₂), 2628 (ν NH₂⁺), 1650 u. 1616 (ν C=O), 1451 (δ CH₂), 1413, 1218, 1108, 975 (trans-C=C-), 766, 708, 646, 567, 509, 484

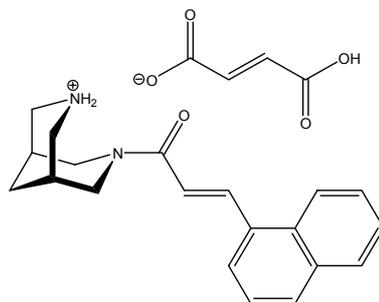
MS (ESI): [M+H⁺] 257.4 (Base)

EA: C₁₆H₂₀N₂O * 0.9 C₄H₄O₄ * 1.2 H₂O (382.43)

ber.: C: 61.56 % H: 6.85 % N: 7.33 %

gef.: C: 61.56 % H: 6.66 % N: 7.57 %

[†] Kein cis-Isomer erkennbar

7.4.37 1-Naphthylacryloyl-Bispidin Fumarat **180**

Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 48 Std. mit 3-(Naphthalin-1-yl)acrylsäure (198 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 344 mg (85 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (270 mg, 0.66 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (449 mg, 1.99 mmol) für 72 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 196 mg (96 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (119 mg, 0.39 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (45 mg, 0.39 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 103 mg (61 %); (50 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 171-174 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-(Naphthalin-1-yl)acryloyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.86 (br d, *J* = 13.3 Hz, 1 H); 1.97 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 2.21 (br s, 1 H); 2.32 (br s, 1 H); 3.03 (br d, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 3.20 (br d, *J* = 12.3 Hz, 1 H); 3.30 (br d, *J* = 13.0 Hz, 2 H); 3.44 (br d, *J* = 13.4 Hz, 2 H); 4.15 (br d, *J* = 12.3 Hz, 1 H); 4.41 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 6.61 (s, 1.9 H); 6.96 (d, *J* = 15.3 Hz, 1 H); 7.50 (dd, *J* = 7.8, 7.7 Hz, 1 H); 7.56 (m, 2 H); 7.74 (d, *J* = 7.2 Hz, 1 H); 7.91 (dd, *J* = 7.7, 6.7 Hz, 2 H); 8.13 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H); 8.21 (d, *J* = 15.3 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.1 (+); 28.4 (+); 30.2 (-); 49.3 (-); 50.2 (-); 50.5 (-); 52.2 (-); 122.8 (+); 126.0 (+); 127.9 (+); 128.6 (+); 129.3 (+); 130.0 (+); 131.6 (+); 133.3 (+); 133.8 (C_{quart}); 134.5 (C_{quart}); 136.2 (C_{quart}); 137.5 (+); 143.0 (+); 173.4 (C=O); 174.3 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3048 (ν CH_{arom.}), 2934 u. 2854 (ν CH₂), 2622 (ν NH₂⁺), 1701 u. 1643 u. 1601 (ν C=O), 1458 (δ CH₂), 1415, 1253, 1219, 1109, 1087, 970 (trans-C=C-), 907, 800, 778, 642, 593, 557, 493, 462, 423

MS (ESI): [M+H⁺] 307.5 (Base)

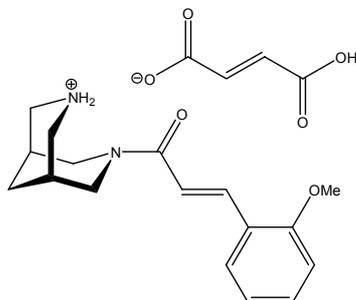
EA: C₂₀H₂₂N₂O * 0.95 C₄H₄O₄ * 1.1 H₂O (436.49)

ber.: C: 65.49 % H: 6.47 % N: 6.42 %

gef.: C: 65.51 % H: 6.44 % N: 6.51 %

[†] Ca. 5 % cis-Isomer erkennbar

7.4.38 o-Methoxycinnamoyl-Bispidin Fumarat 181



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit o-Methoxyzimtsäure (178 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 335 mg (87 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (275 mg, 0.71 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (481 mg, 2.13 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 192 mg (94 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (142 mg, 0.50 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (58 mg, 0.50 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 149 mg (72 %); (59 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 141-144 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(o-Methoxycinnamoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.97 (br m, 1 H); 2.03 (br m, 1 H); 2.36 (br s, 2 H); 3.17 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 3.31-3.40 (br m, 2 H); 3.47-3.58 (br m, 3 H); 3.92 (s, 3 H); 4.33 (br d, *J* = 12.8 Hz, 1 H); 4.48 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 6.66 (s, 2.0 H); 7.07 (dd, *J* = 7.7, 7.5 Hz, 1 H); 7.12 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H); 7.14 (d, *J* = 15.7 Hz, 1 H); 7.46 (m, 1 H); 7.64 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1 H); 7.83 (d, *J* = 15.7 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.4 (-); 58.7 (+); 115.0 (+); 120.9 (+); 124.1 (+); 126.2 (C_{quart}); 131.5 (+); 134.8 (+); 137.5 (+); 141.5 (+); 160.6 (C_{quart}); 174.1 (C=O); 174.4 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3432 (v OH), 3044 (v CH_{arom.}), 2939 u. 2841 (v CH₂), 2620 (v NH₂⁺), 1705 u. 1645 (v C=O), 1598, 1489, 1462 (δ CH₂), 1416, 1248, 1218, 1173, 1108, 1024, 976 (trans-C=C-), 907, 792, 758, 639, 589, 516, 476

MS (ESI): [M+H⁺] 287.1 (Base)

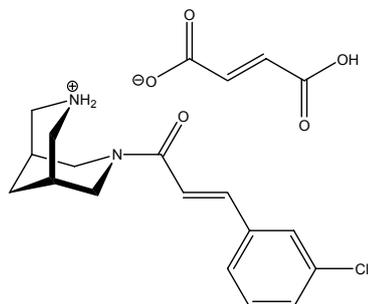
EA: C₁₇H₂₂N₂O₂ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (415.96)

ber.: C: 60.64 % H: 6.66 % N: 6.73 %

gef.: C: 60.55 % H: 6.42 % N: 6.88 %

[†] Ca. 5 % cis-Isomer erkennbar

7.4.39 m-Chlorcinnamoyl-Bispidin Fumarat 182



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit *m*-Chlorzimtsäure (182 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 287 mg (73 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (225 mg, 0.58 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (389 mg, 1.73 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 160 mg (96 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (103 mg, 0.35 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (41 mg, 0.35 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 88 mg (62 %); (43 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 141-144 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(*m*-Chlorcinnamoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.99 (br m, 1 H); 2.04 (br m, 1 H); 2.37 (br s, 2 H); 3.18 (br d, *J* = 13.7 Hz, 1 H); 3.36 (br m, 2 H); 3.52 (br m, 3 H); 4.33 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 4.47 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.65 (s, 1.58 H); 7.11 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.39-7.46 (m, 3 H); 7.48 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.54 (m, 1 H); 7.66 (m, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.2 (-); 50.5 (-); 52.4 (-); 121.7 (+); 129.3 (+); 130.4 (+); 132.8 (+); 133.3 (+); 137.1 (C_{quart}); 137.6 (+); 139.4 (C_{quart}); 144.9 (+); 173.4 (C=O); 174.4 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3427 (ν OH), 3058 (ν CH_{arom.}), 2934 u. 2857 (ν CH₂), 2618 (ν NH₂⁺), 1702 u. 1649 (ν C=O), 1595, 1475 u. 1458 (δ CH₂), 1429, 1250, 1220, 1108, 971 (trans-C=C-), 907, 787, 674, 646, 556, 509, 463. 437

MS (ESI): [M+H⁺] 291.4 (Base)

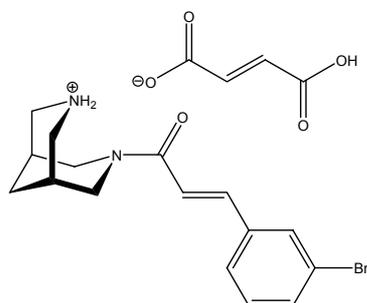
EA: C₁₆H₁₉ClN₂O * 0.79 C₄H₄O₄ * 1.15 H₂O (403.21)

ber.: C: 57.07 % H: 6.11 % N: 6.95 %

gef.: C: 57.01 % H: 5.78 % N: 7.01 %

[†] Kein cis-Isomer erkennbar

7.4.40 m-Bromcinnamoyl-Bispidin Fumarat 183



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit m-Bromzimtsäure (227 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 337 mg (77 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (285 mg, 0.65 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (442 mg, 1.96 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 206 mg (94 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (132 mg, 0.39 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (46 mg, 0.39 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 97 mg (55 %); (40 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 142-144 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(m-Bromcinnamoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.37 (br s, 2 H); 3.18 (br d, *J* = 12.5 Hz, 1 H); 3.30-3.41 (br m, 2 H); 3.45-3.58 (br m, 3 H); 4.31 (br d, *J* = 12.3 Hz, 1 H); 4.46 (br d, *J* = 13.1 Hz, 1 H); 6.64 (s, 1.7 H); 7.09 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.34 (m, 1 H); 7.45 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.57 (m, 1 H); 7.80 (m, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.2 (-); 50.5 (-); 52.4 (-); 121.7 (+); 125.2 (C_{quart}); 129.7 (+); 133.3 (+); 133.5 (+); 135.7 (+); 137.5 (+); 139.6 (C_{quart}); 144.8 (+); 173.4 (C=O); 174.5 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3423 (v OH), 3054 (v CH_{arom.}), 2932 u. 2856 (v CH₂), 2619 (v NH₂⁺), 1703 u. 1649 (v C=O), 1591, 1474 (δ CH₂), 1250, 1219, 1128, 1108, 971 (trans-C=C-), 900, 852, 785, 716, 671, 646, 554, 508, 462, 431

MS (ESI): [M+H⁺] 335.3 und 337.3 (Base)

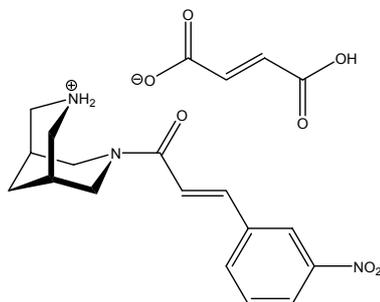
EA: C₁₆H₁₉BrN₂O * 0.85 C₄H₄O₄ * 0.9 H₂O (450.12)

ber.: C: 51.77 % H: 5.42 % N: 6.22 %

gef.: C: 51.76 % H: 5.42 % N: 6.31 %

[†] Kein cis-Isomer erkennbar

7.4.41 m-Nitrocinnamoyl-Bispidin Fumarat 184



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-tBoc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit m-Nitrozimtsäure (193 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 294 mg (73 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Entfernung der tBoc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (230 mg, 0.57 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (387 mg, 1.72 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 170 mg (98 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (120 mg, 0.40 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (46 mg, 0.40 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 97 mg (57 %); (41 % über 4 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 184-187 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(m-Nitrocinnamoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.03 (br m, 2 H); 2.40 (br s, 2 H); 3.22 (br d, *J* = 14.0 Hz, 1 H); 3.32-3.43 (br m, 2 H); 3.47-3.62 (br m, 3 H); 4.38 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.50 (br d, *J* = 13.7 Hz, 1 H); 6.64 (s, 1.7 H); 7.27 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.58 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 7.65 (t, *J* = 8.0 Hz, 1 H); 7.98 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H); 8.24 (ddd, *J* = 8.3, 2.3, 0.9 Hz, 1 H); 8.45 (t, *J* = 1.9 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.2 (-); 50.5 (-); 52.4 (-); 123.2 (+); 125.3 (+); 127.4 (+); 133.0 (+); 137.2 (+); 137.6 (+); 139.1 (C_{quart}); 143.8 (+); 151.1 (C_{quart}); 173.1 (C=O); 174.5 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3423 (v OH), 3082 (v CH_{arom.}), 2935 u. 2869 (v CH₂), 2626 (v NH₂⁺), 1702 u. 1652 u. 1602 (v C=O), 1529 (v N=O), 1443 (δ CH₂), 1417, 1356 (v N=O), 1251, 1224, 1171, 1129, 1110, 983 u. 974 (trans-C=C-), 909, 855, 807, 742, 713, 648, 576, 515, 465

MS (ESI): [M+H⁺] 302.0 (Base)

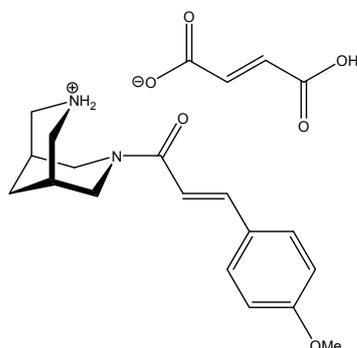
EA: C₁₆H₁₉N₃O₃ * 0.85 C₄H₄O₄ * 1.5 H₂O (427.03)

ber.: C: 54.57 % H: 6.00 % N: 9.84 %

gef.: C: 54.50 % H: 5.95 % N: 9.80 %

[†] Ca. 5 % cis-Isomer erkennbar

7.4.42 p-Methoxycinnamoyl-Bispidin Fumarat 185



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (249 mg, 1.1 mmol) wird nach AAV 3 für 12 Std. mit p-Methoxycimtsäure (178 mg, 1.0 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 249 mg (64 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (240 mg, 0.62 mmol) nach AAV 4 für 6 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 175 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung diesen Feststoffes (175 mg, 0.61 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (71 mg, 0.61 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 194 mg (76 %); (48 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 169-170 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(p-Methoxycinnamoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.00 (br m, 2 H); 2.36 (br s, 2 H); 3.12-3.19 (br m, 1 H); 3.31-3.40 (br m, 2 H); 3.45-3.58 (br m, 3 H); 3.87 (s, 3 H); 4.35 (br d, *J* = 12.0 Hz, 1 H); 4.47 (br d, *J* = 13.5 Hz, 1 H); 6.65 (s, 2.0 H); 6.99 (d, *J* = 15.5 Hz, 1 H); 7.03 (ddd, *J* = 8.8, 3.0, 2.0 Hz, 2 H); 7.53 (d, *J* = 15.5 Hz, 1 H); 7.62 (ddd, *J* = 8.7, 2.9, 1.9 Hz, 2 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.3 (-); 58.3 (+); 117.4 (+); 117.9 (+); 130.5 (C_{quart}); 132.8 (+); 137.6 (+); 146.3 (+); 163.6 (C_{quart}); 174.0 (C=O); 174.5 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3427 (ν OH), 3032 (ν CH_{arom.}), 2998 u. 2957 u. 2935 u. 2839 (ν CH₂), 2636 (ν NH₂⁺), 1737, 1650 u. 1604 (ν C=O), 1576, 1512, 1425, 1374, 1318, 1247, 1215, 1174, 1109, 1030, 979 (trans-C=C-), 835, 786, 646, 558, 537, 507

MS (ESI): [M+H⁺] 287.4 (Base)

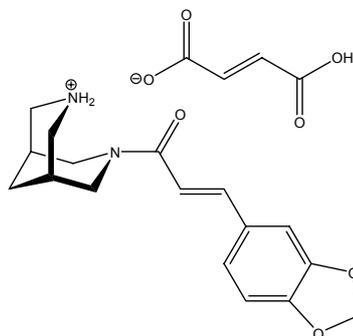
EA: C₁₇H₂₂N₂O₂ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (415.96)

ber.: C: 60.64 % H: 6.66 % N: 6.73 %

gef.: C: 60.57 % H: 6.53 % N: 6.77 %

[†] Ca. 7 % cis-Isomer erkennbar

7.4.43 3,4-Dimethoxolancinnamoyl-Bispidin Fumarat 186



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 72 Std. mit 3,4-Dimethoxolanziensäure (192 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 284 mg (71 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (235 mg, 0.59 mmol) nach AAV 4 für 2 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 128 mg (73 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (128 mg, 0.43 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (49 mg, 0.43 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 106 mg (58 %); (30 % über 4 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 147-148 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acryloyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.97 (br m, 1 H); 2.03 (br m, 1 H); 2.37 (s, 2 H); 3.16 (br d, *J* = 12.2 Hz, 1 H); 3.31-3.41 (br m, 2 H); 3.44-3.58 (br m, 3 H); 4.34 (br d, *J* = 11.6 Hz, 1 H); 4.46 (br d, *J* = 13.2, 1 H); 6.02 (s, 2 H); 6.65 (s, 2.0 H); 6.91 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H); 6.94 (d, *J* = 15.3 Hz, 1 H); 7.12 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1 H); 7.19 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H); 7.47 (d, *J* = 15.4 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.1 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.3 (-); 104.6 (-); 109.3 (+); 111.6 (+); 118.0 (+); 127.6 (+); 131.9 (C_{quart}); 137.5 (+); 146.5 (+); 150.8 (C_{quart}); 152.0 (C_{quart}); 173.9 (C=O); 174.3(C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3434 (ν OH), 3054 (ν CH_{arom.}), 2923 u. 2858 (ν CH₂), 2621 (ν NH₂⁺), 1706 u. 1646 u. 1607 (ν C=O), 1504, 1492, 1448 (δ CH₂), 1359, 1251, 1220, 1104, 1037, 976 (trans-C=C-), 928, 814, 648, 549, 519, 424

MS (ESI): [M+H⁺] 301.4 (Base)

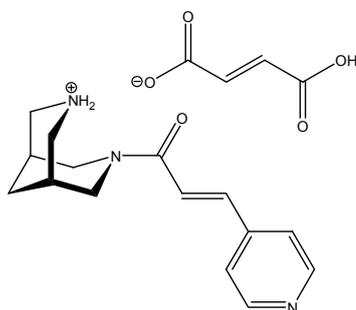
EA: C₁₇H₂₀N₂O₃ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (429.94)

ber.: C: 58.67 % H: 5.98 % N: 6.52 %

gef.: C: 58.65 % H: 5.99 % N: 6.60 %

[†] Ca. 7 % cis-Isomer erkennbar

7.4.44 4-Pyridylacryloyl-Bispidin Fumarat 187



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit 3-(Pyridin-4-yl)acrylsäure (149 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (9:1) benutzt. Man erhält 243 mg (68 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (185 mg, 0.52 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (350 mg, 1.55 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 116 mg (87 %) eines gelblichen Öls. Zur Überführung dieses Öls (63 mg, 0.24 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (28 mg, 0.24 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 70 mg (72 %); (43 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 163-166 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-(Pyridin-4-yl)acryloyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.02 (br m, 2 H); 2.38 (br s, 1 H); 2.40 (br s, 1 H); 3.24 (br d, *J* = 14.7 Hz, 1 H); 3.33-3.41 (br m, 2 H); 3.49 (br d, *J* = 13.3 Hz, 1 H); 3.54-3.62 (br m, 2 H); 4.33 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.48 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.58 (s, 2.0 H); 7.56 (s, 2 H); 8.02 (d, *J* = 6.7 Hz, 1 H); 8.70 (d, *J* = 6.2 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.1 (+); 28.4 (+); 30.2 (-); 49.4 (-); 50.1 (-); 50.4 (-); 52.5 (-); 127.3 (+); 130.4 (+); 138.0 (+); 140.4 (+); 146.6 (+); 152.7 (C_{quart}); 172.2 (C=O); 176.2 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3427 (ν OH), 3038 (ν CH_{arom.}), 2936 u. 2865 (ν CH₂), 2621 (ν NH₂⁺), 1699 u. 1653 u. 1602 (ν C=O), 1459 (δ CH₂), 1417, 1285, 1250, 1224, 1128, 1109, 982 (trans-C=C-), 908, 819, 647, 570, 550, 514, 463

MS (ESI): [M+H⁺] 258.4 (Base)

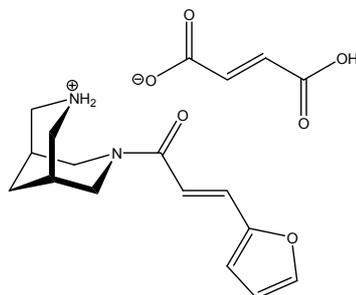
EA: C₁₅H₁₉N₃O * 1.0 C₄H₄O₄ * 1.25 H₂O (395.93)

ber.: C: 57.64 % H: 6.49 % N: 10.61 %

gef.: C: 57.70 % H: 6.49 % N: 10.57 %

[†] Ca. 2 % cis-Isomer erkennbar

7.4.45 3-(Furan-2-yl)acryloyl-Bispidin Fumarat 188



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 72 Std. mit 3-(Furan-2-yl)acrylsäure (138 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 176 mg (51 %) eines orangeroten Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (175 mg, 0.51 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (341 mg, 1.52 mmol) für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 84 mg (68 %) eines orangen Öls. Zur Überführung dieses Öls (84 mg, 0.34 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (40 mg, 0.34 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 65 mg (51 %); (18 % über 4 Schritte) – oranger Feststoff

Smp.: 142-144 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-(Furan-2-yl)acryloyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, MeOD) δ [ppm]: 2.00 (br m, 1 H); 2.09 (br m, 1 H); 2.32 (br s, 2 H); 3.30-3.40 (br m, 4 H); 3.51 (br s, 2 H); 4.48 (br s, 2 H); 6.58 (dd, *J* = 3.4, 1.7 Hz, 1 H); 6.72 (s, 2.0 H); 6.77 (d, *J* = 3.4, 1 H); 7.05 (d, *J* = 15.2 Hz, 1 H); 7.45 (d, *J* = 15.2 Hz, 1 H); 7.65 (d, *J* = 1.7 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, MeOD) δ [ppm]: 27.7 (+); 29.5 (-); 49.0 (-); 113.7 (+); 115.8 (+); 116.5 (+); 131.4 (+); 136.5 (+); 146.3 (+); 153.2 (C_{quart}); 171.1 (C=O); 171.7 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3426 (ν OH), 3095 (ν CH_{arom.}), 2933 u. 2863 (ν CH₂), 2629 (ν NH₂⁺), 1679 u. 1648 u. 1608 (ν C=O), 1483 u. 1458 (δ CH₂), 1415, 1360, 1336, 1224, 1108, 1017, 984 u. 968 (trans-C=C-), 751, 646, 595, 509

MS (ESI): [M+H⁺] 247.4 (Base)

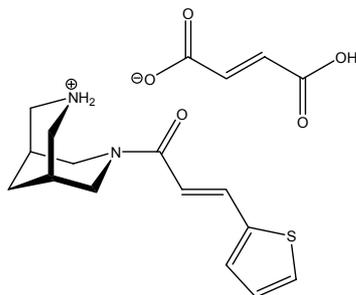
EA: C₁₄H₁₈N₂O₂ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (375.89)

ber.: C: 57.52 % H: 6.30 % N: 7.45 %

gef.: C: 57.47 % H: 6.37 % N: 7.58 %

[†] Ca. 4 % cis-Isomer erkennbar

7.4.46 3-(Thiophen-2-yl)acryloyl-Bispidin Fumarat 189



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit 3-(Thiophen-2-yl)acrylsäure (154 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 220 mg (61 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (170 mg, 0.47 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (317 mg, 1.41 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 122 mg (99 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (44 mg, 0.17 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (19 mg, 0.17 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 24 mg (37 %); (22 % über 4 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 173-178 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-(Thiophen-2-yl)acryloyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, MeOD) δ [ppm]: 1.87-2.06 (br m, 2 H); 2.33-2.48 (br m, 2 H); 3.13-3.24 (br m, 1 H); 3.30-3.58 (br m, 5 H); 4.30-4.52 (br m, 2 H); 6.67 (s, 2.0 H); 6.91 (d, *J* = 15.2 Hz, 1 H); 7.15 (dd, *J* = 5.1, 3.6, 1 H); 7.42 (d, *J* = 3.6, 1 H); 7.57 (d, *J* = 5.1, 1 H); 7.75 (d, *J* = 15.2, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, MeOD) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.3 (-); 118.6 (+); 131.4 (+); 132.0 (+); 134.5 (+); 137.6 (+); 139.5 (+); 142.4 (C_{quart}); 173.5 (C=O); 174.5 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3441 (ν OH), 3074 (ν CH_{arom.}), 2933 u. 2855 (ν CH₂), 2620 (ν NH₂⁺), 1700 u. 1638 u. 1600 (ν C=O), 1437 (δ CH₂), 1411, 1248, 1210, 1107, 968 (trans-C=C-), 906, 828, 710, 646, 586, 538, 503

MS (ESI): [M+H⁺] 263.4 (Base)

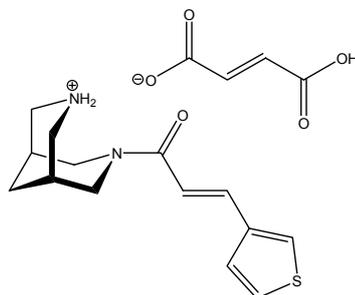
EA: C₁₄H₁₈N₂OS * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (389.26)

ber.: C: 55.54 % H: 6.01 % N: 7.20 %

gef.: C: 55.51 % H: 5.95 % N: 7.33 %

[†] Ca. 20 % cis-Isomer erkennbar

7.4.47 3-(Thiophen-3-yl)acryloyl-Bispidin Fumarat 190



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit 3-(Thiophen-3-yl)acrylsäure (154 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulen-chromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 312 mg (86 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (240 mg, 0.66 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (447 mg, 1.98 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 168 mg (97 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (126 mg, 0.48 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (56 mg, 0.48 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 129 mg (70 %); (58 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 155-159 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-(Thiophen-3-yl)acryloyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.97 (br m, 1 H); 2.02 (br m, 1 H); 2.36 (br s, 2 H); 3.17 (br d, *J* = 12.2 Hz, 1 H); 3.30-3.40 (br m, 2 H); 3.45-3.58 (br m, 3 H); 4.34 (br d, *J* = 12.5 Hz, 1 H); 4.47 (br d, *J* = 13.3 Hz, 1 H); 6.66 (s, 1.8 H); 6.97 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H); 7.47 (dd, *J* = 5.1, 1.1 Hz, 1 H); 7.52 (dd, *J* = 5.1, 3.0, 1 H); 7.59 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H); 7.74 (dd, *J* = 2.8, 1.1 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.2 (+); 28.5 (+); 30.3 (-); 49.4 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.3 (-); 119.6 (+); 128.0 (+); 130.5 (+); 131.8 (+); 137.5 (+); 140.4 (+); 140.5 (C_{quart}); 174.1 (C=O); 174.4 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3428 (ν OH), 3087 (ν CH_{arom.}), 2934 u. 2858 (ν CH₂), 2623 (ν NH₂⁺), 1705 u. 1647 (ν C=O), 1594, 1459 u. 1430 (δ CH₂), 1336, 1267, 1221, 1109, 973 (trans-C=C-), 908, 867, 791, 642, 610, 586, 544, 508, 462

MS (ESI): [M+H⁺] 263.4 (Base)

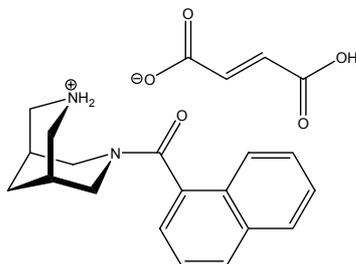
EA: C₁₄H₁₈N₂OS * 0.9 C₄H₄O₄ * 0.9 H₂O (383.06)

ber.: C: 55.19 % H: 6.16 % N: 7.31 %

gef.: C: 55.26 % H: 6.17 % N: 7.30 %

[†] Ca. 1 % cis-Isomer erkennbar

7.4.48 1-Naphthoyl-Bispidin Fumarat 191



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 1-Naphthoylchlorid (191 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 353 mg (91 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (240 mg, 0.63 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 172 mg (97 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (62 mg, 0.22 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (26 mg, 0.22 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 73 mg (80 %); (70 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 152-154 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(1-Naphthoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.96 (br m, 2 H); 2.00 (br s, 1 H); 2.47 (br s, 1 H); 3.27-3.33 (br m, 3 H); 3.35-3.40 (br m, 1 H); 3.48-3.53 (br m, 3 H); 3.55 (br d, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 4.66 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.66 (s, 2.0 H); 7.56-7.66 (m, 5 H); 8.00-8.06 (m, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.9 (+); 28.2 (+); 29.9 (-); 48.8 (-); 49.3 (-); 50.6 (-); 53.6 (-); 126.6 (+); 126.8 (+); 128.4 (+); 129.8 (+); 130.6 (+); 131.5 (C_{quart}); 131.6 (+); 132.7 (+); 135.4 (C_{quart}); 136.0 (C_{quart}); 137.5 (+); 174.3 (C=O); 177.8 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3054 (ν CH_{arom.}), 2952 u. 2859 (ν CH₂), 2603 (ν NH₂⁺), 1707 u. 1635 (ν C=O), 1459 (δ CH₂), 1424, 1387, 1255, 1211, 1109, 983 u. 970 (trans-C=C-), 908, 810, 782, 632, 586, 525, 476, 446

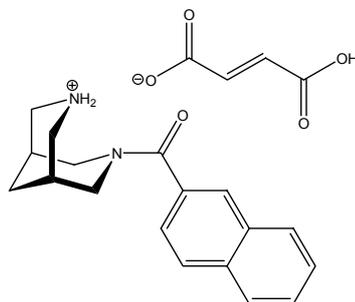
MS (ESI): [M+H⁺] 281.5 (Base)

EA: C₁₈H₂₀N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 1.5 H₂O (414.46)

ber.: C: 63.76 % H: 6.32 % N: 6.76 %

gef.: C: 63.73 % H: 6.30 % N: 6.86 %

7.4.49 2-Naphthoyl-Bispidin Fumarat 192



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 2-Naphthoylchlorid (191 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 342 mg (88 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (250 mg, 0.66 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 181 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (103 mg, 0.37 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (43 mg, 0.37 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 101 mg (68 %); (58 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 152-154 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-Naphthoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.97 (br m, 2 H); 2.11 (br s, 1 H); 2.42 (br s, 1 H); 3.30-3.55 (br m, 6 H); 3.82 (br d, *J* = 11.9 Hz, 1 H); 4.54 (br d, *J* = 12.6 Hz, 1 H); 6.64 (s, 2.0 H); 7.51 (dd, *J* = 8.5, 1.7 Hz, 1 H); 7.64 (m, 2 H); 7.94-7.99 (m, 3 H); 8.01 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.4 (+); 30.2 (-); 49.4 (-); 49.6 (-); 50.6 (-); 54.7 (-); 126.5 (+); 129.7 (+); 130.1 (+); 130.69 (+); 130.70 (+); 131.3 (+); 131.5 (+); 134-7 (C_{quart}); 135.1 (C_{quart}); 136.4 (C_{quart}); 137.5 (+); 174.2 (C=O); 177.8 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3432 (v OH), 3055 (v CH_{arom.}), 2934 u. 2863 (v CH₂), 2621 (v NH₂⁺), 1704 u. 1635 (v C=O), 1476 u. 1459 (δ CH₂), 1419, 1264, 1233, 1128, 1094, 983 u. 970 (trans-C=C-), 908, 867, 822, 778, 759, 647, 647, 574, 520, 481, 439

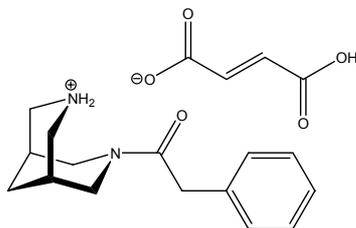
MS (ESI): [M+H⁺] 281.3 (Base)

EA: C₁₈H₂₀N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (407.25)

ber.: C: 64.88 % H: 6.24 % N: 6.88 %

gef.: C: 64.86 % H: 6.23 % N: 7.05 %

7.4.50 Phenylacetyl-Bispidin Fumarat 193



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Phenylacetylchlorid (155 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 343 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (310 mg, 0.90 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 210 mg (97 %) eines weißen Feststoffes. Dieser Feststoff (180 mg, 0.74 mmol) wird nach AAV 6 aus 4 ml eines Gemisches von Et₂O und MeOH (9:1) als Fumarat gefällt.

Ausbeute: 158 mg (66 %); (62 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 145-147 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-Phenylacetyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.91 (br m, 1 H); 1.97 (br m, 1 H); 2.27 (br s, 1 H); 2.32 (br s, 1 H); 2.78 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 3.27-3.33 (br m, 3 H); 3.39 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 3.45 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 3.85-3.97 (br m, 2 H); 4.17 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.40 (br d, *J* = 13.7 Hz, 1 H); 6.69 (s, 0.9 H); 7.27-7.45 (m, 5 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.3 (+); 30.2 (-); 43.5 (-); 49.1 (-); 50.2 (-); 50.6 (-); 52.5 (-); 130.2 (+); 131.9 (+); 132.1 (+); 137.3 (C_{quart}); 138.0 (+); 176.5 (C=O); 178.8 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3443 (ν OH), 3031 (ν CH_{arom.}), 2935 u. 2864 (ν CH₂), 2629 (ν NH₂⁺), 1696 u. 1640 (ν C=O), 1498, 1457 (δ CH₂), 1295, 1256, 1226, 1171, 1108, 984 u. 969 (trans-C=C-), 907, 732, 700, 647, 521, 472

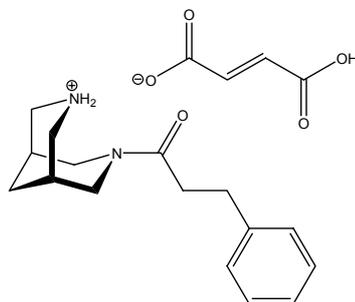
MS (ESI): [M+H⁺] 245.4 (Base)

EA: C₁₅H₂₀N₂O * 0.45 C₄H₄O₄ * 1.5 H₂O (323.59)

ber.: C: 62.36 % H: 7.72 % N: 8.66 %

gef.: C: 62.33 % H: 7.88 % N: 8.44 %

7.4.51 Phenylpropionyl-Bispidin Fumarat 194



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 3-Phenylpropionylchlorid (169 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 355 mg (97 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (340 mg, 0.95 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 235 mg (96 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (103 mg, 0.40 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (46 mg, 0.40 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 115 mg (75 %); (70 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 153-156 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-Phenylpropanoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.86 (br m, 1 H); 1.94 (br m, 1 H); 2.22 (br s, 1 H); 2.29 (br s, 1 H); 2.78 (br m, 1 H); 2.88 (br m, 1 H); 2.90-2.96 (br m, 1 H); 2.99 (br d, *J* = 14.0 Hz, 1 H); 3.14 (br d, *J* = 13.7 Hz, 1 H); 3.27 (br m, 2 H); 3.39 (br m, 2 H); 4.02 (br d, *J* = 13.5 Hz, 1 H); 4.37 (br d, *J* = 14.1 Hz, 1 H); 6.69 (s, 2.0 H); 7.30 (m, 3 H); 7.38 (m, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.3 (+); 30.1 (-); 33.6 (-); 37.9 (-); 48.8 (-); 50.2 (-); 50.6 (-); 52.2 (-); 129.4 (+); 131.4 (+); 131.7 (+); 137.5 (+); 143.7 (C_{quart}); 174.4 (C=O); 180.2 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (v OH), 3054 u. 3023 (v CH_{arom.}), 2937 u. 2855 (v CH₂), 2629 (v NH₂⁺), 1701 u. 1645 (v C=O), 1496, 1454 (δ CH₂), 1413, 1360, 1255, 1219, 1177, 1109, 984 (trans-C=C-), 909, 793, 749, 701, 640, 474

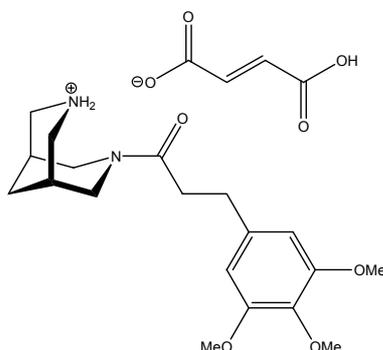
MS (ESI): [M+H⁺] 259.5 (Base)

EA: C₁₆H₂₂N₂O₂ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.5 H₂O (383.44)

ber.: C: 62.65 % H: 7.10 % N: 7.31 %

gef.: C: 62.62 % H: 7.05 % N: 7.42 %

7.4.52 3,4,5-Trimethoxyphenylpropionyl-Bispidin Fumarat 195



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 48 Std. mit 3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)propionsäure (240 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 375 mg (84 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (270 mg, 0.60 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 192 mg (92 %) eines leicht gelben Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (96 mg, 0.28 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (32 mg, 0.28 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 96 mg (73 %); (56 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 124-126 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)propanoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.83 (br d, *J* = 13.5 Hz, 1 H); 1.95 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 2.21 (br s, 1 H); 2.29 (br s, 1 H); 2.71 (br m, 1 H); 2.84-3.01 (br m, 5 H); 3.29 (br m, 2 H); 3.42 (br m, 2 H); 3.76 (s, 3 H); 3.85 (s, 6 H); 4.01 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.39 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.63 (s, 2 H); 6.67 (s, 2.0 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.4 (+); 30.2 (-); 34.1 (-); 37.9 (-); 48.8 (-); 50.1 (-); 50.5 (-); 52.2 (-); 58.9 (+); 63.8 (+); 108.9 (+); 137.5 (+); 138.1 (C_{quart}); 140.7 (C_{quart}); 155.3 (C_{quart}); 174.4 (C=O); 180.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3440 (ν OH), 2940 u. 2842 (ν CH₂), 2623 (ν NH₂⁺), 1707 u. 1641 (ν C=O), 1590, 1508, 1458 (δ CH₂), 1423, 1241, 1126, 1006, 973 (trans-C=C-), 908, 832, 647, 591, 528, 485

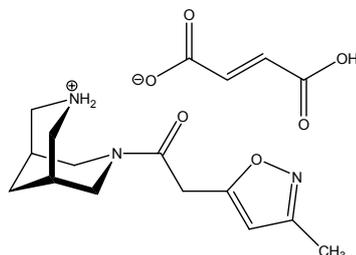
MS (ESI): [M+H⁺] 349.1 (Base)

EA: C₁₉H₂₈N₂O₄ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (478.03)

ber.: C: 57.79 % H: 7.06 % N: 5.86 %

gef.: C: 57.80 % H: 7.06 % N: 6.10 %

7.4.53 (3-Methylisoxazol-5-yl)-acetyl-Bispidin Fumarat 196



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-tBoc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 48 Std. mit 2-(3-Methylisoxazol-5-yl)essigsäure (141 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 234 mg (67 %) eines gelblichen Öls. Zur Entfernung der tBoc-Schutzgruppe wird dieses Öl (180 mg, 0.52 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (348 mg, 1.55 mmol) für 72 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 126 mg (98 %) eines leicht gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (74 mg, 0.30 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (34 mg, 0.30 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 79 mg (71 %); (46 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 168-169 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-(3-Methylisoxazol-5-yl)acetyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.96 (br m, 1 H); 2.02 (br m, 1 H); 2.29 (s, 3 H); 2.35 (br s, 2 H); 3.13 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 3.30-3.40 (br m, 2 H); 3.46 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 3.53 (br d, *J* = 13.3 Hz, 2 H); 4.05 (br d, *J* = 17.0 Hz, 1 H); 4.13 (br d, *J* = 16.7 Hz, 2 H); 4.39 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 6.26 (s, 1 H); 6.69 (s, 2.0 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 13.3 (+); 28.0 (+); 28.4 (+); 30.1 (-); 35.3 (-); 49.1 (-); 50.2 (-); 50.5 (-); 52.4 (-); 108.1 (+); 137.6 (+); 164.7 (C_{quart}); 168.7 (C_{quart}); 174.4 (C=O); 174.5 (C=O)

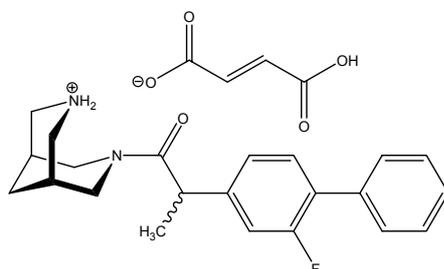
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3474 (v OH), 3139 u. 3121 (v CH_{arom.}), 2958 u. 2873 u. 2834 (v CH₂), 2712 u. 2632 (v NH₂⁺), 1704 u. 1657 u. 1612 (v C=O), 1590, 1476 u. 1451 u. 1430 (δ CH₂), 1397, 1351, 1277, 1226, 1172, 1111, 970 (trans-C=C-), 914, 887, 810, 636, 523, 475

MS (ESI): [M+H⁺] 250.4 (Base)

EA: C₁₃H₁₉N₃O₂ * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.6 H₂O (376.20)

ber.: C: 54.28 % H: 6.48 % N: 11.17 %

gef.: C: 54.37 % H: 6.48 % N: 11.17 %

7.4.54 Flurbiprofenoyl-Bispidin Fumarat **197**

Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 48 Std. mit 2-(2-Fluorbiphenyl-4-yl)propansäure (244 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 401 mg (89 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (350 mg, 0.77 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 244 mg (90 %) eines leicht gelblichen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (166 mg, 0.47 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (55 mg, 0.47 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 152 mg (66 %); (53 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 152-157 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-(2-Fluorbiphenyl-4-yl)propanoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.48 (d, *J* = 6.7 Hz, 3 H); 1.85 (br d, *J* = 12.7 Hz, 1 H); 1.98 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 2.15 (br s, 1 H); 2.24 (br s, 1 H); 2.84 (br m, 1 H); 2.98 (br m, 1 H); 3.27-3.33 (br m, 2 H); 3.44 (br m, 1 H); 3.57 (br m, 1 H); 4.22 (br m, 1 H); 4.29 (br m, 1 H); 4.60 (br m, 1 H); 6.72 (s, 2.0 H); 7.06-7.19 (br m, 2 H); 7.36-7.41 (m, 1 H); 7.43-7.50 (m, 3 H); 7.52-7.56 (m, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 21.0 (+); 27.2 (+); 27.3 (+); 29.1 (-); 44.4 (+); 47.9 (-); 48.4 (-); 48.8 (-); 50.7 (-); 116.02 (d, *J*_{C,F} = 20.3 Hz, C_{quart}); 116.04 (d, *J*_{C,F} = 25.0 Hz, +); 124.7 (d, *J*_{C,F} = 8.4 Hz, +); 128.8 (+); 129.5 (+); 129.9 (d, *J*_{C,F} = 2.4 Hz, +); 132.5 (d, *J*_{C,F} = 1.2 Hz, +); 136.2 (+); 136.6 (C_{quart}); 144.0 (d, *J*_{C,F} = 9.6 Hz, C_{quart}); 161.2 (d, *J*_{C,F} = 247.8 Hz, C_{quart}); 171.3 (C=O); 176.7 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3432 (ν OH), 3056 u. 3033 (ν CH_{arom.}), 2984 u. 2834 u. 2862 (ν CH₂), 2621 (ν NH₂⁺), 1705 u. 1642 (ν C=O), 1581, 1484, 1457 (δ CH₂), 1417, 1253, 1130, 1083, 982 u. 974 (trans-C=C-), 931, 908, 769, 726, 700, 647, 576, 526

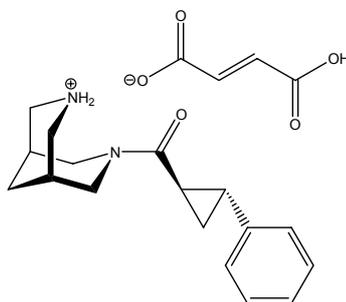
MS (ESI): [M+H⁺] 353.4 (Base)

EA: C₂₂H₂₅FN₂O₃ * 1.0 C₄H₄O₄ * 1.25 H₂O (491.04)

ber.: C: 63.60 % H: 6.47 % N: 5.70 %

gef.: C: 63.64 % H: 6.42 % N: 5.89 %

7.4.55 2-Phenylcyclopropanoyl-Bispidin Fumarat 198



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 48 Std. mit *trans*-2-Phenylcyclopropanocarbonsäure (198 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 326 mg (88 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (250 mg, 0.67 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 177 mg (97 %) eines klaren Öls. Zur Überführung diesen Öls (67 mg, 0.25 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (29 mg, 0.25 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 28 mg (28 %); (24 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 101-102 °C

IUPAC: 7-(2-Phenylcyclopropanoyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.41-1.52 (br m, 1.5 H); 1.65-1.73 (br m, 0.5 H); 1.90-2.03 (br m, 2 H); 2.23-2.38 (br m, 3.5 H); 2.60 (br s, 0.5 H); 3.11 (br d, *J* = 14.0 Hz, 1 H); 3.28-3.58 (br m, 5 H); 4.26-4.43 (br m, 2 H); 6.67 (s, 1.6 H); 7.19-7.45 (m, 5 H) [Rotamere sichtbar]

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 17.6 (-); 27.3 (+); 28.1 (+); 28.4 (+); 28.6 (+); 30.3 (-); 49.5 (-); 50.3 (-); 50.6 (-); 52.3 (-); 128.9 (+); 129.6 (+); 131.7 (+); 137.6 (+); 143.3 (C_{quart}); 174.5 (C=O); 179.2 (C=O) [Rotamere sichtbar]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3433 (ν OH), 3028 u. 305 (ν CH_{arom.}), 2934 u. 2860 (ν CH₂), 2623 (ν NH₂⁺), 1705 u. 1637 (ν C=O), 1459 u. 1442 (δ CH₂), 1426, 1375, 1251, 1228, 1108, 983 u. 972 (trans-C=C-), 907, 759, 700, 647, 538, 518, 482

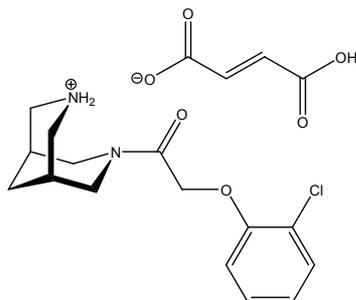
MS (ESI): [M+H⁺] 271.3 (Base)

EA: C₁₇H₂₂N₂O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.75 H₂O (399.96)

ber.: C: 63.06 % H: 6.93 % N: 7.00 %

gef.: C: 63.14 % H: 7.04 % N: 7.02 %

7.4.56 N-o-Chlorphenoxyacetyl-Bispidin Fumarat 199



Synthese: N-Carbonylimidazol-N'-*t*Boc-Bispidin **108** (320 mg, 1 mmol) wird nach AAV 2 für 24 Std. mit 2-(2-Chlorphenoxy)essigsäure (187 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 186 mg (47 %) eines klaren Öls. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieses Öl (130 mg, 0.33 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 95 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (46 mg, 0.16 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (18 mg, 0.16 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 40 mg (62 %); (29 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 145-149 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(2-(2-Chlorphenoxy)acetyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 2.02 (br m, 2 H); 2.34 (br s, 1 H); 2.37 (br s, 1 H); 3.18 (br d, *J* = 13.4 Hz, 1 H); 3.35 (br m, 2 H); 3.49 (br d, *J* = 13.1 Hz, 1 H); 3.59 (br m, 2 H); 4.00 (br d, *J* = 13.2 Hz, 1 H); 4.38 (br d, *J* = 13.9 Hz, 1 H); 4.85 (br d, *J* = 14.3 Hz, 1 H); 5.15 (br d, *J* = 14.6 Hz, 1 H); 6.68 (s, 1.8 H); 7.07 (m, 2 H); 7.33 (m, 1 H); 7.50 (dd, *J* = 8.2, 1.3 Hz, 1 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.0 (+); 28.2 (+); 30.2 (-); 49.0 (-); 50.2 (-); 50.5 (-); 51.2 (-); 70.1 (-); 117.2 (+); 124.7 (C_{quart}); 125.8 (+); 131.2 (+); 133.3 (+); 137.5 (+); 155.5 (C_{quart}); 174.2 (C=O); 176.4 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3441 (ν OH), 3065 (ν CH_{arom.}), 2936 u. 2866 (ν CH₂), 2607 (ν NH₂⁺), 1662 (ν C=O), 1589, 1485, 1457 (δ CH₂), 1287, 1248, 1229, 1079, 970 (trans-C=C-), 908, 752, 685, 644, 472

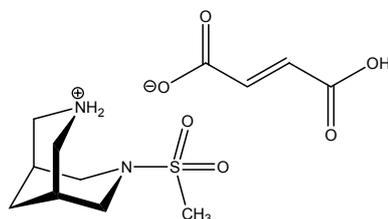
MS (ESI): [M+H⁺] 295.1 (Base)

EA: C₁₅H₁₉ClN₂O₂ * 0.9 C₄H₄O₄ * 0.8 H₂O (413.66)

ber.: C: 54.01 % H: 5.90 % N: 6.77 %

gef.: C: 53.98 % H: 5.80 % N: 6.80 %

7.4.57 Mesyl-Bispidin Fumarat 201



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Methylsulfonylchlorid (115 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 280 mg (91 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (230 mg, 0.76 mmol) nach AAV 4 für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 146 mg (95 %) eines weißen Feststoffes. Zur Überführung dieses Feststoffes (110 mg, 0.54 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (63 mg, 0.54 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 163 mg (94 %); (81 % über 3 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 179 °C (Zers.)

IUPAC: 7-Methylsulfonyl-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.90 (br m, 1 H); 2.00 (br m, 1 H); 2.38 (br s, 2H); 2.99 (s, 3 H); 3.18 (br m, 2 H); 3.36 (br d, *J* = 13.3 Hz, 2 H); 3.59 (br d, *J* = 13.3 Hz, 2 H); 3.84 (br m, 2 H); 6.69 (s, 1.8 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.4 (+); 30.4 (-); 34.3 (+); 50.2 (-); 53.2 (-); 137.6 (+); 174.5 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3457 (v OH), 3237, 3198, 3096, 2933 u. 2865 u. 2824 (v CH₂), 2604 (v NH₂⁺), 1705 u. 1654 (v C=O), 1605, 1465 (δ CH₂), 1337 (v SO₂-NR₁R₂), 1164 (v SO₂-NR₁R₂), 1101, 1027, 986 u. 962 (trans-C=C-), 922, 778, 644, 540, 522, 469

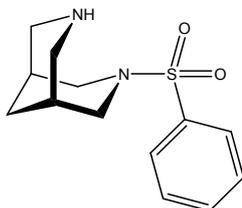
MS (ESI): [M+H⁺] 205.1 (Base)

EA: C₈H₁₆N₂O₂S * 0.9 C₄H₄O₄ * 0.7 H₂O (321.37)

ber.: C: 43.35 % H: 6.59 % N: 8.72 %

gef.: C: 43.43 % H: 6.51 % N: 8.62 %

7.4.58 Phenylsulfonyl-Bispidin 202



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Phenylsulfonylchlorid (177 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (20:1) benutzt. Man erhält 324 mg (87 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (90 mg, 0.25 mmol) nach AAV 4 für 4 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 63 mg (96 %) eines gelblichen Feststoffes.

Ausbeute: 63 mg (96 %); (84 % über 2 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 101 °C

IUPAC: 3-Phenylsulfonyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.51 (br m, 1 H); 1.86 (br m, 1 H); 2.57-2.61 (br m, 4 H); 3.05 (br m, 2 H); 3.23 (br d, *J* = 14.0 Hz, 2 H); 3.92 (br d, *J* = 11.5 Hz, 2 H); 7.55 (m, 2 H); 7.62 (m, 1 H); 7.75 (m, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 28.1 (+); 31.2 (-); 50.7 (-); 51.3 (-); 128.1 (+); 129.2 (+); 133.1 (+); 134.4 (C_{quart})

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3417 u. 3343 u. 3264 (ν OH), 3066 (ν CH_{arom.}), 2903 u. 2857 (ν CH₂), 1462 u. 1447 (δ CH₂), 1345 (ν SO₂-NR₁R₂), 1304, 1208, 1172 (ν SO₂-NR₁R₂), 1091, 999, 946, 927, 832, 758, 739, 689, 575, 523

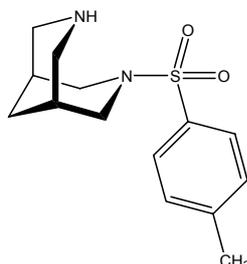
MS (ESI): [M+H⁺] 267.0 (Base)

EA: C₁₃H₁₈N₂O₂S * 0.7 H₂O (321.37)

ber.: C: 43.35 % H: 6.59 % N: 8.72 %

gef.: C: 43.43 % H: 6.51 % N: 8.62 %

7.4.59 Tosyl-Bispidin 203



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit Tosylchlorid (190 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (9:1) benutzt. Man erhält 377 mg (97 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (200 mg, 0.53 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (237 mg, 1.05 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 145 mg (98 %) eines gelblichen Feststoffes.

Ausbeute: 145 mg (98 %); (95 % über 2 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 111 °C

IUPAC: 3-Tosyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.50 (br m, 1 H); 1.71 (br m, 1 H); 1.85 (br s, 2 H); 2.44 (s, 3 H); 2.58 (br m, 2 H); 2.73 (br s, 1 H); 3.02 (br m, 2 H); 3.21 (br d, *J* = 14.1 Hz, 2 H); 3.89 (br d, *J* = 10.8 Hz, 2 H); 7.34 (d, *J* = 8.0 Hz, 2 H); 7.62 (d, *J* = 8.3 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 21.7 (+); 28.3 (+); 31.3 (-); 50.9 (-); 51.3 (-); 128.1 (+); 129.7 (+); 131.4 (C_{quart}); 143.8 (C_{quart})

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3343, 3089 u. 3065 u. 3044 u. 3028 (ν CH_{arom.}), 2931 u. 2893 u. 2851 (ν CH₂), 1598, 1458 (δ CH₂), 1341 (ν SO₂-NR₁R₂), 1271, 1205, 1166 (ν SO₂-NR₁R₂), 1098, 1089, 1048, 996, 925, 812, 756, 725, 650, 579, 549, 519

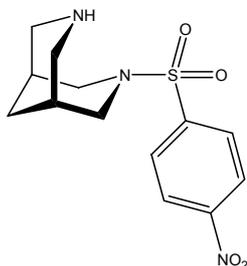
MS (ESI): [M+H⁺] 281.4 (Base)

EA: C₁₃H₁₈N₂O₂S * 0.5 H₂O (289.40)

ber.: C: 58.10 % H: 7.31 % N: 9.68 %

gef.: C: 58.17 % H: 7.28 % N: 9.42 %

7.4.60 p-Nitrophenylsulfonyl-Bispidin 204



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 4-Nitrophenylsulfonylchlorid (222 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (40:1) benutzt. Man erhält 272 mg (65 %) eines gelblichen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (253 mg, 0.61 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (277 mg, 1.23 mmol) für 12 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 177 mg (92 %) eines gelblichen Feststoffes.

Ausbeute: 177 mg (92 %); (60 % über 2 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 185 °C (Zers.)

IUPAC: 3-(4-Nitrophenylsulfonyl)-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.52 (br m, 1 H); 1.74 (br s, 2 H); 1.89 (br m, 1 H); 2.16 (br s, 1 H); 2.64 (br m, 2 H); 3.03 (br m, 2 H); 3.21 (br d, *J* = 14.1 Hz, 2 H); 3.96 (br d, *J* = 10.9 Hz, 2 H); 7.94 (ddd, *J* = 8.9, 2.2, 2.0 Hz, 2 H); 8.40 (ddd, *J* = 8.9, 2.2, 2.0 Hz, 2 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 28.2 (+); 31.2 (-); 50.9 (-); 51.3 (-); 124.4 (+); 129.1 (+); 140.7 (C_{quart}); 150.4 (C_{quart})

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3424, 3108 (ν CH_{arom.}), 2950 u. 2912 u. 2855 (ν CH₂), 1607, 1530 (ν N=O), 1461 (δ CH₂), 1401, 1349 (ν SO₂-NR₁R₂ und N=O), 1313, 1205, 1168 (ν SO₂-NR₁R₂), 1087, 924, 855, 810, 750, 737, 707, 684, 603, 572, 518

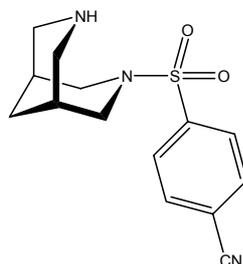
MS (ESI): [M+H⁺] 312.0 (Base)

EA: C₁₃H₁₇N₃O₄S * 0.5 H₂O (320.37)

ber.: C: 48.74 % H: 5.66 % N: 13.12 %

gef.: C: 48.73 % H: 5.50 % N: 12.34 %

7.4.61 p-Cyanophenylsulfonyl-Bispidin 205



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin **93** (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 4-Cyanophenylsulfonylchlorid (202 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (9:1) benutzt. Man erhält 295 mg (75 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (200 mg, 0.51 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (230 mg, 1.02 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 105 mg (71 %) eines gelblichen Feststoffes.

Ausbeute: 105 mg (71 %); (53 % über 2 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 169 °C

IUPAC: 4-(3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan-3-ylsulfonyl)benzonitril

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.53 (br m, 1 H); 1.75 (br s, 2 H); 1.89 (br m, 1 H); 2.44 (br s, 1 H); 2.62 (br m, 2 H); 3.05 (br m, 2 H); 3.22 (br d, *J* = 14.0 Hz, 2 H); 3.94 (br d, *J* = 11.4 Hz, 2 H); 7.86 (m, 4 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 28.2 (+); 31.2 (-); 51.0 (-); 51.3 (-); 116.8 (C_{quart}); 117.4 (C_{quart}); 128.6 (+); 133.0 (+); 139.1 (C_{quart})

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3405, 3075 u. 3037 u. 3018 (ν CH_{arom.}), 2983 u. 2912 u. 2867 u. 2851 (ν CH₂), 2237 (ν CN), 1469 u. 1459 (δ CH₂), 1344 (ν SO₂-NR₁R₂), 1207, 1185, 1164 (ν SO₂-NR₁R₂), 1092, 998, 951, 932, 836, 728, 714, 629, 581, 520

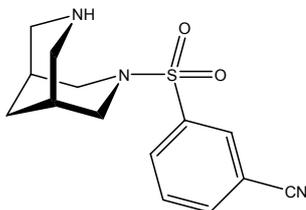
MS (ESI): [M+H⁺] 292.1 (Base)

EA: C₁₄H₁₇N₃O₂S * 0.75 H₂O (304.89)

ber.: C: 55.15 % H: 6.12 % N: 13.78 %

gef.: C: 55.47 % H: 5.97 % N: 13.39 %

7.4.62 m-Cyanophenylsulfonyl-Bispidin 206



Synthese: N-*t*Boc-Bispidin (230 mg, 1 mmol) wird nach AAV 1 mit 3-Cyanophenylsulfonylchlorid (202 mg, 1 mmol) umgesetzt. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wird ein Gemisch aus DCM und MeOH (9:1) benutzt. Man erhält 385 mg (98 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (200 mg, 0.51 mmol) nach AAV 5 mit wasserfreiem ZnBr₂ (230 mg, 1.02 mmol) für 48 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 138 mg (93 %) eines gelblichen Feststoffes.

Ausbeute: 138 mg (93 %); (91 % über 2 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 146 °C

IUPAC: 3-(3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan-3-ylsulfonyl)benzonnitril

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.53 (br m, 1 H); 1.75 (br s, 2 H); 1.89 (br m, 1 H); 2.52 (br s, 1 H); 2.62 (br m, 2 H); 3.04 (br m, 2 H); 3.21 (br d, *J* = 14.1 Hz, 2 H); 3.93 (br d, *J* = 11.4 Hz, 2 H); 7.70 (ddd, *J* = 7.9, 7.9, 0.5 Hz, 1H); 7.89 (ddd, *J* = 7.8, 1.6, 1.2 Hz, 1H); 7.97 (ddd, *J* = 8.0, 1.8, 1.2 Hz, 1H); 8.04 (ddd, *J* = 1.7, 1.7, 0.5 Hz, 1H)

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 28.1 (+); 31.1 (-); 50.8 (-); 51.3 (-); 113.9 (C_{quart}); 117.3 (C_{quart}); 130.2 (+); 131.4 (+); 131.9 (+); 136.0 (+); 136.6 (C_{quart})

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3364, 3094 u. 3084 u. 3072 u. 3057 u. 3019 (v CH_{arom.}), 2929 u. 2914 u. 2888 u. 2849 (v CH₂), 2232 (v CN), 1471 u. 1453 (δ CH₂), 1343 (v SO₂-NR₁R₂), 1273, 1209, 1159 (v SO₂-NR₁R₂), 1049, 993, 940, 820, 803, 746, 719, 689, 616, 590, 551, 513

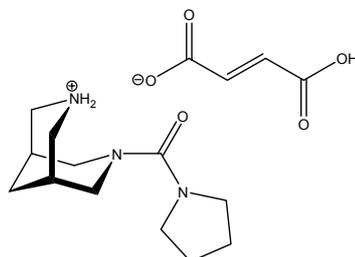
MS (ESI): [M+H⁺] 292.3 (Base)

EA: C₁₄H₁₇N₃O₂S * 0.75 H₂O (304.89)

ber.: C: 55.15 % H: 6.12 % N: 13.78 %

gef.: C: 55.47 % H: 5.97 % N: 13.39 %

7.4.63 Pyrrolidincarbonyl-Bispidin Fumarat 207



Synthese: N-Carbonylimidazol-pyrrolidin **116a** (182 mg, 1.1 mmol) wird in 2 ml ACN gelöst und zusammen mit Methyljodid (625 mg, 4.4 mmol) für 24 Std. gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels und des überschüssigen Methyljodids wird dem Rückstand TEA (101 mg, 1 mmol), N-*t*Boc-Bispidin **93** (226 mg, 1 mmol) und 10 ml DCM zugegeben und das Gemisch 24 Std. bei RT gerührt. Die organische Phase wird zweimal mit 5 ml HCl-Lösung (1N) und einmal mit 5 ml Wasser gewaschen. Danach wird mit MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittels am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch mit einem Gemisch von DCM und MeOH (40:1) aufgereinigt. Man erhält 223 mg (69 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (180 mg, 0.56 mmol) nach AAV 4 für 3 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 120 mg (97 %) eines weißen Feststoffes. Dieser Feststoff (105 mg, 0.47 mmol) wird nach AAV 6 aus 2 ml eines Gemisches von Et_2O und MeOH (9:1) als Fumarat gefällt.

Ausbeute: 109 mg (67 %); (45 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 166-169 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Pyrrolidin-1-carbonyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

$^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, MeOD) δ [ppm]: 1.88-1.93 (br m, 5 H); 1.97-2.02 (br m, 1 H); 2.17 (br m, 2 H); 3.09-3.13 (br m, 2 H); 3.29-3.34 (br m, 2 H); 3.43-3.47 (br m, 4H); 3.50 (br d, $J = 12.8$ Hz, 2 H); 3.81 (br d, $J = 13.3$ Hz, 2 H); 6.68 (s, 2.0 H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (125 MHz, MeOD) δ [ppm]: 26.5 (-); 27.9 (+); 30.5 (-); 48.9 (-); 49.4 (-); 52.1 (-); 136.2 (+); 164.8 (C=O); 171.5 (C=O)

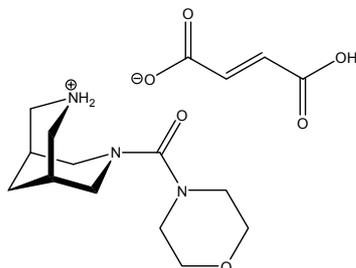
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3441 (v OH), 2966 u. 2876 (v CH_2), 2630 (v NH_2^+), 1710 u. 1635 (v C=O), 1425, 1349, 1196, 972 (trans-C=C-), 915, 881, 645, 510, 419

MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}^+]$ 224.1 (Base)

EA: $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O} \cdot 1.0 \text{ C}_4\text{H}_4\text{O}_4 \cdot 0.25 \text{ H}_2\text{O}$ (343.90)

ber.: C: 55.88 % H: 7.47 % N: 12.22 %

gef.: C: 55.88 % H: 7.53 % N: 12.13 %

7.4.64 Morpholincarboxyl-Bispidin Fumarat **208**

Synthese: N-Carbonylimidazol-morpholin **116b** (182 mg, 1.1 mmol) wird in 2 ml ACN gelöst und zusammen mit Methyljodid (625 mg, 4.4 mmol) für 24 Std. gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels und des überschüssigen Methyljodids wird dem Rückstand TEA (101 mg, 1 mmol), N-*t*Boc-Bispidin **93** (226 mg, 1 mmol) und 10 ml DCM zugegeben und das Gemisch 24 Std. bei RT gerührt. Anschließend wird der Rückstand säulenchromatographisch mit einem Gemisch von DCM und MeOH (9:1) aufgereinigt. Man erhält 336 mg (99 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (130 mg, 0.38 mmol) nach AAV 4 für 2 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 87 mg (95 %) eines klaren Öls. Zur Überführung dieses Öls (87 mg, 0.36 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (42 mg, 0.36 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 57 mg (44 %); (42 % über 4 Schritte) – gelblicher Feststoff

Smp.: 155-158 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(Morpholin-1-carboxyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.93 (br m, 1 H); 1.98 (br m, 1 H); 2.24 (br s, 2 H); 3.27 (br m, 2 H); 3.35 (br m, 2 H); 3.38 (dd, *J* = 4.9, 4.7 Hz, 4H); 3.54 (br d, *J* = 13.2 Hz, 2 H); 3.76 (dd, *J* = 4.9, 4.7 Hz, 4 H); 3.78 (br m, 2 H); 6.73 (s, 1.5 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 28.8 (+); 31.4 (-); 49.3 (-); 50.4 (-); 53.9 (-); 69.1 (-); 137.5 (+); 168.0 (C=O); 173.9 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3440 (ν OH), 2960 u. 2926 u. 2857 (ν CH₂), 2701 (ν NH₂⁺), 1679 u. 1637 (ν C=O), 1483, 1425, 1360, 1271, 1239, 1115, 1029, 985 u. 967 (trans-C=C-), 874, 806, 646, 585, 508, 450

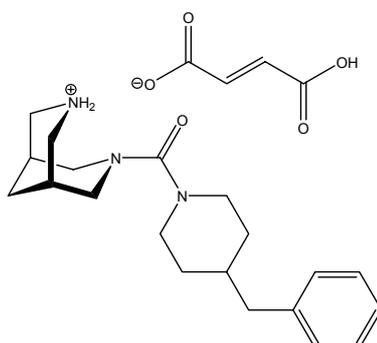
MS (ESI): [M+H⁺] 240.4 (Base)

EA: C₁₂H₂₁N₃O₂ * 0.75 C₄H₄O₄ * 1.5 H₂O (353.40)

ber.: C: 50.98 % H: 7.70 % N: 11.89 %

gef.: C: 51.00 % H: 7.47 % N: 11.80 %

7.4.65 4-Benzylpiperidincarboxyl-Bispidin Fumarat 209



Synthese: N-Carbonylimidazol-4-benzylpiperidin **116c** (296 mg, 1.1 mmol) wird in 2 ml ACN gelöst und zusammen mit Methyljodid (625 mg, 4.4 mmol) für 24 Std. gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels und des überschüssigen Methyljodids wird dem Rückstand TEA (101 mg, 1 mmol), N-*t*Boc-Bispidin **93** (226 mg, 1 mmol) und 10 ml DCM zugegeben und das Gemisch 24 Std. bei RT gerührt. Die organische Phase wird zweimal mit 5 ml verdünnter HCl-Lösung (1N) und anschließend einmal mit 5 ml Wasser gewaschen. Anschließend wird mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittels am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Dann wird der Rückstand säulenchromatographisch mit einem Gemisch von DCM und MeOH (40:1) aufgereinigt. Man erhält 355 mg (83 %) eines weißen Feststoffes. Zur Entfernung der *t*Boc-Schutzgruppe wird dieser Feststoff (300 mg, 0.70 mmol) nach AAV 4 für 3 Std. bei RT gerührt. Nach der Aufarbeitung erhält man 191 mg (83 %) eines klaren Öls. Zur Überführung diesen Öls (124 mg, 0.38 mmol) in das Fumarat kommt AAV 7 mit Fumarsäure (44 mg, 0.38 mmol) zum Einsatz.

Ausbeute: 124 mg (72 %); (50 % über 4 Schritte) – weißer Feststoff

Smp.: 172-175 °C (Zers.)

IUPAC: 7-(4-Benzylpiperidin-1-carboxyl)-7-aza-3-azonium-bicyclo[3.3.1]nonan Fumarat

¹H-NMR: (500 MHz, D₂O) δ [ppm]: 1.17-1.27 (br m, 2 H); 1.69 (br m, 2 H); 1.82 (br m, 1 H); 1.91 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1 H); 1.97 (br d, *J* = 13.6 Hz, 1 H); 2.21 (br s, 2 H); 2.61 (d, *J* = 7.1 Hz, 2 H); 2.87 (dt, *J* = 12.4, 1.9 Hz, 2 H); 3.22 (br d, *J* = 13.1 Hz, 2 H); 3.34 (br d, *J* = 13.1 Hz, 2 H); 3.53 (br d, *J* = 13.2 Hz, 2 H); 3.70 (br m, 4 H); 6.69 (s, 2.0 H); 7.26-7.41 (m, 5 H)

¹³C-NMR: (125 MHz, D₂O) δ [ppm]: 27.5 (+); 30.2 (-); 32.8 (-); 38.8 (+); 43.4 (-); 48.1 (-); 49.1 (-); 52.9 (-); 127.6 (+); 129.9 (+); 130.8 (+); 136.2 (+); 142.3 (C_{quart}); 166.8 (C=O); 173.0 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3441 (ν OH), 3059 u. 3023 (ν CH_{arom.}), 2937 u. 2853 (ν CH₂), 2594 (ν NH₂⁺), 1704 u. 1628 (ν C=O), 1454 (δ CH₂), 1425, 1366, 1248, 981 u. 965 (trans-C=C-), 910, 747, 700, 622, 511, 466

MS (ESI): [M+H⁺] 328.4 (Base)

EA: C₂₀H₂₉N₃O * 1.0 C₄H₄O₄ * 0.5 H₂O (452.55)

ber.: C: 63.70 % H: 7.57 % N: 9.29 %

gef.: C: 63.49 % H: 7.64 % N: 9.33 %

7.5 Stabilitätstest der Bispidin-Derivate

Vorbereitung

4.0 mg der zu vermessenden Substanz werden in einem 2 mL Autosampler-Braunglasvial gefüllt, in 1 mL HEPES-Puffer (pH 7.4; Herstellung siehe Kap. 7.9.1) gelöst und mit einer Schraubkappe mit Teflon-Silikon-Dichtung verschlossen. Der Stabilitätstest findet bei Raumtemperatur statt. Von dieser Lösung werden nach 5, 50, 90 und 180 Minuten je 5 µL mit einem Autosampler auf die Säule der LCMS aufgetragen und vermessen. Man beginnt mit einem Gradienten von 10 % MeOH und 90 % Wasser. Nach 10 Minuten wird der Gradient innerhalb von 10 Minuten auf 100 % MeOH erhöht und abschließend weitere 10 Minuten bei 100 % MeOH gemessen.

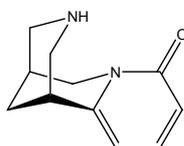
Auswertung

Es werden sowohl die Massenspektren als auch die Chromatogramme zur Auswertung benutzt. Das Integrieren der Chromatogramme erfolgt mit Hilfe der Software der LCMS-Anlage. Die Integrale der Chromatogramme erlauben eine Aussage über quantitative Zusammenhänge und die Massenspektren dienen zur Unterstützung dieser Aussagen.

7.6 Gewinnung von (-)-Cytisin und Synthese von Zwischenprodukten

7.6.1 Isolierung von (-)-Cytisin **34**

Zur Gewinnung von (-)-Cytisin **34** wurden die Samen und Schoten des Goldregenbaumes (*Laburnum anagyroides* und *Laburnum watereri*) aus dem Raum Köln-Bonn im Zeitraum zwischen Oktober und November gesammelt. Das Pflanzenmaterial wurde mehrere Wochen bei RT getrocknet und zur Vorbereitung auf die Extraktion in einer Schlagmühle zu einem feinen Pulver zermahlen.



Isolierung: 1000 g des fein gemahlene Goldregensamenpulvers werden mit zwei Liter PE in ein 5 L Becherglas gegeben und 4 Std. intensiv gerührt. Dann wird das Lösungsmittel abfiltriert und der Rückstand zweimal mit je einem Liter PE gewaschen. Der Rückstand wird locker ausgebreitet und über Nacht unter dem Abzug stehen gelassen, bis das restliche Lösungsmittel verdampft ist. Das so entfettete Goldregensamenpulver wird nun wieder in ein 5 L Becherglas gegeben und mit 4.4 Litern eines Gemisches aus DCM, MeOH und NH₃ (8:2:1) 8 Std. lang mit einem *Ultra-Turrax*® zerkleinert und gerührt. Über den Tag entweichendes Lösungsmittel wird ggf. nachgefüllt. Danach wird die grünbraune Aufschlämmung filtriert und zweimal mit je einem Liter desselben Lösungsmittelgemisches gewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck bis auf ca. 300 ml eingeengt und anschließend wieder auf etwa einen Liter Volumen mit DCM aufgefüllt. Die dunkelgrüne Lösung wird dreimal mit je 150 ml HCl-Lösung (1N) ausgeschüttelt. Die vereinigten wässrigen Phasen werden mit festem NaOH auf einen pH-Wert > 12 alkalisiert und anschließend mind. 20 Mal mit je 100 ml DCM ausgeschüttelt. Dabei werden die ersten fünf Fraktionen getrennt gesammelt, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand auf einer kurzen Kieselgelsäule mit einem Gemisch aus CHCl₃, MeOH und NH₃ (60:10:1) aufgereinigt. Das dabei sauber erhaltene Cytisin **34** wird mit dem ebenfalls sehr reinen Cytisin **34** aus den weiteren Fraktionen 6-20 vereinigt. Restliches Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

Tab. 7.1: Ausbeute an (-)-Cytisin **34** aus verschiedenen Ansätzen Goldregensamenpulver

Ansatz	Ansatzgröße	(-)-Cytisin 34	Ausbeute
1	1000 g	6.2 g	0.62 %
2	1000 g	8.3 g	0.83 %
3	1000 g	7.5 g	0.75 %
4	1000 g	9.9 g	0.99 %
5	1000 g	8.8 g	0.88 %
6	1000 g	4.9 g	0.49 %
7	1000 g	5.1 g	0.51 %
8	1000 g	5.4 g	0.54 %

Ausbeute: 0.49-0.99 % (bezogen auf 1000 g Goldregensamenpulver) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.17 (DCM:MeOH 9:1), 0.10 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 152 °C (Lit.: 153-156 °C)[†]

IUPAC: 1,2,3,4,5,6-Hexahydro-1,5-methano-pyrido[1,2-a][1,5]diazocin-8-on

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.95 (t, *J* = 3.0 Hz, 2 H); 2.31 (br s, 1 H); 2.89 (br m, 1 H); 2.99 (ddd, *J* = 12.4, 2.3, 1.2 Hz, 2 H); 3.04 (dd, *J* = 12.0, 2.3 Hz, 1 H); 3.09 (dd, *J* = 12.4, 1.2 Hz, 1 H); 3.89 (ddd, *J* = 15.6, 6.7, 1.1 Hz, 1 H); 4.11 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 5.98 (dd, *J* = 6.9, 1.1 Hz, 1 H); 6.44 (dd, *J* = 9.0, 1.4 Hz, 1 H); 7.28 (dd, *J* = 9.0, 6.9 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.5 (-); 27.9 (+); 35.8 (+); 49.9 (-); 53.2 (-); 54.2 (-); 105.1 (+); 116.9 (+); 138.9 (+); 151.2 (C_{quart}); 163.8 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3316 u. 3282 (ν NH), 3084 u. 3032 (ν CH_{arom.}), 2985 u. 2934 u. 2914 u. 2897 (ν CH₂), 2835, 2804, 2748, 1650 (ν C=O), 1564, 1541, 1443 (δ CH₂), 1347, 1312, 1141, 909, 821, 793, 737, 577[†]

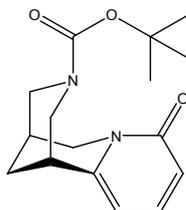
MS (ESI): [M+H⁺] 190.9[†]

EA: C₁₁H₁₄N₂O * 0.25 H₂O[†]

ber.: C: 67.84 % H: 7.50 % N: 14.38 %

gef.: C: 68.01 % H: 7.36 % N: 14.02 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^{320, 489, 541}

7.6.2 Synthese von N-*t*Boc-Cytisin 138

Synthese 1: (-)-Cytisin **34** (6.2 g, 32.6 mmol) wird zusammen mit Di-*tert*-butyldicarbonat (8.54 g, 39.1 mmol) und Natriumcarbonat (4.15 g, 39.1 mmol) in 100 ml DCM und 20 ml Wasser gelöst und unter kräftigem Rühren 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Der Verlauf der Reaktion wird mit Hilfe einer DC kontrolliert. Bis zur vollständigen Umsetzung des Edukts werden kleinere Mengen an Di-*tert*-butyldicarbonat und Natriumcarbonat nachgelegt. Nach dem Abkühlen werden 20 ml gesättigte Natriumchlorid-Lösung dazugegeben und die beiden Phasen voneinander getrennt. Die wässrige Phase wird ein weiteres Mal mit 20 ml DCM ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen mit MgSO₄ getrocknet und filtriert. Dann wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Abschließend wird der Rückstand säulenchromatographisch mit einem Lösungsmittelgemisch aus DCM und MeOH (9:1) auf einer kurzen Kieselgelsäule aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: (50.4-87.5 %) – weißer Feststoff

Tab. 7.2: Mengen an Edukten und Ausbeute an N-*t*Boc-Cytisin **138** aus verschiedenen Ansätzen

Ansatz	Cytisin	(Boc) ₂ O	Na ₂ CO ₃	N- <i>t</i> Boc-Cytisin	Ausbeute	Ausbeute (total)
1	6.2 g	8.54 g	4.15 g	8.28 g	87.5 %	0.54 %
2	8.3 g	11.43 g	5.55 g	8.14 g	64.3 %	0.53 %
3*	7.5 g	10.33 g	5.01 g	2.92 g	25.5 %	0.19 %
4	9.9 g	13.60 g	6.62 g	8.61 g	57.0 %	0.56 %
5	8.8 g	12.11 g	5.88 g	6.89 g	50.4 %	0.45 %
6	4.9 g	6.75 g	3.28 g	6.24 g	83.4 %	0.41 %
7	5.1 g	7.03 g	3.42 g	4.37 g	56.0 %	0.29 %
8	5.4 g	7.43 g	3.61 g	6.28 g	76.2 %	0.41 %

* Ein Teil dieses Ansatzes ging während der Reaktion aufgrund eines Kolbenbruches verloren

Synthese 2: (-)-Cytisin **34** (203 mg, 1.07 mmol) wird zusammen mit Di-*tert*-butyldicarbonat (233 mg, 1.07 mmol) in 5 ml MeOH gelöst. Dann wird vorsichtig elementares Iod (27.1 mg, 0.11 mmol) dazugeben, das Reaktionsgefäß verschlossen und die Reaktion 2 Std. bei RT gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 15 ml DCM aufgenommen und es wird nacheinander mit 10 ml 5%iger Natriumthiosulfatlösung und 15 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden noch einmal mit 10 ml DCM ausgeschüttelt. Dann werden die vereinigten organischen Phasen mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Abschließend wird das Produkt säulenchromatographisch mit einem Lösungsmittelgemisch aus DCM und MeOH (40:1) auf einer Kieselgelsäule aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: (92 %) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.64 (DCM:MeOH 9:1), 0.34 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 149-150 °C (Lit.: 156-157 °C)[†]

IUPAC: 8-Oxo-1,5,6,8-tetrahydro-2*H*,4*H*-1,5-methano-pyrido[1,2-*a*][1,5]diazocin-3-carbonsäure-*tert*-butylester

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.32 (br s, 9 H); 1.93 (dm, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 1.99 (br d, *J* = 12.9 Hz, 1 H); 2.40 (br s, 1 H); 2.90-3.13 (m, 3 H); 3.82 (ddd, *J* = 15.6, 6.6, 1.2 Hz, 1 H); 4.06-4.41 (br m, 2 H); 4.17 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 6.05 (br s, 1 H); 6.42 (br d, *J* = 8.9 Hz, 1 H); 7.27 (dd, *J* = 9.1, 6.9 Hz, 1 H)
[Rotamere sichtbar][†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.3 (-); 27.7 (+); 28.8 (+); 35.0 (+); 49.0 (-); 50.7 (-); 51.8 (-); 80.6 (C_{quart}); 105.9 (+); 117.3 (+); 139.1 (+); 149.9 (C_{quart}); 154.7 (C=O); 163.6 (C=O) [Rotamere sichtbar][†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3217, 3099 u. 3058 u. 3011 (ν CH_{arom.}), 2978 u. 2939 u. 2863 (ν CH₂), 1687 u. 1654 (ν C=O), 1544, 1465 u. 1445 u. 1421 (δ CH₂), 1364, 1235, 1172, 1127, 818, 760, 572, 518[†]

MS (ESI): [M+H⁺] 291.3[†]

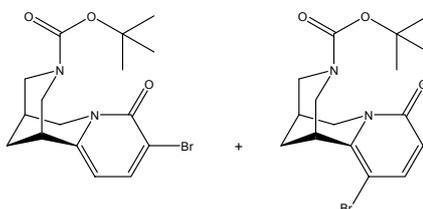
EA:

C₁₆H₂₂N₂O₃[†]

ber.: C: 66.18 % H: 7.64 % N: 9.65 %

gef.: C: 66.07 % H: 7.81 % N: 9.45 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^{320, 542}

7.6.3 Bromierung von N-*t*Boc-Cytisin

Synthese 1: N-*t*Boc-Cytisin **138** (1000 mg, 3.44 mmol) wird zusammen mit N-Brom-succinimid (NBS) (613 mg, 3.44 mmol) in 50 ml DCM gelöst und für 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der ölige Rückstand wird säulenchromatographisch mit einem Gemisch aus DCM, Aceton und MeOH (84:15:1) auf Kieselgel aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. (Ansätze 1 bis 4)

Ausbeute: (90.2 – 99.6 %) – zwei weiße Feststoffe (s. Kap. 7.5.4 und 7.5.5)

Synthese 2: N-*t*Boc-Cytisin **138** (4 g, 13.78 mmol) wird zusammen mit N-Brom-succinimid (NBS) (2.45 g, 13.78 mmol) in 120 ml DCM gelöst und für 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und der ölige Rückstand wird säulenchromatographisch mit einem Gemisch aus DCM, Aceton und MeOH (84:15:1) auf einer Kieselgelsäule aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. (Ansatz 5)

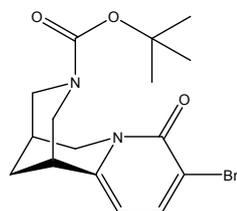
Ausbeute: (98.9 %) – zwei weiße Feststoffe (s. Kap. 7.5.4 und 7.5.5)

Analytik: (s. Kap. 7.5.4 und 7.5.5)

Tab. 7.3: Ausbeute an 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** und 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140**

Ansatz	N- <i>t</i> Boc-Cytisin	NBS	3-Br-N- <i>t</i> Boc-Cytisin	5-Br-N- <i>t</i> Boc-Cytisin
1	1 g	613 mg	832 mg (65.4 %)	435 mg (34.2 %)
2	1 g	613 mg	733 mg (57.6 %)	415 mg (32.6 %)
3	1 g	613 mg	705 mg (55.4 %)	533 mg (41.9 %)
4	1 g	613 mg	844 mg (66.4 %)	408 mg (32.1 %)
5	4 g	2.45 g	3.47 g (68.2 %)	1.56 g (30.7 %)

Anm.: Als Nebenprodukt fiel bei dieser Reaktion 3,5-Dibrom-N-*t*Boc-Cytisin (wenige mg) an. Sie wurden getrennt gesammelt, jedoch nicht näher charakterisiert.

7.6.4 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin 139

Synthese: (s. Kap. 7.5.3)

Ausbeute: 705 – 844 mg (55.4 – 68.2 %) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.89 (DCM:MeOH 9:1), 0.71 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 131 °C (Lit.: k. A.)

IUPAC: 9-Bromo-8-oxo-1,5,6,8-tetrahydro-2*H*,4*H*-1,5-methano-pyrido[1,2-*a*][1,5]diazocin-3-carbonsäure-*tert*-butylester

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.32 (br s, 9 H); 1.92-2.01 (br m, 2 H); 2.42 (br s, 1 H); 2.91-3.14 (br m, 3 H); 3.86 (dd, *J* = 15.6, 6.2 Hz, 1 H); 4.05-4.40 (br m, 2 H); 4.25 (d, *J* = 15.7 Hz, 1 H); 5.98 (br m, 1 H); 7.66 (d, *J* = 7.5 Hz, 1 H) [Rotamere sichtbar][†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.2 (-); 27.6 (+); 28.2 (+); 34.9 (+); 49.5 (-); 50.4 (-); 51.6 (-); 80.8 (C_{quart}); 105.8 (+); 112.7 (C_{quart}); 140.9 (+); 148.6 (C_{quart}); 154.7 (C=O); 159.6 (C=O) [Rotamere sichtbar][†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3092 (ν CH_{arom.}), 2974 u. 2932 u. 2867 (ν CH₂), 1692 u. 1648 (ν C=O), 1587, 1535, 1423 (δ CH₂), 1365, 1270, 1237, 1165, 1129, 1109, 1078, 760

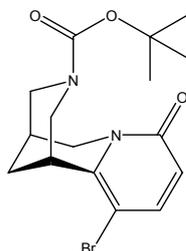
MS (ESI): [M+H⁺] 369.0 und 371.0[†]

EA: C₁₆H₂₁BrN₂O₃ * 0.25 H₂O

ber.: C: 51.42 % H: 5.80 % N: 7.50 %

gef.: C: 51.50 % H: 5.84 % N: 7.41 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^{320, 321}

7.6.5 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin 140

Synthese: (s. Kap. 7.5.3)

Ausbeute: 408 – 533 mg (30.7 – 41.9 %) – weißer Feststoff

R_f-Wert: 0.69 (DCM:MeOH 9:1), 0.34 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 135 °C (Lit.: k. A.)

IUPAC: 11-Bromo-8-oxo-1,5,6,8-tetrahydro-2*H*,4*H*-1,5-methano-pyrido[1,2-*a*][1,5]diazocin-3-carbonsäure-*tert*-butylester

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.32 (br s, 9 H); 1.98 (m, 2 H); 2.41 (br s, 1 H); 2.87-3.12 (br m, 2 H); 3.34-3.51 (br m, 1 H); 3.83 (dd, *J* = 15.5, 6.4 Hz, 1 H); 4.16 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 4.18-4.44 (br m, 2 H); 6.38 (br m, 1 H); 7.42 (d, *J* = 9.6 Hz, 1 H) [Rotamere sichtbar][†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.5 (-); 27.5 (+); 28.2 (+); 34.5 (+); 48.2 (-); 49.0 (-); 50.2 (-); 80.0 (C_{quart}); 99.1 (C_{quart}); 118.5 (+); 142.3 (+); 146.2 (C_{quart}); 154.3 (C=O); 162.4 (C=O) [Rotamere sichtbar][†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3089 (v CH_{arom.}), 2973 u. 2932 u. 2868 (v CH₂), 1695 u. 1653 (v C=O), 1569, 1527, 1463 u. 1423 (δ CH₂), 1365, 1270, 1237, 1171, 1153, 1124, 995, 919, 822, 766, 676, 631, 582

MS (ESI): [M+H⁺] 369.3 und 371.3[†]

EA: C₁₆H₂₁BrN₂O₃ * 0.25 H₂O

ber.: C: 51.42 % H: 5.80 % N: 7.50 %

gef.: C: 51.31 % H: 6.00 % N: 7.28 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^{320, 321}

7.7 Allgemeine Arbeitsvorschriften für Cytisin-Derivate

7.7.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift 8 (AAV 8) zur Synthese von substituierten *t*Boc-geschützten Cytisin-Derivaten mittels Suzuki-Miyaura Kreuzkupplung

Das Brom-substituierte *t*Boc-geschützte Cytisin-Derivat **140** oder **141** (100 mg, 0.27 mmol) wird zusammen mit der Boronsäure (0.41 mmol) und einer Base (0.6 mmol) in 6 ml einer Lösung von DME:Wasser (3:1) oder DMF:Wasser (3:1) in ein 8 ml Mikrowellengefäß eingefüllt und für 10 Min. mit einem Argongasstrom durchspült. Danach wird der Katalysator Tetrakis(triphenyl)palladium ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) (30 mg, 0.027 mmol) dazugegeben und weitere 5 Min. mit einem Argongasstrom durchspült. Dann wird das Mikrowellengefäß mit einem Septum verschlossen und in die Mikrowelle gestellt. Die Reaktion wird für 120 Min. bei einer Leistung von 30 W und einer Temperatur von 80 °C oder 90 °C in der Mikrowelle durchgeführt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch auf einer SPE-Säule mit 100 ml einer Mischung von Wasser und MeOH (40:60) aufgereinigt. Anschließend wird das Lösungsmittelgemisch am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

7.7.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift 9 (AAV 9) zur Aufreinigung von *t*Boc-geschützten Cytisin-Derivaten mittels präparativer HPLC

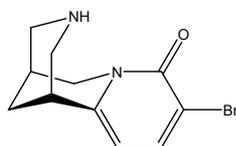
Das auf einer SPE-Säule vorgereinigte Reaktionsgemisch der Suzuki-Miyaura Kreuzkupplung (fester Rückstand von AAV 8) wird in 7 ml eines Gemisches von Wasser und MeOH (50:50) gelöst und mittels einer Probenschleife in das HPLC-System eingebracht. Die mobile Phase besteht aus einem isokratischen Gradienten von MeOH und Wasser (50:50). Dieser wird eine Dauer von 35 Minuten benutzt, bevor der Gradient der mobilen Phase innerhalb von 10 Minuten auf 100 % MeOH umgestellt wird. Das Programm läuft für eine Gesamtdauer von 50 Minuten. Der UV-Detektor wird auf eine Wellenlänge von $\lambda = 254 \text{ nm}$ eingestellt. Die Durchflussrate beträgt 15 ml/Min. Die erhaltenen Fraktionen werden am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck von dem größten Teil des MeOH entfernt. Abschließend wird die Lösung in flüssigem Stickstoff eingefroren und das Lösungsmittelgemisch an der Gefriertrocknungsanlage entfernt.

7.7.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift 10 (AAV 10) zur *t*Boc-Entschützung von substituierten N-*t*Boc-Cytisin Derivaten

Das *t*Boc-geschützte Cytisin-Derivat (50-150 mg) wird zusammen mit 80 ml Wasser in ein 80 ml Mikrowellengefäß gefüllt und in die Mikrowelle gestellt. Die Entschützung wird in der Mikrowelle bei einer Leistung von 150 W und einer Temperatur von 150 °C für 30 Minuten durchgeführt. Anschließend wird die Lösung in flüssigem Stickstoff eingefroren und das Lösungsmittelgemisch an der Gefriertrocknungsanlage entfernt.

7.8 Synthese der Cytisin-Derivate

7.8.1 3-Br-Cytisin 126



Synthese: 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** (120 mg, 0.32 mmol) wird AAV 10 in der Mikrowelle entschützt und anschließend gefriergetrocknet.

Ausbeute: 87 mg (99 %) – leicht gelblicher Feststoff

R_f-Wert: 0.24 (DCM:MeOH 9:1), 0.09 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 69 °C (Lit.: 51-53 °C)[†]

IUPAC: 9-Bromo-1,2,3,4,5,6-hexahydro-1,5-methano-pyrido[1,2-a][1,5]diazocin-8-on

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.89-1.98 (br m, 2 H); 2.34 (br s, 1 H), 2.91 (br m, 1 H); 2.97-3.02 (br m, 2 H); 3.05 (dd, *J* = 11.9, 2.3 Hz, 1 H); 3.10 (br d, *J* = 12.3 Hz, 1 H); 3.93 (ddd, *J* = 15.7, 6.7, 1.1 Hz, 1 H); 4.17 (d, *J* = 15.7 Hz, 1 H); 5.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 1 H); 7.66 (d, *J* = 7.5 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.2 (-); 27.7 (+); 35.5 (+); 51.2 (-); 52.9 (-); 53.8 (-); 105.0 (+); 112.1 (C_{quart}); 140.8 (+); 151.0 (C_{quart}); 159.8 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3442 u. 3319 (ν NH), 3088 u. 3053 (ν CH_{arom.}), 2935 u. 2797 (ν CH₂), 1642 (ν C=O), 1582, 1535, 1467 u. 1420 (δ CH₂), 1102, 910, 838, 798, 761, 722, 671, 633[†]

MS (ESI): [M+H⁺] 268.9 und 270.9[†]

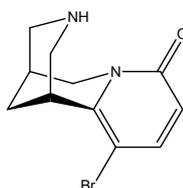
EA: C₁₁H₁₃BrN₂O * 0.5 H₂O

ber.: C: 47.50 % H: 5.07 % N: 10.07 %

gef.: C: 47.22 % H: 5.03 % N: 9.70 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein²⁵⁷

7.8.2 5-Br-Cytisin 52



Synthese: 5-Brom-N-tBoc-Cytisin **140** (120 mg, 0.32 mmol) werden mit 80 ml Wasser in einem 80 ml Mikrowellengefäß nach AAV 10 in der Mikrowelle entschützt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch in flüssigem Stickstoff eingefroren und gefriergetrocknet.

Ausbeute: 87 mg (99 %) – leicht gelblicher Feststoff

R_f-Wert: 0.32 (DCM:MeOH 9:1), 0.14 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 98 °C (Lit.: 103-106 °C)[†]

IUPAC: 11-Bromo-1,2,3,4,5,6-hexahydro-1,5-methano-pyrido[1,2-a][1,5]diazocin-8-on

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.92 (dm, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 1.97 (dm, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 2.32 (br s, 1 H); 2.93 (dd, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 1 H); 2.98 (ddd, *J* = 12.2, 2.3, 1.2 Hz, 1 H); 3.07 (d, *J* = 12.0 Hz, 1 H); 3.18 (d, *J* = 12.2 Hz, 1 H); 3.34 (m, 1 H); 3.90 (ddd, *J* = 15.5, 6.7, 1.1, 1 H); 4.06 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 6.38 (d, *J* = 9.6 Hz, 1 H); 7.42 (d, *J* = 9.6 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.6 (-); 27.6 (+); 34.9 (+); 50.5 (-); 51.0 (-); 52.8 (-); 98.7 (C_{quart}); 118.0 (+); 142.7 (+); 148.2 (C_{quart}); 162.7 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3441 u. 3323 (ν NH), 3083 u. 3033 (ν CH_{arom.}), 2937 u. 2850 u. 2797 (ν CH₂), 1653 (ν C=O), 1564, 1526, 1459 (δ CH₂), 1404, 1356, 1312, 1256, 1185, 1156, 1114, 913, 822, 673, 630, 582[†]

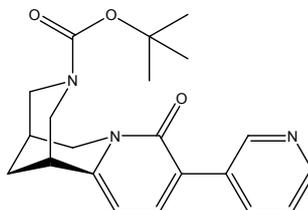
MS (ESI): [M+H⁺] 268.9 und 271.0[†]

EA: C₁₁H₁₃BrN₂O * 0.75 H₂O

ber.: C: 46.74 % H: 5.17 % N: 9.91 %

gef.: C: 46.81 % H: 4.98 % N: 9.44 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein²⁵⁷

7.8.3 3-(Pyridin-3-yl)-N-*t*Boc-Cytisin 141

Synthese: 3-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **139** (100 mg, 0.27 mmol) wird nach AAV 8 zusammen mit 3-Pyridinboronsäure (50 mg, 0.41 mmol), Kaliumphosphat Trihydrat (160 mg, 0.6 mmol) als Base und Pd(PPh₃)₄ (31 mg, 0.027 mmol) als Katalysator in einem Gemisch aus DME und Wasser in der Mikrowelle zur Reaktion gebracht. Die Aufreinigung erfolgt mittels HPLC nach AAV 9.

Ausbeute: 69 mg (69 %) – weißer Feststoff

R_t (HPLC): 26.47 Min.

R_f-Wert: 0.71 (DCM:MeOH 9:1), 0.33 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 149 °C

IUPAC: 9-Pyridin-3-yl-8-oxo-1,5,6,8-tetrahydro-2*H*,4*H*-1,5-methano-pyrido[1,2-*a*][1,5]diazocin-3-carbonsäure-*tert*-butylester

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.32 (br s, 9 H); 1.95-2.06 (br m, 2 H); 2.45 (br s, 1 H); 2.93-3.20 (br m, 3 H); 3.88 (ddd, *J* = 15.7, 6.5, 1.3 Hz, 1 H); 4.12-4.46 (br m, 2 H); 4.28 (d, *J* = 15.8 Hz, 1 H); 6.21 (br s, 1 H); 7.30 (br m, 1 H); 7.50 (d, *J* = 7.2 Hz, 1 H); 8.11 (br m, 1 H); 8.52 (br s, 1 H); 8.79 (br s, 1 H)
[Rotamere sichtbar]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.3 (-); 27.8 (+); 28.2 (+); 35.2 (+); 49.6 (-); 50.7 (-); 51.8 (-); 80.6 (C_{quart}); 106.0 (+); 123.0 (+); 124.6 (C_{quart}); 133.3 (C_{quart}); 136.1 (+); 137.5 (+); 148.3 (+); 149.1 (+); 149.8 (C_{quart}); 154.7 (C=O); 161.9 (C=O)
[Rotamere sichtbar]

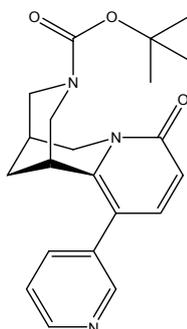
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3073 u. 3048 (ν CH_{arom.}), 2974 u. 2931 u. 2866 (ν CH₂), 1691 u. 1641 (ν C=O), 1584, 1558, 1481, 1427 (δ CH₂), 1366, 1271, 1238, 1166, 1133, 1092, 806, 713

MS (ESI): [M+H⁺] 368.0

EA: C₂₁H₂₅N₃O₃ * 0.5 H₂O

ber.: C: 67.00 % H: 6.96 % N: 11.16 %

gef.: C: 67.30 % H: 7.09 % N: 10.87 %

7.8.4 5-(Pyridin-3-yl)-N-*t*Boc-Cytisin 142

Synthese: 5-Brom-N-*t*Boc-Cytisin **140** (100 mg, 0.27 mmol) wird nach AAV 8 zusammen mit 3-Pyridinboronsäure (50 mg, 0.41 mmol), Bariumhydroxid Octahydrat (189 mg, 0.6 mmol) als Base und Pd(PPh₃)₄ (31 mg, 0.027 mmol) als Katalysator in einem Gemisch aus DMF und Wasser in der Mikrowelle zur Reaktion gebracht. Die Aufreinigung erfolgt mittels HPLC nach AAV 9.

Ausbeute: 74 mg (74 %) – weißer Feststoff

R_t (HPLC): 20.14 Min.

R_f-Wert: 0.51 (DCM:MeOH 9:1), 0.23 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 101-103 °C

IUPAC: 11-Pyridin-3-yl-8-oxo-1,5,6,8-tetrahydro-2*H*,4*H*-1,5-methano-pyrido[1,2-*a*][1,5]diazocin-3-carbonsäure-*tert*-butylester

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.35 (br s, 9 H); 1.86 (dm, *J* = 13.0 Hz, 1 H); 1.99 (br d, *J* = 12.8 Hz, 1 H); 2.35-2.47 (m, 1 H); 2.61-2.85 (br m, 1 H); 2.85-3.09 (br m, 2 H); 3.87 (dd, *J* = 15.7, 5.9 Hz, 1 H); 3.88-4.08 (br m, 1 H); 4.18-4.42 (br m, 1 H); 4.29 (d, *J* = 15.7 Hz, 1 H); 6.51 (br m, 1 H); 7.16 (br m, 1 H); 7.36 (dd, *J* = 7.6, 4.9 Hz, 1 H); 7.55-7.77 (br m, 1 H); 8.56 (s, 1 H); 8.61 (d, *J* = 3.4 Hz, 1 H) [Rotamere sichtbar]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.5 (-); 27.5 (+); 28.2 (+); 31.7 (+); 48.8 (-); 49.7 (-); 50.7 (-); 80.6 (C_{quart}); 116.2 (C_{quart}); 117.1 (+); 123.7 (+); 134.3 (C_{quart}); 137.8 (+); 141.0 (+); 146.1 (C_{quart}); 149.1 (+); 150.5 (+); 154.6 (C=O); 163.0 (C=O) [Rotamere sichtbar]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3027 u. 3004 (ν CH_{arom.}), 2975 u. 2934 u. 2869 (ν CH₂), 1690 u. 1660 (ν C=O), 1596, 1581, 1523, 1478, 1425 (δ CH₂), 1366, 1272, 1240, 1171, 1157, 1123, 831, 721

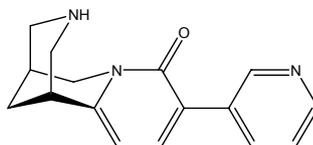
MS (ESI): [M+H⁺] 368.0

EA: C₂₁H₂₅N₃O₃ * 0.5 H₂O

ber.: C: 67.00 % H: 6.96 % N: 11.16 %

gef.: C: 66.98 % H: 7.18 % N: 10.81 %

7.8.5 3-(Pyridin-3-yl)-Cytisin 53



Synthese: 3-(Pyridin-3-yl)-N-*t*Boc-Cytisin **141** (150 mg, 0.41 mmol) werden mit 80 ml Wasser in einem 80 ml Mikrowellengefäß nach AAV 10 in der Mikrowelle entschützt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch in flüssigem Stickstoff eingefroren und gefriergetrocknet.

Ausbeute: 108 mg (99 %) – leicht gelblicher Feststoff

R_f-Wert: 0.10 (DCM:MeOH 9:1), 0.05 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 82 °C (Lit.: 79.8 – 81.6 °C)[†]

IUPAC: 9-Pyridin-3-yl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-1,5-methano-pyridino[1,2-a]diazocin-8-on

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.98 (t, *J* = 2.9 Hz, 2 H); 2.38 (br s, 1 H); 2.95 (m, 1 H); 3.00-3.05 (m, 2 H); 3.08 (dd, *J* = 11.9, 2.2 Hz, 1 H); 3.12 (dd, *J* = 12.0, 1.2 Hz, 1 H); 3.96 (dd, *J* = 15.6, 6.3 Hz, 1 H); 4.18 (d, *J* = 15.6 Hz, 2 H); 6.13 (d, *J* = 7.2 Hz, 2 H); 7.30 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1 H); 7.51 (d, *J* = 7.2 Hz, 1 H); 8.17 (dt, *J* = 8.0, 1.9 Hz, 1 H); 8.51 (dd, *J* = 4.6, 1.1 Hz, 1 H); 8.80 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.4 (-); 27.9 (+); 35.9 (+); 50.4 (-); 53.1 (-) 54.0 (-); 105.2 (+); 123.0 (+); 124.1 (C_{quart}); 133.3 (C_{quart}); 136.2 (+); 137.3 (+); 148.3 (+); 149.2 (+); 151.6 (C_{quart}); 162.0 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3425 (ν NH), 3029 (ν CH_{arom.}), 2933 u. 2845 u. 2801 (ν CH₂), 1635 (ν C=O), 1555, 1482 u. 1471 u. 1426 (δ CH₂), 1316, 1283, 1091, 1022, 803, 710

MS (ESI): [M+H⁺] 268.0[†]

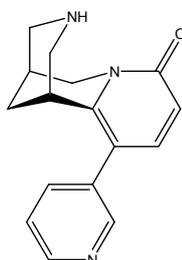
EA: C₁₆H₁₇N₃O * 1.0 H₂O

ber.: C: 67.35 % H: 6.71 % N: 14.73 %

gef.: C: 67.71 % H: 6.72 % N: 14.21 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein³²⁰

7.8.6 5-(Pyridin-3-yl)-Cytisin 54



Synthese: 5-(Pyridin-3-yl)-N-*t*Boc-Cytisin **142** (150 mg, 0.41 mmol) wird mit 80 ml Wasser in einem 80 ml Mikrowellengefäß nach AAV 10 in der Mikrowelle entschützt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch in flüssigem Stickstoff eingefroren und mindestens 24 Std. gefriergetrocknet.

Ausbeute: 108 mg (99 %) – leicht gelblicher Feststoff

R_f-Wert: 0.21 (DCM:MeOH 9:1), 0.08 (DCM:MeOH 20:1)

Smp.: 71 °C (Lit.: 70.4-72.0 °C)[†]

IUPAC: 11-Pyridin-3-yl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-1,5-methano-pyridino[1,2-a]diazocin-8-on

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 1.86 (d, *J* = 12.8 Hz, 1 H); 1.95 (d, *J* = 12.8 Hz, 1 H); 2.33 (br s, 1 H); 2.72 (dd, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 1 H); 2.77 (d, *J* = 12.0 Hz, 1 H); 2.93 (d, *J* = 12.1 Hz, 1 H); 2.96 (br s, 1 H); 3.08 (d, *J* = 12.0 Hz, 1 H); 3.96 (dd, *J* = 15.6, 6.7 Hz, 1 H); 4.20 (d, *J* = 15.6 Hz, 1 H); 6.53 (d, *J* = 9.2 Hz, 1 H); 7.19 (d, *J* = 9.2 Hz, 1 H); 7.34 (dd, *J* = 7.8, 4.9 Hz, 1 H); 7.56 (dt, *J* = 7.8, 2.0 Hz, 1 H); 8.50 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H); 8.59 (dd, *J* = 4.8, 1.5 Hz, 1 H)[†]

¹³C-NMR: (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 26.5 (-); 27.5 (+); 32.0 (-); 50.7 (-); 52.3 (-); 53.2 (-); 115.3 (C_{quart}); 116.7 (+); 123.6 (+); 134.5 (C_{quart}); 137.4 (+); 141.1 (+); 148.6 (C_{quart}); 148.9 (+); 150.6 (+); 163.1 (C=O)[†]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3423 (ν NH), 3093 u. 3030 (ν CH_{arom.}), 2940 u. 2855 (ν CH₂), 1648 (ν C=O), 1571, 1521, 1476 (δ CH₂), 1411, 1257, 1188, 1160, 1026, 832, 719, 634, 569

MS (ESI): [M+H⁺] 268.1[†]

EA: C₁₆H₁₇N₃O * 1.75 H₂O

ber.:	C: 64.30 %	H: 6.91 %	N: 14.06 %
gef.:	C: 64.18 %	H: 6.57 %	N: 13.35 %

[†] Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein³²⁰

7.9 Radioligand-Bindungsstudien

Für die in-vitro-Testung der oben beschriebenen Bispidin-Derivate wurden die folgenden Chemikalien, Geräte und Methoden verwendet.

7.9.1 Geräte und Materialien

Geräte

Filter:	Whatman GF/B, Brandel, Gaithersburg, MD, USA
Harvester:	Brandel M48, M24, Gaithersburg, MD, USA
Homogenisator:	RW 16 basic, IKA Labortechnik, Deutschland
LSC-Counter:	Tricarb® 2900 TR, Canberra Packard/Perkin Elmer, Dreieich, Deutschland
pH-Meter:	WTW, pH-197, mit pH-Elektrode SenTix41, IKA, Labortechnik, Deutschland
Photometer:	Beckman DU®, 530 Lief Science, Deutschland
Pipetten:	Eppendorf Research und Eppendorf Multipipette plus
Ultraschallbad:	Sonorex RK52H, Bandelin, Deutschland
Ultraturrax:	T25 basic, IKA, Labortechnik, Deutschland
Vortex:	Ms2, Minishaker, IKA Labortechnik, Deutschland
Zentrifuge:	Beckman Avanti™, J-20 XP, Beckman Coulter, USA

Chemikalien

Calciumchlorid Dihydrat (CaCl ₂):	C 3306, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
Dimethylsulfoxid (DMSO):	Merck KG, Darmstadt, Deutschland
Ethanol p.a.:	Merck KG, Darmstadt, Deutschland
4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-ethansulfonsäure (HEPES):	H 3375, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
Kaliumchlorid (KCl):	P 9541, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
Magnesiumchlorid Hexahydrat (MgCl ₂):	M 2670, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
Methyllycaconitin Citrat (MLA):	M 168, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl):	S 7653, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
(S)-(-)-Nicotin Hydrogentartrat:	N 5260, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland

D-(+)-Saccharose:	84097, Fluka Biochemika, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS-Base):	T 1503, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
Tris(hydroxymethyl)aminomethan Hydrochlorid (TRIS*HCl):	T 3253, Sigma-Aldrich Chemie GmbH München, Deutschland
Wasser (ELGA Pure Lab ultra):	ELGA, Ransbach-Baumbach, Deutschland
<u>Ultima Gold™</u> :	Perkin Elmer and Analytical Science, MA, USA
<i>Zusammengesetzt aus:</i>	Ethoxyliertes Alkylphenol 10-20 % Bis(2-ethylhexyl)hydrogenphosphat 10-20 % Natriumdocusat ≤ 2.5 % Triethylphosphat ≤ 2.5 % Diisopropyl-naphthalin Isomere 60-80 % 2,5-Diphenyloxazol ≤ 2.5 % 1,4-Bis(4-methyl- α -styryl)benzen ≤ 2.5 %

Gewebe

Gefrorener <i>Torpedo californica electroplox</i>	Marinus Inc., Long Beach, CA, USA
Gefrorenes <i>Sprague-Dawley</i> -Rattenhirne	Pel-Freez Biologicals, Rogers, AR, USA
Schweinenebennieren	Pel-Freez Biologicals, Rogers, AR, USA

Radioliganden

(\pm)-[3 H]Epibatidin (S.A.: 33.3 – 66.6 Ci/mmol)	Perkin Elmer Life Science Products, Köln Deutschland
[3 H]Methyllycaconitin (S.A.: 20 – 39.8 Ci/mmol)	Tocris Cookson Ltd, Avonmouth, Bristol, UK

Puffer

HSS-Puffer (HEPES salt solution):

Inkubations- und Membranpräparationspuffer

HEPES	15 mM
NaCl	120 mM
KCl	5.4 mM
MgCl ₂	0.8 mM
CaCl ₂	1.8 mM

Eingestellt mit gesättigter NaOH-Lösung auf pH 7.4

TRIS-Puffer*Waschpuffer*

TRIS*HCl	42.0 mM
TRIS-Base	8.0 mM

Saccharose/TRIS-Puffer*Membranpräparationspuffer*

D-(+)-Saccharose	320 mM
TRIS*HCl	25.0 mM

7.9.2 Durchführung der Membranpräparationen**Präparation der P2-Membranfraktion von Rattenhirn**

Die gefrorenen Rattenhirne werden langsam auf Eis lagernd aufgetaut. Anschließend wird mit einem scharfen Skalpell das Kleinhirn (Cerebellum) und das Riechzentrum (Medulla) entfernt und die Hirne werden in eine Saccharose/TRIS-Lösung gelegt. Nach der Bestimmung des Nassgewichtes wird das Hirnmateriale grob zerkleinert und nach Zugabe von 1/10 des Volumens Sucrose/TRIS*HCl-Lösung homogenisiert (10 x 10 Sek. bei 750 rpm). Nach dem Zentrifugieren bei 4 °C (20 Min. bei 1000 x G) wird der Überstand (S1) vorsichtig abgeseugt und auf Eis aufbewahrt. Das gewonnene Pellet (P1) wird wie oben beschrieben homogenisiert und zentrifugiert. Der Überstand (S1') wird mit dem Überstand (S1) vereinigt und nochmals bei 4 °C zentrifugiert (20 Min. bei 25.000 x G). Der so erhaltene Überstand (S2) wird abdekantiert und das Pellet (P2) mit HSS-Puffer auf das Doppelte des Nassgewichtes verdünnt. Die P2-Membranfraktion wird dann bei -80 °C gelagert.

Eine Stunde vor Beginn des Konkurrenzexperimentes wird die P2-Membranfraktion aufgetaut, mit dem 30fachen Volumen an HSS-Puffer homogenisiert und bei 4 °C (10 Min. bei 35.000 x G) zentrifugiert. Das so gewonnene Pellet wird in HSS-Puffer suspendiert und dann für die Experimente verwendet.

Präparation der rohen Membranfraktion von Schweinenebnieren

Die gefrorenen Schweinenebnieren werden langsam auf Eis lagernd aufgetaut. Anschließend wird mit einem scharfen Skalpell anhaftendes Fett so weit wie möglich entfernt. Das Gewebe wird grob zerkleinert, mit dem 15fachen Volumen an HSS-Puffer versetzt und homogenisiert (10 x 10 Sek. bei 750 rpm). Die Gewebesuspension wird dann (10 Min. bei 40.000 x G) zentrifugiert, der Überstand wird abdekantiert und das Pellet in HSS-Puffer resuspendiert. Dieser Waschschritt zur Entfernung von Fettbestandteilen wird fünfmal wiederholt. Die rohe Membranfraktion wird dann bei -80 °C gelagert.

Eine Stunde vor Beginn des Konkurrenzexperimentes wird die rohe Membranfraktion aufgetaut, mit dem fünffachen Volumen an HSS-Puffer homogenisiert und bei 4 °C (20 Min. bei 25.000 x G) zentrifugiert. Das so gewonnene Pellet wird in Wasser suspendiert und für die Experimente verwendet.

Präparation der Membranfraktion vom elektrischen Organ des Rochens *Torpedo californica*

Die tiefgefrorenen elektrischen Organe des Rochens *Torpedo californica* werden langsam auf Eis lagernd aufgetaut und anschließend grob zerkleinert. Dann wird das Gewebe mit dem 15fachen Volumen an HSS-Puffer versetzt und homogenisiert (10 x 10 Sek. bei 750 rpm). Die Gewebesuspension wird dann (10 Min. bei 40.000 x G) zentrifugiert, der Überstand wird abdekantiert und das Pellet in HSS-Puffer resuspendiert. Das Pellet wird durch Rehomogenisieren und Zentrifugieren mit HSS-Puffer zwei weitere Male gewaschen. Die so gewonnene Membranfraktion wird dann bei -80 °C gelagert.

Eine Stunde vor Beginn des Experiments wird die Membranfraktion aufgetaut, mit dem fünffachen Volumen an HSS-Puffer homogenisiert und bei 4 °C (20 Min. bei 25.000 x G) zentrifugiert. Das so gewonnene Pellet wird in Wasser resuspendiert und dann für die Experimente verwendet.

7.9.3 Durchführung der Radioligand-Bindungsstudien

Konkurrenzexperimente an $\alpha 4\beta 2^*$ -nAChR der Ratte

Die Testsubstanzen werden in Wasser, Ethanol oder DMSO gelöst und es wird eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 verschiedenen Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Konkurrenzexperimente werden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen durchgeführt, wobei jedes Reagenzglas ein Gesamtvolumen von 500 μ l enthält. Die Polypropylen-Reagenzgläser werden mit 100 μ l HSS-Puffer und mit 200 μ l der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gibt man 100 μ l einer 0.5 nM (\pm)-[³H]Epibatidin-Lösung und anschließend 100 μ l einer Suspension der P2-Membranfraktion vom Rattenhirn (60-70 μ g Protein). Die unspezifische Bindung wird in Gegenwart von 300 μ M (S)-Nicotin-di-D-tartrat-Lösung bestimmt. Die Proben werden 2 Std. bei RT inkubiert. Die Inkubation wird mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Die Glasfaserfilter werden dreimal mit TRIS-Puffer gewaschen, in Probengefäße überführt und mit 2 ml Szintillations-Cocktail versetzt. Die Radioaktivität der Probe wird dann im LSC-Counter bestimmt.

Kompetitionsexperimente an $\alpha 7^*$ -nAChR der Ratte

Die Testsubstanzen werden in Wasser, Ethanol oder DMSO gelöst und es wird eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 verschiedenen Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Kompetitionsexperimente werden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen durchgeführt, wobei jedes Reagenzglas ein Gesamtvolumen von 250 μ l enthält. Die Polypropylen-Reagenzgläser werden mit 50 μ l der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gibt man 100 μ l einer 1.0 nM (\pm)-[3 H]MLA-Lösung und anschließend 100 μ l einer Suspension der P2-Membranfraktion vom Rattenhirn (60-70 μ g Protein). Die unspezifische Bindung wird in Gegenwart von 1 μ M MLA bestimmt. Die Proben werden 3 Std. bei RT inkubiert. Die Inkubation wird mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Die Glasfaserfilter werden dreimal mit TRIS-Puffer gewaschen, in Probengefäße überführt und mit 2 ml Szintillations-Cocktail versetzt. Die Radioaktivität der Probe wird dann im LSC-Counter bestimmt.

Kompetitionsexperimente an $\alpha 3\beta 4^*$ -nAChR der Schweinenebenniere

Die Testsubstanzen werden in Wasser, Ethanol oder DMSO gelöst und es wird eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 verschiedenen Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Kompetitionsexperimente werden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen durchgeführt, wobei jedes Reagenzglas ein Gesamtvolumen von 500 μ l enthält. Die Polypropylen-Reagenzgläser werden mit 100 μ l HSS-Puffer und mit 200 μ l der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gibt man 100 μ l einer 0.5 nM (\pm)-[3 H]Epibatidin-Lösung und anschließend 100 μ l einer Suspension der rohen Membranfraktion der Schweinenebenniere (60-70 μ g Protein). Die unspezifische Bindung wird in Gegenwart von 300 μ M (S)-Nicotin-di-D-tartrat-Lösung bestimmt. Die Proben werden 90 Min. bei RT inkubiert. Die Inkubation wird mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Die Glasfaserfilter werden dreimal mit TRIS-Puffer gewaschen, in Probengefäße überführt und mit 2 ml Szintillations-Cocktail versetzt. Die Radioaktivität der Probe wird dann im LSC-Counter bestimmt.

Kompetitionsexperimente an $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma \delta$ -nAChR des *Torpedo californica electroplax*

Die Testsubstanzen werden in Wasser, Ethanol oder DMSO gelöst und es wird eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 verschiedenen Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Kompetitionsexperimente werden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen durchgeführt, wobei jedes Reagenzglas ein Gesamtvolumen von 500 μ l enthält. Die Polypropylen-Reagenzgläser werden mit 100 μ l HSS-Puffer und mit 200 μ l der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gibt man 100 μ l einer 0.5 nM (\pm)-[3 H]Epibatidin-Lösung und anschließend 100 μ l einer Suspension der Membranfraktion des *Torpedo californica electroplax* (60-70 μ g Protein). Die unspezifische Bindung wird in Gegenwart von 300 μ M (S)-Nicotin-di-D-tartrat-Lösung bestimmt. Die Proben werden 90 Min. bei RT inkubiert. Die Inkubation wird mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Die Glasfaserfilter werden dreimal mit TRIS-Puffer gewaschen, in Probengefäße

überführt und mit 2 ml Szintillations-Cocktail versetzt. Die Radioaktivität der Probe wird dann im LSC-Counter bestimmt.

7.9.4 Auswertung der Radioligand-Bindungsstudien

Die Daten der Konkurrenzexperimente wurden mit Hilfe nicht linearer Regressionsanalysen ausgewertet. Die K_i -Werte wurden aus den IC_{50} -Werten und den K_d -Werten für die Bindung von (\pm) - $[^3H]$ Epibatidin für die Subtypen $\alpha 4\beta 2^*$ ($K_d = 10$ pM), $\alpha 3\beta 4^*$ ($K_d = 50$ pM) und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ ($K_d = 2$ nM) und dem K_d -Wert für die Bindung von $[^3H]$ MLA für den Subtyp $\alpha 7^*$ ($K_d = 1$ nM) mit Hilfe der Cheng-Prusoff-Gleichung ($K_i = IC_{50}/(1+F/K_d)$) berechnet.⁵⁴³

8 Abkürzungsverzeichnis

(±)-[³ H]-Epi	Tritium markiertes (±)-Epibatidin
[¹²⁵ I]α-Bgtx	¹²⁵ Iod markiertes α-Bungarotoxin
[³ H]-MLA	Tritium markiertes Methyllycaconitin
5-HT ₃	5-Hydroxytryptamin-Rezeptor Typ 3 (Serotoninrezeptor)
Å	Ångström (= 10 ⁻¹⁰ Meter)
α-Bgtx	α-Bungarotoxin
α-Ctx	α-Conotoxin(e)
A-85390	3-(2-(S)-Azetidylmethoxy)pyridin
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
ABT-089	2-Methyl-3-(2-(S)-pyrrolidinylmethoxy)pyridin
ABT-418	(S)-3-Methyl-5-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)isoxazol
ABT-594	(R)-5-(2-azetidylmethoxy)-2-chlorpyridin
ACh	Acetylcholin
AChBP	Acetylcholin-Bindungsprotein
ACN	Acetonitril
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom
ADNFLE	autosomal-dominante nächtliche Frontallappenepilepsie
Äq.	Äquivalent
APP	Amyloid-Precursor-Protein
AR-R17779	(S)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octan-3,5'-oxazolidin]-2'-on
bar	Einheit für Druck
BBB	Blut-Hirnschranke (blood-brain barrier)
ber.	berechnet
bFGF	basischer Fibroblasten Wachstumsfaktor (basic fibroblast growth factor)
br	breit
C	Celcius
ca.	circa
CaCl ₂	Calciumchlorid
CCh	Carbachol (Carbamoylcholin)
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform

CDI	Carbodiimidazol
Ch	Cholin
ChAT	Cholin Acetyltransferase
CHCl ₃	Chloroform
Ci	Curie
d	Duplett
dd	Duplett vom Duplett
ddd	Duplett vom Duplett vom Duplett
δ	Deformationsschwingung
D ₂ O	deuteriertes Wasser
dba	Dibenzylidenacetone
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DHβE	Dihydro-β-erythroidin
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMCC	N,N-Dimethylcarbamoylcholin oder Dimethylcarbachol
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	Dimethylformamid
DMS-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
EC ₅₀	halbmaximale effektive Konzentration (half maximal effective concentration)
ESI	Elektronensprayionisation (electron spray ionisation)
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
FDA	United States Food and Drug Administration
GABA _A	γ-Aminobuttersäure-Rezeptor Typ A
GABA _B	γ-Aminobuttersäure-Rezeptor Typ B
gef.	gefunden
ggf.	gegebenenfalls
GH4C1	Karzinomzelllinie aus der Hypophyse der Ratte
GTS-21	3-(2,4-Dimethoxybenzyliden)-anabasein
H ₂ O	Wasser

HBA	Wasserstoffbrückenbindungs-Akzeptor (hydrogen bond acceptor)
HCl	Salzsäure, Hydrochlorid
HEK	Humane embryonale Nierenzelle (human embryonic kidney cells)
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-ethansulfonsäure
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography)
HSS	HEPES salt solution
Hz	Hertz (SI-Einheit für Frequenz)
i.v.	intravenös
IC ₅₀	Halbmaximale Hemmkonzentration
IMR-32	humane Neuroblastomzelle
IR	Infrarotspektrum, Infrarotspektroskopie
<i>J</i>	Kopplungskonstante
K	Kelvin
k. A.	keine Angaben
k. E.	kein Effekt
KCl	Kaliumchlorid
K _d	Dissoziationskonstante
kDa	Kilodalton
K _i	Inhibitionskonstante
KXα3β4R2	mit dem α3β4-Rezeptor stabil transfizierte HEK-293 Zelllinie
L	Liter
LGIC	ligandgesteuerter Ionenkanal (ligand gated ion channel)
LiAlH ₄	Lithiumaluminiumhydrid
LM	Lösungsmittel
LSC	Flüssigszintillationszähler (liquid scintillation counting)
Lsg	Lösung
m	Multipllett
M	Molar
mAChR	muscarinischer Acetylcholinrezeptor
max.	maximal
MCC	Methylcarbachol
MeOD	deuteriertes Methanol
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid

246 | Abkürzungsverzeichnis

MgSO ₄	Magnesiumsulfat
Min.	Minute(n)
mind.	mindestens
ml	Milliliter
MLA	Methyllycaconitin
mmol	Millimol
M _r	relative Molekülmasse
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
n	Anzahl durchgeführter Versuche
N	Normal
n. b.	nicht bestimmt
NaBH ₃ CN	Natriumcyanoborhydrid
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natronlauge
NBS	N-Bromsuccinimid
Na ₂ SO ₄	Natriumsulfat
nm	Nanometer
NMR	Kernresonanz (nuclear magnetic resonance)
NRT	Nicotinersatztherapie (nicotine replacement therapy)
p. a.	pro analysis
PC-12	Phäochromocytomzellen der Ratte
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
Ph	Phenyl-
PNS	peripheres Nervensystem
ppm	Teile von einer Million (parts per million)
q	Quartett
QSAR	Quantitative Struktur-Wirkungsbeziehung(en)
R _f	Ratio of fronts
RJR-2403	N-Methyl-4-(3-pyridinyl)-3-buten-1-amin
rpm	Umdrehungen pro Minute (rounds per minute)
R _t	Retentionszeit (retention time)
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
S.A.	Spezifische Aktivität
SAR	Struktur-Wirkungsbeziehung(en)

Sazetidin A	(S)-5-(5-Hexin-1-ol)-3-(2-azetidylmethoxy)pyridin
Sek.	Sekunde(n)
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)
SG	Schutzgruppe(n)
SH-EP1	humane Epithel-Zelllinie
SH-SY5Y	humane Neuroblastom-Zelllinie
SIB-1508Y	(S)-5-Ethynyl-3-(1-methyl-2-pyrrolidiny)pyridin, Altiniclin
Smp.	Schmelzpunkt
SPECT	single photon emission computed tomography
Ssp.	Subspezies
Std.	Stunden
t	Triplett
Tab.	Tabelle
<i>t</i> Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl (Schutzgruppe)
TC-2559	(<i>E</i>)- <i>N</i> -Methyl-4-[3-(5-ethoxypyridin)yl]-3-buten-1-amin
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran
TNF α	Tumornekrosefaktor α
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan, Trometamol
UB-165	(2-Chlor-5-pyridyl)-9-azabicyclo[4.2.1]non-2-en
v	Valenzschwingung
v. a.	vor allem
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl [cm ⁻¹]
VMT-2	vesikulärer Monoamintransporter-2
vs.	gegen, gegenüber gestellt (versus)
VTA	ventrales tegmentales Areal
W	Watt
WHO	World Health Organization
μ M	mikromolar
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil
z. Z.	zur Zeit
Zers.	Zersetzung
ZnBr ₂	Zinkbromid
ZNS	zentrales Nervensystem

9 Literaturverzeichnis

1. Wonnacott, S.; Barik, J. Nicotinic ACh Receptors. *Tocris Reviews* No.28 **2007** Tocris Cookson.
2. Karlin, A. Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* **2002**, *3*, 102-114.
3. Humphrey, P. P.; Barnard, E. A. International Union of Pharmacology. XIX. The IUPHAR receptor code: a proposal for an alphanumeric classification system. *Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 271-277.
4. Ortells, M. O.; Lunt, G. G. Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfamily of receptors. *Trends Neurosci.* **1995**, *18*, 121-127.
5. Unwin, N. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4Å resolution. *J. Mol. Biol.* **2005**, *346*, 967-989.
6. Arias, H. R. Localization of agonist and competitive antagonist binding sites on nicotinic acetylcholine receptors. *Neurochem. Int.* **2000**, *36*, 595-645.
7. Unwin, N. Projection structure of the nicotinic acetylcholine receptor: distinct conformations of the alpha subunits. *J. Mol. Biol.* **1996**, *257*, 586-596.
8. Karlin, A.; Akabas, M. H. Toward a structural basis for the function of nicotinic acetylcholine receptors and their cousins. *Neuron* **1995**, *15*, 1231-1244.
9. Wilson, G. G.; Karlin, A. The location of the gate in the acetylcholine receptor channel. *Neuron* **1998**, *20*, 1269-1281.
10. Levitan, I. B. Modulation of ion channels by protein phosphorylation and dephosphorylation. *Annu. Rev. Physiol.* **1994**, *56*, 193-212.
11. Swope, S. L.; Qu, Z.; Haganir, R. L. Phosphorylation of the nicotinic acetylcholine receptor by protein tyrosine kinases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1995**, *757*, 197-214.
12. Miyazawa, A.; Fujiyoshi, Y.; Unwin, N. Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. *Nature* **2003**, *423*, 949-955.
13. Miyazawa, A.; Fujiyoshi, Y.; Stowell, M.; Unwin, N. Nicotinic acetylcholine receptor at 4.6 Å resolution: transverse tunnels in the channel wall. *J. Mol. Biol.* **1999**, *288*, 765-786.
14. Le, N. N.; Changeux, J. P. Molecular evolution of the nicotinic acetylcholine receptor: an example of multigene family in excitable cells. *J. Mol. Evol.* **1995**, *40*, 155-172.
15. Corringer, P. J.; Le, N. N.; Changeux, J. P. Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2000**, *40*, 431-458.
16. Hogg, R. C.; Raggenbass, M.; Bertrand, D. Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **2003**, *147*, 1-46.
17. Sivilotti, L.; Colquhoun, D. Acetylcholine receptors: too many channels, too few functions. *Science* **1995**, *269*, 1681-1682.
18. Reynolds, J. A.; Karlin, A. Molecular weight in detergent solution of acetylcholine receptor from *Torpedo californica*. *Biochemistry* **1978**, *17*, 2035-2038.
19. Mishina, M.; Takai, T.; Imoto, K.; Noda, M.; Takahashi, T.; Numa, S.; Methfessel, C.; Sakmann, B. Molecular distinction between fetal and adult forms of muscle acetylcholine receptor. *Nature* **1986**, *321*, 406-411.
20. Raftery, M. A.; Vandlen, R. L.; Reed, K. L.; Lee, T. Characterization of *Torpedo californica* acetylcholine receptor: its subunit composition and ligand-binding properties. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **1976**, *40*, 193-202.

21. Sine, S. M.; Claudio, T. γ - and δ -subunits regulate the affinity and the cooperativity of ligand binding to the acetylcholine receptor. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 19369-19377.
22. Lindstrom, J. M. Acetylcholine receptors and myasthenia. *Muscle Nerve* **2000**, *23*, 453-477.
23. Role, L. W. Diversity in primary structure and function of neuronal nicotinic acetylcholine receptor channels. *Curr Opin. Neurobiol.* **1992**, *2*, 254-262.
24. Sargent, P. B. The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* **1993**, *16*, 403-443.
25. Anand, R.; Conroy, W. G.; Schoepfer, R.; Whiting, P.; Lindstrom, J. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes have a pentameric quaternary structure. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 11192-11198.
26. Groot-Kormelink, P. J.; Luyten, W. H.; Colquhoun, D.; Sivilotti, L. G. A reporter mutation approach shows incorporation of the "orphan" subunit $\beta 3$ into a functional nicotinic receptor. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 15317-15320.
27. Goldner, F. M.; Dineley, K. T.; Patrick, J. W. Immunohistochemical localization of the nicotinic acetylcholine receptor subunit $\alpha 6$ to dopaminergic neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area. *Neuroreport* **1997**, *8*, 2739-2742.
28. Gotti, C.; Zoli, M.; Clementi, F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 482-491.
29. Schoepfer, R.; Conroy, W. G.; Whiting, P.; Gore, M.; Lindstrom, J. Brain α -bungarotoxin binding protein cDNAs and MAbs reveal subtypes of this branch of the ligand-gated ion channel gene superfamily. *Neuron* **1990**, *5*, 35-48.
30. Elgoyhen, A. B.; Vetter, D. E.; Katz, E.; Rothlin, C. V.; Heinemann, S. F.; Boulter, J. $\alpha 10$: a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **2001**, *98*, 3501-3506.
31. Baker, E. R.; Zwart, R.; Sher, E.; Millar, N. S. Pharmacological properties of $\alpha 9$ $\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors revealed by heterologous expression of subunit chimeras. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 453-460.
32. Couturier, S.; Bertrand, D.; Matter, J. M.; Hernandez, M. C.; Bertrand, S.; Millar, N.; Valera, S.; Barkas, T.; Ballivet, M. A neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit ($\alpha 7$) is developmentally regulated and forms a homo-oligomeric channel blocked by α -BTX. *Neuron* **1990**, *5*, 847-856.
33. Delbono, O.; Gopalakrishnan, M.; Renganathan, M.; Monteggia, L. M.; Messi, M. L.; Sullivan, J. P. Activation of the recombinant human $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor significantly raises intracellular free calcium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *280*, 428-438.
34. Palma, E.; Bertrand, S.; Binzoni, T.; Bertrand, D. Neuronal nicotinic $\alpha 7$ receptor expressed in *Xenopus* oocytes presents five putative binding sites for methyllycaconitine. *J. Physiol.* **1996**, *491* (Pt 1), 151-161.
35. Kao, P. N.; Dwork, A. J.; Kaldany, R. R.; Silver, M. L.; Wideman, J.; Stein, S.; Karlin, A. Identification of the α subunit half-cystine specifically labeled by an affinity reagent for the acetylcholine receptor binding site. *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 11662-11665.
36. Schmitt, J. D.; Sharples, C. G.; Caldwell, W. S. Molecular recognition in nicotinic acetylcholine receptors: the importance of π -cation interactions. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3066-3074.
37. Grutter, T.; Changeux, J. P. Nicotinic receptors in wonderland. *Trends Biochem. Sci.* **2001**, *26*, 459-463.
38. Smit, A. B.; Syed, N. I.; Schaap, D.; van, M. J.; Klumperman, J.; Kits, K. S.; Lodder, H.; van der Schors, R. C.; van, E. R.; Sorgedraeger, B.; Brejc, K.; Sixma, T. K.; Geraerts, W.

- P. A glia-derived acetylcholine-binding protein that modulates synaptic transmission. *Nature* **2001**, *411*, 261-268.
39. Brejc, K.; van Dijk, W. J.; Klaassen, R. V.; Schuurmans, M.; van Der, O. J.; Smit, A. B.; Sixma, T. K. Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature* **2001**, *411*, 269-276.
 40. Changeux, J. P. The TiPS lecture. The nicotinic acetylcholine receptor: an allosteric protein prototype of ligand-gated ion channels. *Trends Pharmacol. Sci.* **1990**, *11*, 485-492.
 41. Monod, J.; Wyman, J.; Changeux, J. P. On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *J. Mol. Biol.* **1965**, *12*, 88-118.
 42. Galzi, J. L.; Changeux, J. P. Neuronal nicotinic receptors: molecular organization and regulations. *Neuropharmacology* **1995**, *34*, 563-582.
 43. Auerbach, A.; Akk, G. Desensitization of mouse nicotinic acetylcholine receptor channels. A two-gate mechanism. *J. Gen. Physiol* **1998**, *112*, 181-197.
 44. Jones, M. V.; Westbrook, G. L. The impact of receptor desensitization on fast synaptic transmission. *Trends Neurosci.* **1996**, *19*, 96-101.
 45. Lena, C.; Changeux, J. P. Allosteric nicotinic receptors, human pathologies. *J. Physiol Paris* **1998**, *92*, 63-74.
 46. Creese, I.; Sibley, D. R. Receptor adaptations to centrally acting drugs. *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol.* **1981**, *21*, 357-391.
 47. Paterson, D.; Nordberg, A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Prog. Neurobiol.* **2000**, *61*, 75-111.
 48. Olale, F.; Gerzanich, V.; Kuryatov, A.; Wang, F.; Lindstrom, J. Chronic nicotine exposure differentially affects the function of human $\alpha 3$, $\alpha 4$, and $\alpha 7$ neuronal nicotinic receptor subtypes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *283*, 675-683.
 49. Buisson, B.; Bertrand, D. Nicotine addiction: the possible role of functional upregulation. *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 130-136.
 50. Salpeter, M. M.; Loring, R. H. Nicotinic acetylcholine receptors in vertebrate muscle: properties, distribution and neural control. *Prog. Neurobiol.* **1985**, *25*, 297-325.
 51. Poth, K.; Nutter, T. J.; Cuevas, J.; Parker, M. J.; Adams, D. J.; Luetje, C. W. Heterogeneity of nicotinic receptor class and subunit mRNA expression among individual parasympathetic neurons from rat intracardiac ganglia. *J. Neurosci.* **1997**, *17*, 586-596.
 52. Xu, W.; Gelber, S.; Orr-Urtreger, A.; Armstrong, D.; Lewis, R. A.; Ou, C. N.; Patrick, J.; Role, L.; De, B. M.; Beaudet, A. L. Megacystis, mydriasis, and ion channel defect in mice lacking the $\alpha 3$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **1999**, *96*, 5746-5751.
 53. Xu, W.; Orr-Urtreger, A.; Nigro, F.; Gelber, S.; Sutcliffe, C. B.; Armstrong, D.; Patrick, J. W.; Role, L. W.; Beaudet, A. L.; De, B. M. Multiorgan autonomic dysfunction in mice lacking the $\beta 2$ and the $\beta 4$ subunits of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Neurosci.* **1999**, *19*, 9298-9305.
 54. De, B. M.; Nigro, F.; Xu, W. Nicotinic acetylcholine receptors in the autonomic control of bladder function. *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *393*, 137-140.
 55. Zoli, M.; Lena, C.; Picciotto, M. R.; Changeux, J. P. Identification of four classes of brain nicotinic receptors using $\beta 2$ mutant mice. *J. Neurosci.* **1998**, *18*, 4461-4472.
 56. Marks, M. J.; Stitzel, J. A.; Romm, E.; Wehner, J. M.; Collins, A. C. Nicotinic binding sites in rat and mouse brain: comparison of acetylcholine, nicotine, and α -bungarotoxin. *Mol. Pharmacol.* **1986**, *30*, 427-436.

57. Clarke, P. B.; Hamill, G. S.; Nadi, N. S.; Jacobowitz, D. M.; Pert, A. [³H]nicotine- and [¹²⁵I]α-bungarotoxin-labeled nicotinic receptors in the interpeduncular nucleus of rats. II. Effects of habenular deafferentation. *J. Comp. Neurol.* **1986**, *251*, 407-413.
58. Clarke, P. B.; Schwartz, R. D.; Paul, S. M.; Pert, C. B.; Pert, A. Nicotinic binding in rat brain: autoradiographic comparison of [³H]acetylcholine, [³H]nicotine, and [¹²⁵I]α-bungarotoxin. *J. Neurosci.* **1985**, *5*, 1307-1315.
59. Wang, D. X.; Abood, L. G. Expression and characterization of the rat α4β2 neuronal nicotinic cholinergic receptor in baculovirus-infected insect cells. *J. Neurosci. Res* **1996**, *44*, 350-354.
60. Conroy, W. G.; Berg, D. K. Neurons can maintain multiple classes of nicotinic acetylcholine receptors distinguished by different subunit compositions. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 4424-4431.
61. Perry, E.; Martin-Ruiz, C.; Lee, M.; Griffiths, M.; Johnson, M.; Piggott, M.; Haroutunian, V.; Buxbaum, J. D.; Nasland, J.; Davis, K.; Gotti, C.; Clementi, F.; Tzartos, S.; Cohen, O.; Soreq, H.; Jaros, E.; Perry, R.; Ballard, C.; McKeith, I.; Court, J. Nicotinic receptor subtypes in human brain ageing, Alzheimer and Lewy body diseases. *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *393*, 215-222.
62. Le, N. N.; Zoli, M.; Changeux, J. P. Neuronal nicotinic receptor α6 subunit mRNA is selectively concentrated in catecholaminergic nuclei of the rat brain. *Eur. J. Neurosci.* **1996**, *8*, 2428-2439.
63. Champtiaux, N.; Gotti, C.; Cordero-Erausquin, M.; David, D. J.; Przybylski, C.; Lena, C.; Clementi, F.; Moretti, M.; Rossi, F. M.; Le, N. N.; McIntosh, J. M.; Gardier, A. M.; Changeux, J. P. Subunit composition of functional nicotinic receptors in dopaminergic neurons investigated with knock-out mice. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 7820-7829.
64. Flores, C. M.; DeCamp, R. M.; Kilo, S.; Rogers, S. W.; Hargreaves, K. M. Neuronal nicotinic receptor expression in sensory neurons of the rat trigeminal ganglion: demonstration of α3β4, a novel subtype in the mammalian nervous system. *J. Neurosci.* **1996**, *16*, 7892-7901.
65. Wada, E.; Wada, K.; Boulter, J.; Deneris, E.; Heinemann, S.; Patrick, J.; Swanson, L. W. Distribution of α2, α3, α4 and β2 neuronal nicotinic receptor subunit mRNAs in the central nervous system: a hybridization histochemical study in the rat. *J. Comp. Neurol.* **1989**, *284*, 314-335.
66. Elgoyhen, A. B.; Johnson, D. S.; Boulter, J.; Vetter, D. E.; Heinemann, S. α9: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells. *Cell* **1994**, *79*, 705-715.
67. Lustig, L. R.; Peng, H.; Hiel, H.; Yamamoto, T.; Fuchs, P. A. Molecular cloning and mapping of the human nicotinic acetylcholine receptor α10 (CHRNA10). *Genomics* **2001**, *73*, 272-283.
68. Gahring, L. C.; Rogers, S. W. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor expression and function on nonneuronal cells. *AAPS. J.* **2005**, *7*, E885-E894.
69. Grando, S. A. Biological functions of keratinocyte cholinergic receptors. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* **1997**, *2*, 41-48.
70. Maus, A. D.; Pereira, E. F.; Karachunski, P. I.; Horton, R. M.; Navaneetham, D.; Macklin, K.; Cortes, W. S.; Albuquerque, E. X.; Conti-Fine, B. M. Human and rodent bronchial epithelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors. *Mol. Pharmacol.* **1998**, *54*, 779-788.
71. Macklin, K. D.; Maus, A. D.; Pereira, E. F.; Albuquerque, E. X.; Conti-Fine, B. M. Human vascular endothelial cells express functional nicotinic acetylcholine receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, *287*, 435-439.

72. Peng, H.; Ferris, R. L.; Matthews, T.; Hiel, H.; Lopez-Albaitero, A.; Lustig, L. R. Characterization of the human nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha (α) 9 (CHRNA9) and alpha (α) 10 (CHRNA10) in lymphocytes. *Life Sci.* **2004**, *76*, 263-280.
73. Picciotto, M. R.; Caldarone, B. J.; King, S. L.; Zachariou, V. Nicotinic receptors in the brain. Links between molecular biology and behavior. *Neuropsychopharmacology* **2000**, *22*, 451-465.
74. Newhouse, P. A.; Kelton, M. Nicotinic systems in central nervous systems disease: degenerative disorders and beyond. *Pharm. Acta Helv.* **2000**, *74*, 91-101.
75. Brassett-Harknett, A.; Butler, N. Attention-deficit/hyperactivity disorder: an overview of the etiology and a review of the literature relating to the correlates and lifecourse outcomes for men and women. *Clin. Psychol. Rev.* **2007**, *27*, 188-210.
76. Cormier, E. Attention deficit/hyperactivity disorder: a review and update. *J. Pediatr. Nurs.* **2008**, *23*, 345-357.
77. Pomerleau, O. F.; Downey, K. K.; Stelson, F. W.; Pomerleau, C. S. Cigarette smoking in adult patients diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder. *J. Subst. Abuse.* **1995**, *7*, 373-378.
78. Levin, E. D.; Simon, B. B. Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology (Berl)* **1998**, *138*, 217-230.
79. Wilens, T. E.; Biederman, J.; Spencer, T. J.; Bostic, J.; Prince, J.; Monuteaux, M. C.; Soriano, J.; Fine, C.; Abrams, A.; Rater, M.; Polisner, D. A pilot controlled clinical trial of ABT-418, a cholinergic agonist, in the treatment of adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Am. J. Psychiatry* **1999**, *156*, 1931-1937.
80. Lloyd, G. K.; Williams, M. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, *292*, 461-467.
81. Breslau, N. Psychiatric comorbidity of smoking and nicotine dependence. *Behav. Genet.* **1995**, *25*, 95-101.
82. Diaz, F. J.; James, D.; Botts, S.; Maw, L.; Susce, M. T.; de, L. J. Tobacco smoking behaviors in bipolar disorder: a comparison of the general population, schizophrenia, and major depression. *Bipolar. Disord.* **2009**, *11*, 154-165.
83. Covey, L. S.; Glassman, A. H.; Stetner, F. Cigarette smoking and major depression. *J. Addict. Dis.* **1998**, *17*, 35-46.
84. Glassman, A. H.; Helzer, J. E.; Covey, L. S.; Cottler, L. B.; Stetner, F.; Tipp, J. E.; Johnson, J. Smoking, smoking cessation, and major depression. *JAMA* **1990**, *264*, 1546-1549.
85. Morissette, S. B.; Tull, M. T.; Gulliver, S. B.; Kamholz, B. W.; Zimering, R. T. Anxiety, anxiety disorders, tobacco use, and nicotine: a critical review of interrelationships. *Psychol. Bull.* **2007**, *133*, 245-272.
86. Salin-Pascual, R. J.; de, I. F., Jr.; Galicia-Polo, L.; Drucker-Colin, R. Effects of transdermal nicotine on mood and sleep in nonsmoking major depressed patients. *Psychopharmacology (Berl)* **1995**, *121*, 476-479.
87. Mineur, Y. S.; Somenzi, O.; Picciotto, M. R. Cytisine, a partial agonist of high-affinity nicotinic acetylcholine receptors, has antidepressant-like properties in male C57BL/6J mice. *Neuropharmacology* **2007**, *52*, 1256-1262.
88. Rollema, H.; Guanowsky, V.; Mineur, Y. S.; Shrikhande, A.; Coe, J. W.; Seymour, P. A.; Picciotto, M. R. Varenicline has antidepressant-like activity in the forced swim test and augments sertraline's effect. *Eur. J. Pharmacol.* **2009**, *605*, 114-116.
89. Davis, L.; Pollock L.J.; Stone, T. T. Visceral pain. *Surg Gynecol Obstet* **1932**, *55*, 418-427.
90. Decker, M. W.; Rueter, L. E.; Bitner, R. S. Nicotinic acetylcholine receptor agonists: a potential new class of analgesics. *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 369-384.

91. Badio, B.; Daly, J. W. Epibatidine, a potent analgetic and nicotinic agonist. *Mol. Pharmacol.* **1994**, *45*, 563-569.
92. Daly, J. W.; Garraffo, H. M.; Spande, T. F.; Decker, M. W.; Sullivan, J. P.; Williams, M. Alkaloids from frog skin: the discovery of epibatidine and the potential for developing novel non-opioid analgesics. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 131-135.
93. Sullivan, J. P.; Decker, M. W.; Brioni, J. D.; Donnelly-Roberts, D.; Anderson, D. J.; Bannon, A. W.; Kang, C. H.; Adams, P.; Piattoni-Kaplan, M.; Buckley, M. J.; . (±)-Epibatidine elicits a diversity of in vitro and in vivo effects mediated by nicotinic acetylcholine receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *271*, 624-631.
94. Bannon, A. W.; Decker, M. W.; Curzon, P.; Buckley, M. J.; Kim, D. J.; Radek, R. J.; Lynch, J. K.; Wasicak, J. T.; Lin, N. H.; Arnold, W. H.; Holladay, M. W.; Williams, M.; Arneric, S. P. ABT-594 [(R)-5-(2-azetidinylmethoxy)-2-chloropyridine]: a novel, orally effective antinociceptive agent acting via neuronal nicotinic acetylcholine receptors: II. In vivo characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, *285*, 787-794.
95. Decker, M. W.; Curzon, P.; Holladay, M. W.; Nikkel, A. L.; Bitner, R. S.; Bannon, A. W.; Donnelly-roberts, D. L.; Puttfarcken, P. S.; Kuntzweiler, T. A.; Briggs, C. A.; Williams, M.; Arneric, S. P. The role of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in antinociception: effects of ABT-594. *J. Physiol. Paris* **1998**, *92*, 221-224.
96. Marubio, L. M.; del, M. A.-J.; Cordero-Erausquin, M.; Lena, C.; Le, N. N.; de Kerchove, d. A.; Huchet, M.; Damaj, M. I.; Changeux, J. P. Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature* **1999**, *398*, 805-810.
97. WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2008: The MPower package. **2008**. Geneva, World Health Organization.
98. Hecht, S. S. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **1999**, *91*, 1194-1210.
99. Rose, J. E.; Corrigan, W. A. Nicotine self-administration in animals and humans: similarities and differences. *Psychopharmacology (Berl)* **1997**, *130*, 28-40.
100. Henningfield, J. E.; Miyasato, K.; Jasinski, D. R. Abuse liability and pharmacodynamic characteristics of intravenous and inhaled nicotine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1985**, *234*, 1-12.
101. Mansvelder, H. D.; Keath, J. R.; McGehee, D. S. Synaptic mechanisms underlie nicotine-induced excitability of brain reward areas. *Neuron* **2002**, *33*, 905-919.
102. Mansvelder, H. D.; McGehee, D. S. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J. Neurobiol.* **2002**, *53*, 606-617.
103. Laviolette, S. R.; van der, K. D. The neurobiology of nicotine addiction: bridging the gap from molecules to behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* **2004**, *5*, 55-65.
104. Picciotto, M. R.; Corrigan, W. A. Neuronal systems underlying behaviors related to nicotine addiction: neural circuits and molecular genetics. *J. Neurosci.* **2002**, *22*, 3338-3341.
105. Picciotto, M. R.; Zoli, M.; Rimondini, R.; Lena, C.; Marubio, L. M.; Pich, E. M.; Fuxe, K.; Changeux, J. P. Acetylcholine receptors containing the $\beta 2$ subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* **1998**, *391*, 173-177.
106. Galanti, L. M. Tobacco smoking cessation management: integrating varenicline in current practice. *Vasc. Health Risk Manag.* **2008**, *4*, 837-845.
107. Bonde, B. Das Krankheitsbild der Schizophrenie. *Pharm unserer Zeit* **2002**, *31*, 530-536.
108. Hughes, J. R.; Hatsukami, D. K.; Mitchell, J. E.; Dahlgren, L. A. Prevalence of smoking among psychiatric outpatients. *Am. J. Psychiatry* **1986**, *143*, 993-997.
109. Lohr, J. B.; Flynn, K. Smoking and schizophrenia. *Schizophr. Res* **1992**, *8*, 93-102.

110. Dalack, G. W.; Meador-Woodruff, J. H. Smoking, smoking withdrawal and schizophrenia: case reports and a review of the literature. *Schizophr. Res* **1996**, *22*, 133-141.
111. Dalack, G. W.; Healy, D. J.; Meador-Woodruff, J. H. Nicotine dependence in schizophrenia: clinical phenomena and laboratory findings. *Am. J Psychiatry* **1998**, *155*, 1490-1501.
112. Luntz-Leybman, V.; Bickford, P. C.; Freedman, R. Cholinergic gating of response to auditory stimuli in rat hippocampus. *Brain Res* **1992**, *587*, 130-136.
113. Freedman, R.; Hall, M.; Adler, L. E.; Leonard, S. Evidence in postmortem brain tissue for decreased numbers of hippocampal nicotinic receptors in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **1995**, *38*, 22-33.
114. Freedman, R.; Coon, H.; Myles-Worsley, M.; Orr-Urtreger, A.; Olincy, A.; Davis, A.; Polymeropoulos, M.; Holik, J.; Hopkins, J.; Hoff, M.; Rosenthal, J.; Waldo, M. C.; Reimherr, F.; Wender, P.; Yaw, J.; Young, D. A.; Breese, C. R.; Adams, C.; Patterson, D.; Adler, L. E.; Kruglyak, L.; Leonard, S.; Byerley, W. Linkage of a neurophysiological deficit in schizophrenia to a chromosome 15 locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **1997**, *94*, 587-592.
115. Leonard, S.; Breese, C.; Adams, C.; Benhammou, K.; Gault, J.; Stevens, K.; Lee, M.; Adler, L.; Olincy, A.; Ross, R.; Freedman, R. Smoking and schizophrenia: abnormal nicotinic receptor expression. *Eur. J. Pharmacol* **2000**, *393*, 237-242.
116. Suemaru, K.; Yasuda, K.; Umeda, K.; Araki, H.; Shibata, K.; Choshi, T.; Hibino, S.; Gomita, Y. Nicotine blocks apomorphine-induced disruption of prepulse inhibition of the acoustic startle in rats: possible involvement of central nicotinic $\alpha 7$ receptors. *Br. J. Pharmacol.* **2004**, *142*, 843-850.
117. Woodruff-Pak, D. S.; Gould, T. J. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: involvement in Alzheimer's disease and schizophrenia. *Behav. Cogn. Neurosci. Rev.* **2002**, *1*, 5-20.
118. Lombroso, P. J.; Scahill, L. Tourette syndrome and obsessive-compulsive disorder. *Brain Dev.* **2008**, *30*, 231-237.
119. Wolf, S. S.; Jones, D. W.; Knable, M. B.; Gorey, J. G.; Lee, K. S.; Hyde, T. M.; Coppola, R.; Weinberger, D. R. Tourette syndrome: prediction of phenotypic variation in monozygotic twins by caudate nucleus D2 receptor binding. *Science* **1996**, *273*, 1225-1227.
120. Dursun, S. M.; Reveley, M. A. Differential effects of transdermal nicotine on microstructured analyses of tics in Tourette's syndrome: an open study. *Psychol. Med.* **1997**, *27*, 483-487.
121. Sanberg, P. R.; Fogelson, H. M.; Manderscheid, P. Z.; Parker, K. W.; Norman, A. B.; McConville, B. J. Nicotine gum and haloperidol in Tourette's syndrome. *Lancet* **1988**, *1*, 592.
122. Sanberg, P. R.; McConville, B. J.; Fogelson, H. M.; Manderscheid, P. Z.; Parker, K. W.; Blythe, M. M.; Klykylo, W. M.; Norman, A. B. Nicotine potentiates the effects of haloperidol in animals and in patients with Tourette syndrome. *Biomed. Pharmacother.* **1989**, *43*, 19-23.
123. McConville, B. J.; Sanberg, P. R.; Fogelson, H. M.; King, J.; Cirino, P.; Parker, K. W.; Norman, A. B. The effects of nicotine plus haloperidol compared to nicotine only and placebo nicotine only in reducing tic severity and frequency in Tourette's disorder. *Biol. Psychiatry* **1992**, *31*, 832-840.
124. Silver, A. A.; Shytle, R. D.; Philipp, M. K.; Wilkinson, B. J.; McConville, B.; Sanberg, P. R. Transdermal nicotine and haloperidol in Tourette's disorder: a double-blind placebo-controlled study. *J. Clin. Psychiatry* **2001**, *62*, 707-714.

125. Kremer, H. P. What's wrong with Tourette syndrome? *Parkinsonism. Relat Disord.* **2007**, *13 Suppl 3*, S385-S386.
126. Ryvlin, P.; Rheims, S.; Risse, G. Nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* **2006**, *47 Suppl 2*, 83-86.
127. Marini, C.; Guerrini, R. The role of the nicotinic acetylcholine receptors in sleep-related epilepsy. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *74*, 1308-1314.
128. Bertrand, D.; Picard, F.; Le, H. S.; Weiland, S.; Favre, I.; Phillips, H.; Bertrand, S.; Berkovic, S. F.; Malafosse, A.; Mulley, J. How mutations in the nAChRs can cause ADNFLE epilepsy. *Epilepsia* **2002**, *43 Suppl 5*, 112-122.
129. Hogg, R. C.; Bertrand, D. Neuronal nicotinic receptors and epilepsy, from genes to possible therapeutic compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1859-1861.
130. Delacourte, A.; Defossez, A. Alzheimer's disease: Tau proteins, the promoting factors of microtubule assembly, are major components of paired helical filaments. *J. Neurol. Sci.* **1986**, *76*, 173-186.
131. Coyle, J. T.; Price, D. L.; DeLong, M. R. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* **1983**, *219*, 1184-1190.
132. Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K. Tau pathology generated by overexpression of tau. *Am. J. Pathol.* **1999**, *155*, 1781-1785.
133. Selkoe, D. J. The cell biology of β -amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol.* **1998**, *8*, 447-453.
134. Warpman, U.; Nordberg, A. Epibatidine and ABT-418 reveal selective losses of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors in Alzheimer brains. *Neuroreport* **1995**, *6*, 2419-2423.
135. Perry, E. K.; Tomlinson, B. E.; Blessed, G.; Bergmann, K.; Gibson, P. H.; Perry, R. H. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *Br. Med. J.* **1978**, *2*, 1457-1459.
136. Wang, H. Y.; Lee, D. H.; D'Andrea, M. R.; Peterson, P. A.; Shank, R. P.; Reitz, A. B. β -Amyloid₁₋₄₂ binds to $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor with high affinity. Implications for Alzheimer's disease pathology. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 5626-5632.
137. Liu, Q.; Kawai, H.; Berg, D. K. β -Amyloid peptide blocks the response of $\alpha 7$ -containing nicotinic receptors on hippocampal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **2001**, *98*, 4734-4739.
138. Pettit, D. L.; Shao, Z.; Yakel, J. L. β -Amyloid₁₋₄₂ peptide directly modulates nicotinic receptors in the rat hippocampal slice. *J. Neurosci.* **2001**, *21*, RC120.
139. van Duijn, C. M.; Hofman, A. Relation between nicotine intake and Alzheimer's disease. *BMJ* **1991**, *302*, 1491-1494.
140. Brenner, D. E.; Kukull, W. A.; van, B. G.; Bowen, J. D.; McCormick, W. C.; Teri, L.; Larson, E. B. Relationship between cigarette smoking and Alzheimer's disease in a population-based case-control study. *Neurology* **1993**, *43*, 293-300.
141. Aubert, I.; Araujo, D. M.; Cecyre, D.; Robitaille, Y.; Gauthier, S.; Quirion, R. Comparative alterations of nicotinic and muscarinic binding sites in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Neurochem.* **1992**, *58*, 529-541.
142. Lang, A. E.; Lozano, A. M. Parkinson's disease. First of two parts. *N. Engl J Med* **1998**, *339*, 1044-1053.
143. Baron, J. A. Cigarette smoking and Parkinson's disease. *Neurology* **1986**, *36*, 1490-1496.
144. Baron, J. A. Beneficial effects of nicotine and cigarette smoking: the real, the possible and the spurious. *Br. Med Bull.* **1996**, *52*, 58-73.
145. Hellenbrand, W.; Seidler, A.; Robra, B. P.; Vieregge, P.; Oertel, W. H.; Joerg, J.; Nischan, P.; Schneider, E.; Ulm, G. Smoking and Parkinson's disease: a case-control study in Germany. *In.t J. Epidemiol.* **1997**, *26*, 328-339.

146. Moll, H. The Treatment of Post-Encephalitic Parkinsonism by Nicotine. *Br. Med. J.* **1926**, 36, 1079-1081.
147. Janson, A. M.; Fuxe, K.; Agnati, L. F.; Kitayama, I.; Harfstrand, A.; Andersson, K.; Goldstein, M. Chronic nicotine treatment counteracts the disappearance of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive nerve cell bodies, dendrites and terminals in the mesostriatal dopamine system of the male rat after partial hemitransection. *Brain Res.* **1988**, 455, 332-345.
148. Fuxe, K.; Janson, A. M.; Jansson, A.; Andersson, K.; Eneroth, P.; Agnati, L. F. Chronic nicotine treatment increases dopamine levels and reduces dopamine utilization in substantia nigra and in surviving forebrain dopamine nerve terminal systems after a partial di-mesencephalic hemitransection. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol* **1990**, 341, 171-181.
149. Grenhoff, J.; Janson, A. M.; Svensson, T. H.; Fuxe, K. Chronic continuous nicotine treatment causes decreased burst firing of nigral dopamine neurons in rats partially hemitransected at the meso-diencephalic junction. *Brain Res* **1991**, 562, 347-351.
150. Charpentier, E.; Barnéoud, P.; Moser, P.; Besnard, F.; Sgard, F. Nicotinic acetylcholine subunit mRNA expression in dopaminergic neurons of the rat substantia nigra and ventral tegmental area. *Neuroreport* **1998**, 9, 3097-3101.
151. Champtiaux, N.; Han, Z. Y.; Bessis, A.; Rossi, F. M.; Zoli, M.; Marubio, L.; McIntosh, J. M.; Changeux, J. P. Distribution and pharmacology of $\alpha 6$ -containing nicotinic acetylcholine receptors analyzed with mutant mice. *J. Neurosci.* **2002**, 22, 1208-1217.
152. Quik, M.; Polonskaya, Y.; McIntosh, J. M.; Kulak, J. M. Differential nicotinic receptor expression in monkey basal ganglia: effects of nigrostriatal damage. *Neuroscience* **2002**, 112, 619-630.
153. Tracey, K. J. The inflammatory reflex. *Nature* **2002**, 420, 853-859.
154. Bernik, T. R.; Friedman, S. G.; Ochani, M.; DiRaimo, R.; Ulloa, L.; Yang, H.; Sudan, S.; Czura, C. J.; Ivanova, S. M.; Tracey, K. J. Pharmacological stimulation of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J. Exp. Med.* **2002**, 195, 781-788.
155. Wang, H.; Yu, M.; Ochani, M.; Amella, C. A.; Tanovic, M.; Susarla, S.; Li, J. H.; Wang, H.; Yang, H.; Ulloa, L.; Al-Abed, Y.; Czura, C. J.; Tracey, K. J. Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* **2003**, 421, 384-388.
156. Ulloa, L. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, 4, 673-684.
157. Libert, C. Inflammation: A nervous connection. *Nature* **2003**, 421, 328-329.
158. Jick, H.; Walker, A. M. Cigarette smoking and ulcerative colitis. *N. Engl. J. Med.* **1983**, 308, 261-263.
159. Guslandi, M. Nicotine treatment for ulcerative colitis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1999**, 48, 481-484.
160. Calkins, B. M. A meta-analysis of the role of smoking in inflammatory bowel disease. *Dig. Dis. Sci.* **1989**, 34, 1841-1854.
161. Thomas, G. A.; Rhodes, J.; Green, J. Nicotine and gastrointestinal disease. *QJM.* **1996**, 89, 485-488.
162. Thomas, G. A.; Rhodes, J.; Green, J. T.; Richardson, C. Role of smoking in inflammatory bowel disease: implications for therapy. *Postgrad. Med J* **2000**, 76, 273-279.
163. Pullan, R. D.; Rhodes, J.; Ganesh, S.; Mani, V.; Morris, J. S.; Williams, G. T.; Newcombe, R. G.; Russell, M. A.; Feyerabend, C.; Thomas, G. A.; . Transdermal nicotine for active ulcerative colitis. *N. Engl. J. Med.* **1994**, 330, 811-815.

164. Saeed, R. W.; Varma, S.; Peng-Nemeroff, T.; Sherry, B.; Balakhaneh, D.; Huston, J.; Tracey, K. J.; Al-Abed, Y.; Metz, C. N. Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation. *J. Exp. Med.* **2005**, *201*, 1113-1123.
165. Wessler, I.; Kirkpatrick, C. J. Acetylcholine beyond neurons: the non-neuronal cholinergic system in humans. *Br. J. Pharmacol.* **2008**, *154*, 1558-1571.
166. Villablanca, A. C. Nicotine stimulates DNA synthesis and proliferation in vascular endothelial cells in vitro. *J. Appl. Physiol.* **1998**, *84*, 2089-2098.
167. Heeschen, C.; Jang, J. J.; Weis, M.; Pathak, A.; Kaji, S.; Hu, R. S.; Tsao, P. S.; Johnson, F. L.; Cooke, J. P. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nat. Med.* **2001**, *7*, 833-839.
168. Schuller, H. M. Is cancer triggered by altered signalling of nicotinic acetylcholine receptors? *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 195-205.
169. Egleton, R. D.; Brown, K. C.; Dasgupta, P. Nicotinic acetylcholine receptors in cancer: multiple roles in proliferation and inhibition of apoptosis. *Trends Pharmacol. Sci.* **2008**, *29*, 151-158.
170. Schmitt, J. D. Exploring the nature of molecular recognition in nicotinic acetylcholine receptors. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 749-800.
171. Nirthanan, S.; Gwee, M. C. Three-finger α -neurotoxins and the nicotinic acetylcholine receptor, forty years on. *J. Pharmacol. Sci.* **2004**, *94*, 1-17.
172. Nicke, A.; Wonnacott, S.; Lewis, R. J. α -conotoxins as tools for the elucidation of structure and function of neuronal nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 2305-2319.
173. Millard, E. L.; Daly, N. L.; Craik, D. J. Structure-activity relationships of α -conotoxins targeting neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 2320-2326.
174. Olivera, B. M.; Teichert, R. W. Diversity of the neurotoxic Conus peptides: a model for concerted pharmacological discovery. *Mol Interv.* **2007**, *7*, 251-260.
175. Whiteaker, P.; Sharples, C. G.; Wonnacott, S. Agonist-induced up-regulation of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors in M10 cells: pharmacological and spatial definition. *Mol Pharmacol* **1998**, *53*, 950-962.
176. de Fiebre, C. M.; Meyer, E. M.; Henry, J. C.; Muraskin, S. I.; Kem, W. R.; Papke, R. L. Characterization of a series of anabaseine-derived compounds reveals that the 3-(4)-dimethylaminocinnamylidene derivative is a selective agonist at neuronal nicotinic $\alpha 7/[^{125}I]\alpha$ -bungarotoxin receptor subtypes. *Mol Pharmacol* **1995**, *47*, 164-171.
177. Dunn, S. M.; Rafferty, M. A. Agonist binding to the Torpedo acetylcholine receptor. 2. Complexities revealed by association kinetics. *Biochemistry* **1997**, *36*, 3854-3863.
178. Sarter, M.; Parikh, V. Choline transporters, cholinergic transmission and cognition. *Nat. Rev. Neurosci.* **2005**, *6*, 48-56.
179. Papke, R. L.; Bencherif, M.; Lippiello, P. An evaluation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation by quaternary nitrogen compounds indicates that choline is selective for the $\alpha 7$ subtype. *Neurosci. Lett* **1996**, *213*, 201-204.
180. Alkondon, M.; Pereira, E. F.; Cortes, W. S.; Maelicke, A.; Albuquerque, E. X. Choline is a selective agonist of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in the rat brain neurons. *Eur. J. Neurosci.* **1997**, *9*, 2734-2742.
181. Jensen, A. A.; Mikkelsen, I.; Frolund, B.; Brauner-Osborne, H.; Falch, E.; Krosgaard-Larsen, P. Carbamoylcholine homologs: novel and potent agonists at neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *64*, 865-875.
182. Hansen, C. P.; Jensen, A. A.; Christensen, J. K.; Balle, T.; Liljefors, T.; Frolund, B. Novel acetylcholine and carbamoylcholine analogues: development of a functionally

- selective $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor agonist. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7380-7395.
183. Lippiello, P. M.; Fernandes, K. G. The binding of L-[3 H]nicotine to a single class of high affinity sites in rat brain membranes. *Mol Pharmacol* **1986**, *29*, 448-454.
184. Glennon, R. A.; Dukat, M. Central nicotinic receptor ligands and pharmacophores. *Pharm. Acta Helv.* **2000**, *74*, 103-114.
185. Glennon, R. A.; Dukat, M. Nicotinic Cholinergic Receptor Pharmacophores. In: Arneric, S. P.; Brioni, J. D. (Eds.), *Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities*. **1999**, Wiley-Liss, New York, 271-284.
186. Maggi, L.; Palma, E.; Eusebi, F.; Moretti, M.; Balestra, B.; Clementi, F.; Gotti, C. Selective effects of a 4-oxystilbene derivative on wild and mutant neuronal chick $\alpha 7$ nicotinic receptor. *Br. J. Pharmacol.* **1999**, *126*, 285-295.
187. Gotti, C.; Balestra, B.; Moretti, M.; Rovati, G. E.; Maggi, L.; Rossoni, G.; Berti, F.; Villa, L.; Pallavicini, M.; Clementi, F. 4-Oxystilbene compounds are selective ligands for neuronal nicotinic α -Bungarotoxin receptors. *Br. J. Pharmacol.* **1998**, *124*, 1197-1206.
188. Renshaw, R. R.; Armstrong, W. D. Basis for the physiological activity of onium compounds. XIV. Aryl ethers of choline. *J. Biol. Chem.* **1933**, *103*, 187-189.
189. Gündisch, D.; Andrä, M.; Munoz, L.; Cristina, T. M. Synthesis and evaluation of phenylcarbamate derivatives as ligands for nicotinic acetylcholine receptors. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4953-4962.
190. Bencherif, M.; Lovette, M. E.; Fowler, K. W.; Arrington, S.; Reeves, L.; Caldwell, W. S.; Lippiello, P. M. RJR-2403: a nicotinic agonist with CNS selectivity I. In vitro characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1996**, *279*, 1413-1421.
191. Papke, R. L.; Webster, J. C.; Lippiello, P. M.; Bencherif, M.; Francis, M. M. The activation and inhibition of human nicotinic acetylcholine receptor by RJR-2403 indicate a selectivity for the $\alpha 4\beta 2$ receptor subtype. *J. Neurochem.* **2000**, *75*, 204-216.
192. Lippiello, P. M.; Bencherif, M.; Gray, J. A.; Peters, S.; Grigoryan, G.; Hodges, H.; Collins, A. C. RJR-2403: a nicotinic agonist with CNS selectivity II. In vivo characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1996**, *279*, 1422-1429.
193. Bencherif, M.; Byrd, G.; Caldwell, W. S.; Hayes, J. R.; Lippiello, P. Pharmacological characterization of RJR-2403: A nicotinic agonist with potential therapeutic benefit in the treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drug Rev.* **1996**, *3*, 875-888.
194. Damaj, M. I.; Glassco, W.; Aceto, M. D.; Martin, B. R. Antinociceptive and pharmacological effects of metanicotine, a selective nicotinic agonist. *J Pharmacol Exp Ther* **1999**, *291*, 390-398.
195. Spoettl, T.; Paetzel, C.; Herfarth, H.; Bencherif, M.; Schoelmerich, J.; Greinwald, R.; Gatto, G. J.; Rogler, G. (*E*)-metanicotine hemigalactarate (TC-2403-12) inhibits IL-8 production in cells of the inflamed mucosa. *Int. J. Colorectal. Dis.* **2007**, *22*, 303-312.
196. Chen, Y.; Sharples, T. J.; Phillips, K. G.; Benedetti, G.; Broad, L. M.; Zwart, R.; Sher, E. The nicotinic $\alpha 4\beta 2$ receptor selective agonist, TC-2559, increases dopamine neuronal activity in the ventral tegmental area of rat midbrain slices. *Neuropharmacology* **2003**, *45*, 334-344.
197. Smith, J. W.; Mogg, A.; Tafi, E.; Peacey, E.; Pullar, I. A.; Szekeres, P.; Tricklebank, M. Ligands selective for $\alpha 4\beta 2$ but not $\alpha 3\beta 4$ or $\alpha 7$ nicotinic receptors generalise to the nicotine discriminative stimulus in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* **2007**, *190*, 157-170.
198. Gündisch, D.; London, E. D.; Terry, P.; Hill, G. R.; Mukhin, A. G. High affinity binding of [3 H]epibatidine to rat brain membranes. *Neuroreport* **1999**, *10*, 1631-1636.
199. Mukhin, A. G.; Gündisch, D.; Horti, A. G.; Koren, A. O.; Tamagnan, G.; Kimes, A. S.; Chambers, J.; Vaupel, D. B.; King, S. L.; Picciotto, M. R.; Innis, R. B.; London, E. D. 5-

- Iodo-A-85380, an $\alpha 4\beta 2$ subtype-selective ligand for nicotinic acetylcholine receptors. *Mol. Pharmacol.* **2000**, *57*, 642-649.
200. Wang, D. X.; Booth, H.; Lerner-Marmarosh, N.; Osdene, T. S.; Abood, L. Structure-Activity relationships for nicotine analogs comparing competition for [^3H]nicotine binding and psychotropic potency. *Drug Dev. Res.* **1998**, *45*, 10-16.
201. London, E. D.; Ball, M. J.; Waller, S. B. Nicotinic binding sites in cerebral cortex and hippocampus in Alzheimer's dementia. *Neurochem. Res.* **1989**, *14*, 745-750.
202. Benowitz, N. L. Drug therapy. Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. *N. Engl. J. Med.* **1988**, *319*, 1318-1330.
203. Anderson, D. J.; Arneric, S. P. Nicotinic receptor binding of [^3H]cytisine, [^3H]nicotine and [^3H]methylcarbamylcholine in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* **1994**, *253*, 261-267.
204. Bunnelle, W. H.; Dart, M. J.; Schrimpf, M. R. Design of ligands for the nicotinic acetylcholine receptors: the quest for selectivity. *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 299-334.
205. Schneider, J. S.; Tinker, J. P.; Van, V. M.; Menzaghi, F.; Lloyd, G. K. Nicotinic acetylcholine receptor agonist SIB-1508Y improves cognitive functioning in chronic low-dose MPTP-treated monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *290*, 731-739.
206. Cosford, N. D.; Bleicher, L.; Vernier, J. M.; Chavez-Noriega, L.; Rao, T. S.; Siegel, R. S.; Suto, C.; Washburn, M.; Lloyd, G. K.; McDonald, I. A. Recombinant human receptors and functional assays in the discovery of aliticine (SIB-1508Y), a novel acetylcholine-gated ion channel (nAChR) agonist. *Pharm. Acta Helv.* **2000**, *74*, 125-130.
207. Dukat, M.; Damaj, I. M.; Young, R.; Vann, R.; Collins, A. C.; Marks, M. J.; Martin, B. R.; Glennon, R. A. Functional diversity among 5-substituted nicotine analogs; in vitro and in vivo investigations. *Eur. J. Pharmacol.* **2002**, *435*, 171-180.
208. Randomized placebo-controlled study of the nicotinic agonist SIB-1508Y in Parkinson disease. *Neurology* **2006**, *66*, 408-410.
209. Donnelly-Roberts, D. L.; Xue, I. C.; Arneric, S. P.; Sullivan, J. P. In vitro neuroprotective properties of the novel cholinergic channel activator (ChCA), ABT-418. *Brain Res.* **1996**, *719*, 36-44.
210. Arneric, S. P.; Sullivan, J. P.; Briggs, C. A.; Donnelly-Roberts, D.; Anderson, D. J.; Raszkievicz, J. L.; Hughes, M. L.; Cadman, E. D.; Adams, P.; Garvey, D. S.; . (S)-3-methyl-5-(1-methyl-2-pyrrolidinyl) isoxazole (ABT-418): a novel cholinergic ligand with cognition-enhancing and anxiolytic activities: I. In vitro characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *270*, 310-318.
211. Decker, M. W.; Brioni, J. D.; Sullivan, J. P.; Buckley, M. J.; Radek, R. J.; Raszkievicz, J. L.; Kang, C. H.; Kim, D. J.; Giardina, W. J.; Wasicak, J. T.; . (S)-3-methyl-5-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)isoxazole (ABT-418): a novel cholinergic ligand with cognition-enhancing and anxiolytic activities: II. In vivo characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *270*, 319-328.
212. Neurath, G. [Nitrogen compounds of tobacco smoke]. *Arzneimittelforschung.* **1969**, *19*, 1093-1106.
213. Coates, R. M.; Kem, W. R.; Abbott, B. C. Isolation and structure of a hoplonemertine toxin. *Toxicon* **1971**, *9*, 15-22.
214. Wheeler, J. W.; Olubajo, O.; Storm, C. B.; Duffield, R. M. Anabaseine: Venom Alkaloid of Aphaenogaster Ants. *Science* **1981**, *211*, 1051-1052.
215. Kem, W. R.; Mahnir, V. M.; Papke, R. L.; Lingle, C. J. Anabaseine is a potent agonist on muscle and neuronal α -bungarotoxin-sensitive nicotinic receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *283*, 979-992.
216. Meyer, E. M.; Tay, E. T.; Papke, R. L.; Meyers, C.; Huang, G. L.; de Fiebre, C. M. 3-[2,4-Dimethoxybenzylidene]anabaseine (DMXB) selectively activates rat $\alpha 7$ receptors

- and improves memory-related behaviors in a mecamylamine-sensitive manner. *Brain Res.* **1997**, *768*, 49-56.
217. Kem, W. R.; Mahnir, V. M.; Prokai, L.; Papke, R. L.; Cao, X.; LeFrancois, S.; Wildeboer, K.; Prokai-Tatrai, K.; Porter-Papke, J.; Soti, F. Hydroxy metabolites of the Alzheimer's drug candidate 3-[(2,4-dimethoxy)benzylidene]-anabaseine dihydrochloride (GTS-21): their molecular properties, interactions with brain nicotinic receptors, and brain penetration. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 56-67.
218. Freedman, R.; Olincy, A.; Buchanan, R. W.; Harris, J. G.; Gold, J. M.; Johnson, L.; Allensworth, D.; Guzman-Bonilla, A.; Clement, B.; Ball, M. P.; Kutnick, J.; Pender, V.; Martin, L. F.; Stevens, K. E.; Wagner, B. D.; Zerbe, G. O.; Soti, F.; Kem, W. R. Initial phase 2 trial of a nicotinic agonist in schizophrenia. *Am. J Psychiatry* **2008**, *165*, 1040-1047.
219. Lin, N. H.; Gunn, D. E.; Ryther, K. B.; Garvey, D. S.; Donnelly-roberts, D. L.; Decker, M. W.; Brioni, J. D.; Buckley, M. J.; Rodrigues, A. D.; Marsh, K. G.; Anderson, D. J.; Buccafusco, J. J.; Prendergast, M. A.; Sullivan, J. P.; Williams, M.; Arneric, S. P.; Holladay, M. W. Structure-activity studies on 2-methyl-3-(2(S)-pyrrolidinylmethoxy)pyridine (ABT-089): an orally bioavailable 3-pyridyl ether nicotinic acetylcholine receptor ligand with cognition-enhancing properties. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 385-390.
220. Decker, M. W.; Bannon, A. W.; Curzon, P.; Gunther, K. L.; Brioni, J. D.; Holladay, M. W.; Lin, N. H.; Li, Y.; Daanen, J. F.; Buccafusco, J. J.; Prendergast, M. A.; Jackson, W. J.; Arneric, S. P. ABT-089 [2-methyl-3-(2-(S)-pyrrolidinylmethoxy)pyridine dihydrochloride]: II. A novel cholinergic channel modulator with effects on cognitive performance in rats and monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* **1997**, *283*, 247-258.
221. Rueter, L. E.; Anderson, D. J.; Briggs, C. A.; Donnelly-roberts, D. L.; Gintant, G. A.; Gopalakrishnan, M.; Lin, N. H.; Osinski, M. A.; Reinhart, G. A.; Buckley, M. J.; Martin, R. L.; McDermott, J. S.; Preusser, L. C.; Seifert, T. R.; Su, Z.; Cox, B. F.; Decker, M. W.; Sullivan, J. P. ABT-089: pharmacological properties of a neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonist for the potential treatment of cognitive disorders. *CNS Drug Rev.* **2004**, *10*, 167-182.
222. Wilens, T. E.; Decker, M. W. Neuronal nicotinic receptor agonists for the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder: focus on cognition. *Biochem. Pharmacol* **2007**, *74*, 1212-1223.
223. Sullivan, J. P.; Donnelly-Roberts, D.; Briggs, C. A.; Anderson, D. J.; Gopalakrishnan, M.; Piattoni-Kaplan, M.; Campbell, J. E.; McKenna, D. G.; Molinari, E.; Hettlinger, A. M.; Garvey, D. S.; Wasicak, J. T.; Holladay, M. W.; Williams, M.; Arneric, S. P. A-85380 [3-(2(S)-azetidylmethoxy)pyridine]: in vitro pharmacological properties of a novel, high affinity $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor ligand. *Neuropharmacology* **1996**, *35*, 725-734.
224. Rueter, L. E.; Donnelly-Roberts, D. L.; Curzon, P.; Briggs, C. A.; Anderson, D. J.; Bitner, R. S. A-85380: a pharmacological probe for the preclinical and clinical investigation of the $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *CNS Drug Rev.* **2006**, *12*, 100-112.
225. Koren, A. O.; Horti, A. G.; Mukhin, A. G.; GÜdisch, D.; Kimes, A. S.; Dannals, R. F.; London, E. D. 2-, 5-, and 6-Halo-3-(2(S)-azetidylmethoxy)pyridines: synthesis, affinity for nicotinic acetylcholine receptors, and molecular modeling. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3690-3698.
226. Mogg, A. J.; Jones, F. A.; Pullar, I. A.; Sharples, C. G.; Wonnacott, S. Functional responses and subunit composition of presynaptic nicotinic receptor subtypes explored using the novel agonist 5-iodo-A-85380. *Neuropharmacology* **2004**, *47*, 848-859.
227. Vaupel, D. B.; Mukhin, A. G.; Kimes, A. S.; Horti, A. G.; Koren, A. O.; London, E. D. In vivo studies with [¹²⁵I]5-I-A-85380, a nicotinic acetylcholine receptor radioligand. *Neuro-report* **1998**, *9*, 2311-2317.

228. Spande, T. F.; Garraffo, H. M.; Edwards, M. W.; Yeh, H. J. C.; Pannell, L.; Daly, J. W. Epibatidine: a novel (chloropyridyl)azabicycloheptane with potent analgesic activity from an Ecuadoran poison frog. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3475-3478.
229. Rupniak, N. M.; Patel, S.; Marwood, R.; Webb, J.; Traynor, J. R.; Elliott, J.; Freedman, S. B.; Fletcher, S. R.; Hill, R. G. Antinociceptive and toxic effects of (+)-epibatidine oxalate attributable to nicotinic agonist activity. *Br. J. Pharmacol.* **1994**, *113*, 1487-1493.
230. Jensen, A. A.; Frolund, B.; Liljefors, T.; Krosgaard-Larsen, P. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: structural revelations, target identifications, and therapeutic inspirations. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4705-4745.
231. Jain, K. K. Modulators of nicotinic acetylcholine receptors as analgesics. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2004**, *5*, 76-81.
232. Flammia, D.; Dukat, M.; Damaj, M. I.; Martin, B.; Glennon, R. A. Lobeline: structure-affinity investigation of nicotinic acetylcholinergic receptor binding. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3726-3731.
233. Terry, A. V., Jr.; Williamson, R.; Gattu, M.; Beach, J. W.; McCurdy, C. R.; Sparks, J. A.; Pauly, J. R. Lobeline and structurally simplified analogs exhibit differential agonist activity and sensitivity to antagonist blockade when compared to nicotine. *Neuropharmacology* **1998**, *37*, 93-102.
234. Miller, D. K.; Crooks, P. A.; Dwoskin, L. P. Lobeline inhibits nicotine-evoked [³H]dopamine overflow from rat striatal slices and nicotine-evoked ⁸⁶Rb⁺ efflux from thalamic synaptosomes. *Neuropharmacology* **2000**, *39*, 2654-2662.
235. Damaj, M. I.; Patrick, G. S.; Creasy, K. R.; Martin, B. R. Pharmacology of lobeline, a nicotinic receptor ligand. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *282*, 410-419.
236. Levin, E. D.; Christopher, C. N. Lobeline-induced learning improvement of rats in the radial-arm maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2003**, *76*, 133-139.
237. Schneider, F.; Olssen, T. Clinical experience with lobeline as a smoking cessation agent. *Med. Chem. Res.* **1996**, *5*, 562-570. 1996.
238. Zheng, G.; Dwoskin, L. P.; Deaciuc, A. G.; Zhu, J.; Jones, M. D.; Crooks, P. A. Lobelane analogues as novel ligands for the vesicular monoamine transporter-2. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3899-3909.
239. Zheng, G.; Dwoskin, L. P.; Deaciuc, A. G.; Norrholm, S. D.; Crooks, P. A. Defunctionalized lobeline analogues: structure-activity of novel ligands for the vesicular monoamine transporter. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5551-5560.
240. Zheng, G.; Dwoskin, L. P.; Deaciuc, A. G.; Crooks, P. A. Synthesis and evaluation of a series of homologues of lobelane at the vesicular monoamine transporter-2. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6509-6512.
241. Carmichael, W. W.; Biggs, D. F.; Gorham, P. R. Toxicology and pharmacological action of anabaena flos-aquae toxin. *Science* **1975**, *187*, 542-544.
242. Gündisch, D.; Harms, K.; Schwarz, S.; Seitz, G.; Stubbs, M. T.; Wegge, T. Synthesis and evaluation of diazine containing bioisosteres of (-)-ferruginine as ligands for nicotinic acetylcholine receptors. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2683-2691.
243. Wonnacott, S.; Jackman, S.; Swanson, K. L.; Rapoport, H.; Albuquerque, E. X. Nicotinic pharmacology of anatoxin analogs. II. Side chain structure-activity relationships at neuronal nicotinic ligand binding sites. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1991**, *259*, 387-391.
244. Macallan, D. R.; Lunt, G. G.; Wonnacott, S.; Swanson, K. L.; Rapoport, H.; Albuquerque, E. X. Methyllycaconitine and (+)-anatoxin-a differentiate between nicotinic receptors in vertebrate and invertebrate nervous systems. *FEBS Lett* **1988**, *226*, 357-363.
245. Thomas, P.; Stephens, M.; Wilkie, G.; Amar, M.; Lunt, G. G.; Whiting, P.; Gallagher, T.; Pereira, E.; Alkondon, M.; Albuquerque, E. X.; . (+)-Anatoxin-a is a potent agonist at neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Neurochem.* **1993**, *60*, 2308-2311.

246. Sharples, C. G.; Kaiser, S.; Soliakov, L.; Marks, M. J.; Collins, A. C.; Washburn, M.; Wright, E.; Spencer, J. A.; Gallagher, T.; Whiteaker, P.; Wonnacott, S. UB-165: a novel nicotinic agonist with subtype selectivity implicates the $\alpha 4\beta 2^*$ subtype in the modulation of dopamine release from rat striatal synaptosomes. *J Neurosci.* **2000**, *20*, 2783-2791.
247. Gohlke, H.; Gündisch, D.; Schwarz, S.; Seitz, G.; Tilotta, M. C.; Wegge, T. Synthesis and nicotinic binding studies on enantiopure diazine analogues of the novel (2-chloro-5-pyridyl)-9-azabicyclo[4.2.1]non-2-ene UB-165. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1064-1072.
248. Sharples, C. G.; Karig, G.; Simpson, G. L.; Spencer, J. A.; Wright, E.; Millar, N. S.; Wonnacott, S.; Gallagher, T. Synthesis and pharmacological characterization of novel analogues of the nicotinic acetylcholine receptor agonist (\pm)-UB-165. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3235-3245.
249. Ralph, I.; Bick, C.; Gillard, J. W.; Leow, H.-M. Alkaloids of *Darlingiana darlingiana*. *Aust. J. Chem.* **1979**, *32*, 2523-2536.
250. Ralph, I.; Bick, C.; Gillard, J. W.; Leow, H.-M. Alkaloids of *Darlingiana ferruginea*. *Aust. J. Chem.* **1979**, *32*, 2537-2543.
251. Gündisch, D.; Kampchen, T.; Schwarz, S.; Seitz, G.; Siegl, J.; Wegge, T. Syntheses and evaluation of pyridazine and pyrimidine containing bioisosteres of (\pm)-pyrido[3.4-b]homotropane and pyrido-[3.4-b]tropane as novel nAChR ligands. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1-9.
252. Coates, P. A.; Blagbrough, I. S.; Hardick, D. J.; Rowan, M. G.; Wonnacott, S.; Potter, B. V. L. Rapid and efficient isolation of the nicotinic receptor antagonist methyllycaconitin from *Delphinium*: Assignment of the methylsuccinimide absolute stereochemistry as S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8701-8704.
253. Ward, J. M.; Cockcroft, V. B.; Lunt, G. G.; Smillie, F. S.; Wonnacott, S. Methyllycaconitine: a selective probe for neuronal α -bungarotoxin binding sites. *FEBS Lett.* **1990**, *270*, 45-48.
254. Yum, L.; Wolf, K. M.; Chiappinelli, V. A. Nicotinic acetylcholine receptors in separate brain regions exhibit different affinities for methyllycaconitine. *Neuroscience* **1996**, *72*, 545-555.
255. Mogg, A. J.; Whiteaker, P.; McIntosh, J. M.; Marks, M.; Collins, A. C.; Wonnacott, S. Methyllycaconitine is a potent antagonist of α -conotoxin-MII-sensitive presynaptic nicotinic acetylcholine receptors in rat striatum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, *302*, 197-204.
256. Davies, A. R.; Hardick, D. J.; Blagbrough, I. S.; Potter, B. V.; Wolstenholme, A. J.; Wonnacott, S. Characterisation of the binding of [3 H]methyllycaconitine: a new radioligand for labelling $\alpha 7$ -type neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology* **1999**, *38*, 679-690.
257. Imming, P.; Klaperski, P.; Stubbs, M. T.; Seitz, G.; Gündisch, D. Syntheses and evaluation of halogenated cytosine derivatives and of bioisosteric thiocytosine as potent and selective nAChR ligands. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 375-388.
258. Williams, M.; Robinson, J. L. Binding of the nicotinic cholinergic antagonist, dihydro-beta-erythroidine, to rat brain tissue. *J. Neurosci.* **1984**, *4*, 2906-2911.
259. Chavez-Noriega, L. E.; Crona, J. H.; Washburn, M. S.; Urrutia, A.; Elliott, K. J.; Johnson, E. C. Pharmacological characterization of recombinant human neuronal nicotinic acetylcholine receptors $\alpha 2\beta 2$, $\alpha 2\beta 4$, $\alpha 3\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$, $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 4\beta 4$ and $\alpha 7$ expressed in *Xenopus* oocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *280*, 346-356.
260. Decker, M. W.; Brioni, J. D.; Bannon, A. W.; Arneric, S. P. Diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: lessons from behavior and implications for CNS therapeutics. *Life Sci.* **1995**, *56*, 545-570.

261. Kenny, P. J.; Markou, A. Nicotine self-administration acutely activates brain reward systems and induces a long-lasting increase in reward sensitivity. *Neuropsychopharmacology* **2006**, *31*, 1203-1211.
262. Davis, J. A.; Gould, T. J. The effects of DHBE and MLA on nicotine-induced enhancement of contextual fear conditioning in C57BL/6 mice. *Psychopharmacology (Berl)* **2006**, *184*, 345-352.
263. Mullen, G.; Napier, J.; Balestra, M.; DeCory, T.; Hale, G.; Macor, J.; Mack, R.; Loch, J., III; Wu, E.; Kover, A.; Verhoest, P.; Sampognaro, A.; Phillips, E.; Zhu, Y.; Murray, R.; Griffith, R.; Blosser, J.; Gurley, D.; Machulskis, A.; Zongrone, J.; Rosen, A.; Gordon, J. (-)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octane-3,5'-oxazolidin-2'-one], a conformationally restricted analogue of acetylcholine, is a highly selective full agonist at the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4045-4050.
264. Levin, E. D.; Bettgowda, C.; Blosser, J.; Gordon, J. AR-R17779, and $\alpha 7$ nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. *Behav. Pharmacol* **1999**, *10*, 675-680.
265. Hahn, B.; Sharples, C. G.; Wonnacott, S.; Shoaib, M.; Stolerman, I. P. Attentional effects of nicotinic agonists in rats. *Neuropharmacology* **2003**, *44*, 1054-1067.
266. Grottick, A. J.; Higgins, G. A. Effect of subtype selective nicotinic compounds on attention as assessed by the five-choice serial reaction time task. *Behav. Brain Res.* **2000**, *117*, 197-208.
267. <http://www.dr-bernhard-peter.de/Apotheke/Gifte/Bungarotoxine.htm>
268. Lee, C. Y. Chemistry and pharmacology of polypeptide toxins in snake venoms. *Annu. Rev. Pharmacol.* **1972**, *12*, 265-286.
269. Gotti, C.; Ogando, A. E.; Hanke, W.; Schlue, R.; Moretti, M.; Clementi, F. Purification and characterization of an α -bungarotoxin receptor that forms a functional nicotinic channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, *88*, 3258-3262.
270. Changeux, J. P.; Kasai, M.; Lee, C. Y. Use of a snake venom toxin to characterize the cholinergic receptor protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1970**, *67*, 1241-1247.
271. Gopalakrishnan, M.; Buisson, B.; Touma, E.; Giordano, T.; Campbell, J. E.; Hu, I. C.; Donnelly-Roberts, D.; Americ, S. P.; Bertrand, D.; Sullivan, J. P. Stable expression and pharmacological properties of the human $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Eur. J. Pharmacol.* **1995**, *290*, 237-246.
272. McIntosh, J. M.; Santos, A. D.; Olivera, B. M. Conus peptides targeted to specific nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 59-88.
273. Olivera, B. M. E.E. Just Lecture, 1996. Conus venom peptides, receptor and ion channel targets, and drug design: 50 million years of neuropharmacology. *Mol. Biol. Cell* **1997**, *8*, 2101-2109.
274. Jones, R. M.; Bulaj, G. Conotoxins - new vistas for peptide therapeutics. *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6*, 1249-1285.
275. McIntosh, J. M.; Jones, R. M. Cone venom--from accidental stings to deliberate injection. *Toxicon* **2001**, *39*, 1447-1451.
276. Cartier, G. E.; Yoshikami, D.; Gray, W. R.; Luo, S.; Olivera, B. M.; McIntosh, J. M. A new α -conotoxin which targets $\alpha 3\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 7522-7528.
277. Harvey, S. C.; McIntosh, J. M.; Cartier, G. E.; Maddox, F. N.; Luetje, C. W. Determinants of specificity for α -conotoxin MII on $\alpha 3\beta 2$ neuronal nicotinic receptors. *Mol Pharmacol.* **1997**, *51*, 336-342.
278. McIntosh, J. M.; Azam, L.; Staheli, S.; Dowell, C.; Lindstrom, J. M.; Kuryatov, A.; Garrett, J. E.; Marks, M. J.; Whiteaker, P. Analogs of α -conotoxin MII are selective for $\alpha 6$ -containing nicotinic acetylcholine receptors. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 944-952.

279. Dowell, C.; Olivera, B. M.; Garrett, J. E.; Staheli, S. T.; Watkins, M.; Kuryatov, A.; Yoshikami, D.; Lindstrom, J. M.; McIntosh, J. M. α -conotoxin P1A is selective for $\alpha 6$ subunit-containing nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci.* **2003**, *23*, 8445-8452.
280. Johnson, D. S.; Martinez, J.; Elgoyhen, A. B.; Heinemann, S. F.; McIntosh, J. M. α -Conotoxin Iml exhibits subtype-specific nicotinic acetylcholine receptor blockade: preferential inhibition of homomeric $\alpha 7$ and $\alpha 9$ receptors. *Mol. Pharmacol.* **1995**, *48*, 194-199.
281. Pereira, E. F.; Alkondon, M.; McIntosh, J. M.; Albuquerque, E. X. Alpha-conotoxin-Iml: a competitive antagonist at alpha-bungarotoxin-sensitive neuronal nicotinic receptors in hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther* **1996**, *278*, 1472-1483.
282. Luo, S.; Kulak, J. M.; Cartier, G. E.; Jacobsen, R. B.; Yoshikami, D.; Olivera, B. M.; McIntosh, J. M. α -conotoxin AulB selectively blocks $\alpha 3\beta 4$ nicotinic acetylcholine receptors and nicotine-evoked norepinephrine release. *J. Neurosci.* **1998**, *18*, 8571-8579.
283. Prommer, E. Ziconotide: a new option for refractory pain. *Drugs Today (Barc.)* **2006**, *42*, 369-378.
284. Fachinformation Prial®; Rote Liste® Service GmbH **2009**
285. Wang, C. Z.; Chi, C. W. Conus peptides--a rich pharmaceutical treasure. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)* **2004**, *36*, 713-723.
286. Lena, C.; Changeux, J. P. Allosteric modulations of the nicotinic acetylcholine receptor. *Trends Neurosci.* **1993**, *16*, 181-186.
287. Buisson, B.; Bertrand, D. Allosteric modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Physiol. (Paris)* **1998**, *92*, 89-100.
288. Shytle, R. D.; Penny, E.; Silver, A. A.; Goldman, J.; Sanberg, P. R. Mecamylamine (Inversine): an old antihypertensive with new research directions. *J. Hum. Hypertens.* **2002**, *16*, 453-457.
289. Lippiello, P. M.; Beaver, J. S.; Gatto, G. J.; James, J. W.; Jordan, K. G.; Traina, V. M.; Xie, J.; Bencherif, M. TC-5214 (S-(+)-mecamylamine): a neuronal nicotinic receptor modulator with antidepressant activity. *CNS Neurosci. Ther.* **2008**, *14*, 266-277.
290. Rose, J. E.; Behm, F. M.; Westman, E. C.; Levin, E. D.; Stein, R. M.; Ripka, G. V. Mecamylamine combined with nicotine skin patch facilitates smoking cessation beyond nicotine patch treatment alone. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1994**, *56*, 86-99.
291. Rose, J. E.; Behm, F. M.; Westman, E. C. Nicotine-mecamylamine treatment for smoking cessation: the role of pre-cessation therapy. *Exp. Clin. Psychopharmacol.* **1998**, *6*, 331-343.
292. Silver, A. A.; Shytle, R. D.; Sheehan, K. H.; Sheehan, D. V.; Ramos, A.; Sanberg, P. R. Multicenter, double-blind, placebo-controlled study of mecamylamine monotherapy for Tourette's disorder. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* **2001**, *40*, 1103-1110.
293. Nishizaki, T.; Ikeuchi, Y.; Matsuoka, T.; Sumikawa, K. Short-term depression and long-term enhancement of ACh-gated channel currents induced by linoleic and linolenic acid. *Brain Res* **1997**, *751*, 253-258.
294. Ke, L.; Lukas, R. J. Effects of steroid exposure on ligand binding and functional activities of diverse nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *J. Neurochem.* **1996**, *67*, 1100-1112.
295. Nakazawa, K.; Ohno, Y. Modulation by estrogens and xenoestrogens of recombinant human neuronal nicotinic receptors. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, *430*, 175-183.
296. Curtis, L.; Buisson, B.; Bertrand, S.; Bertrand, D. Potentiation of human $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor by estradiol. *Mol. Pharmacol.* **2002**, *61*, 127-135.

297. Garbus, I.; Bouzat, C.; Barrantes, F. J. Steroids differentially inhibit the nicotinic acetylcholine receptor. *Neuroreport* **2001**, *12*, 227-231.
298. Eisele, J. L.; Bertrand, S.; Galzi, J. L.; villers-Thiery, A.; Changeux, J. P.; Bertrand, D. Chimaeric nicotinic-serotonergic receptor combines distinct ligand binding and channel specificities. *Nature* **1993**, *366*, 479-483.
299. Buisson, B.; Gopalakrishnan, M.; Arneric, S. P.; Sullivan, J. P.; Bertrand, D. Human $\alpha 4\beta 2$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor in HEK-293 cells: A patch-clamp study. *J. Neurosci.* **1996**, *16*, 7880-7891.
300. Vernino, S.; Amador, M.; Luetje, C. W.; Patrick, J.; Dani, J. A. Calcium modulation and high calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron* **1992**, *8*, 127-134.
301. Ibanez-Tallon, I.; Miwa, J. M.; Wang, H. L.; Adams, N. C.; Crabtree, G. W.; Sine, S. M.; Heintz, N. Novel modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by association with the endogenous prototoxin lynx1. *Neuron* **2002**, *33*, 893-903.
302. Xiao, Y.; Fan, H.; Musachio, J. L.; Wei, Z. L.; Chellappan, S. K.; Kozikowski, A. P.; Kellar, K. J. Sazetidine-A, a novel ligand that desensitizes $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors without activating them. *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70*, 1454-1460.
303. Cucchiaro, G.; Xiao, Y.; Gonzalez-Sulser, A.; Kellar, K. J. Analgesic effects of Sazetidine-A, a new nicotinic cholinergic drug. *Anesthesiology* **2008**, *109*, 512-519.
304. Ulens, C.; Akdemir, A.; Jongejan, A.; van, E. R.; Bertrand, S.; Perrakis, A.; Leurs, R.; Smit, A. B.; Sixma, T. K.; Bertrand, D.; de, E., I Use of acetylcholine binding protein in the search for novel $\alpha 7$ nicotinic receptor ligands. In silico docking, pharmacological screening, and X-ray analysis. *J Med Chem* **2009**, *52*, 2372-2383.
305. Boehm, H. J.; Klehe, G.; Kubinyi, H.; (Eds). *Wirkstoffdesign* **1996**, 1. Auflage, Spektrum Akad. Verl., Heidelberg Berlin Oxford
306. Beers, W. H.; Reich, E. Structure and activity of acetylcholine. *Nature* **1970**, *228*, 917-922.
307. Sheridan, R. P.; Nilakantan, R.; Dixon, J. S.; Venkataraghavan, R. The ensemble approach to distance geometry: application to the nicotinic pharmacophore. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 899-906.
308. Holladay, M. W.; Dart, M. J.; Lynch, J. K. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as targets for drug discovery. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 4169-4194.
309. Tonder, J. E.; Hansen, J. B.; Begtrup, M.; Pettersson, I.; Rinvall, K.; Christensen, B.; Ehrbar, U.; Olesen, P. H. Improving the nicotinic pharmacophore with a series of (Isoxazole)methylene-1-azacyclic compounds: synthesis, structure-activity relationship, and molecular modeling. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4970-4980.
310. Tonder, J. E.; Olesen, P. H.; Hansen, J. B.; Begtrup, M.; Pettersson, I. An improved nicotinic pharmacophore and a stereoselective CoMFA-model for nicotinic agonists acting at the central nicotinic acetylcholine receptors labelled by. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2001**, *15*, 247-258.
311. Tonder, J. E.; Olesen, P. H. Agonists at the $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors: structure-activity relationships and molecular modelling. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 651-674.
312. Glennon, R. A.; Herndon, J. L.; Dukat, M. Epibatidine-aided Studies Towards Definition of a Nicotine Receptor Pharmacophore. *Med. Chem. Res.* **1994**, *4*, 461-473. 1994.
313. Abreo, M. A.; Lin, N. H.; Garvey, D. S.; Gunn, D. E.; Hettlinger, A. M.; Wasicak, J. T.; Pavlik, P. A.; Martin, Y. C.; Donnelly-roberts, D. L.; Anderson, D. J.; Sullivan, J. P.; Williams, M.; Arneric, S. P.; Holladay, M. W. Novel 3-Pyridyl ethers with subnanomolar affinity for central neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 817-825.

314. Glennon, R. A.; Dukat, M. α 4 β 2 nACh receptor pharmacophore models. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1841-1844.
315. Romanelli, M. N.; Manetti, D.; Scapecchi, S.; Borea, P. A.; Dei, S.; Bartolini, A.; Ghelardini, C.; Gualtieri, F.; Guandalini, L.; Varani, K. Structure-affinity relationships of a unique nicotinic ligand: N¹-dimethyl-N⁴-phenylpiperazinium iodide (DMPP). *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3946-3955.
316. Tosco, P.; Ahring, P. K.; Dyhring, T.; Peters, D.; Harpsoe, K.; Liljefors, T.; Balle, T. Complementary three-dimensional quantitative structure-activity relationship modeling of binding affinity and functional potency: a study on α 4 β 2 nicotinic ligands. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2311-2316.
317. Hogg, R. C.; Bertrand, D. Nicotinic acetylcholine receptors as drug targets. *Curr. Drug Targets. CNS Neurol. Disord.* **2004**, *3*, 123-130.
318. Gündisch, D.; Koren, A. O.; Horti, A. G.; Pavlova, O. A.; Kimes, A. S.; Mukhin, A. G.; London, E. D. In vitro characterization of 6-[¹⁸F]fluoro-A-85380, a high-affinity ligand for α 4 β 2* nicotinic acetylcholine receptors. *Synapse* **2005**, *55*, 89-97.
319. Klaperski, P. Strukturvariationen des Naturstoffs (-)-Cytisine. Synthese neuer nAChRs-Liganden. Marburg, *Univ., Diss.*, **2002**, Shaker Verlag, Aachen 2002
320. Munoz, L. Novel Nicotinic Acetylcholine Receptor Ligands based on Cytisine and Choline: Synthesis, In vitro Evaluation and Structure-Activity Relationship, *Bonn, Diss.*, **Diss 2005**.
321. Pfizer Products, Inc.: WO9818798 (1998)
322. Boido, C. C.; Sparatore, F. Synthesis and preliminary pharmacological evaluation of some cytisine derivatives. *Farmaco* **1999**, *54*, 438-451.
323. <http://www.tabex.net/>
324. Etter, J. F. Cytisine for smoking cessation: a literature review and a meta-analysis. *Arch. Intern. Med.* **2006**, *166*, 1553-1559.
325. Gazaliev, A. M.; Zhurinov, M. Z.; Tuleuov, B. I. Isolation, analysis, structure, biosynthesis, and modification of the alkaloid cytisine. *Khim. Prir. Soedin.* **1991**, *3*, 301-313.
326. Neurosearch A/S, WO2001044243, (2000)
327. Papke, R. L.; Heinemann, S. F. Partial agonist properties of cytisine on neuronal nicotinic receptors containing the β 2 subunit. *Mol. Pharmacol.* **1994**, *45*, 142-149.
328. Houlihan, L. M.; Slater, Y.; Guerra, D. L.; Peng, J. H.; Kuo, Y. P.; Lukas, R. J.; Cassels, B. K.; Bermudez, I. Activity of cytisine and its brominated isosteres on recombinant human α 7, α 4 β 2 and α 4 β 4 nicotinic acetylcholine receptors. *J. Neurochem.* **2001**, *78*, 1029-1043.
329. Guthzeit, M.; Jahn, C. Action of amino-bases on ethyl dicarboxyglutarate and or ethyl chloroacetate on ethyl dicarboxyglutaconate. *J. Pr. Chem.* **1902**, *66*, 1-15.
330. Stetter, H.; Hennig, H. Compounds with a urotropine structure. VI. Synthesis of 1,3-diazaadamantane. *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 789-795.
331. Stetter, H.; Merten, R. Compounds with urotropine structure. IX. Bispidine. *Chem. Ber.* **1957**, *90*, 868-875.
332. Hoerlein, U. Nonsymmetric N-substituted bispidine (3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane. I. *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.* **1977**, *12*, 301-305.
333. Hoerlein, U.; Kurz, J.; Lipinski, D. Unsymmetrical N-substituted bispidines (3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonanes), II. *Chem. Ber.* **1977**, *110*, 3894-3899.
334. Blakemore, P. R.; Kilner, C.; Norcross, N. R.; Astles, P. C. A Practical Synthesis of (\pm)- α -Isosparteine from a Tetraoxobispidine Core. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4721-4724.
335. Norcross, N. R.; Melbardis, J. P.; Solera, M. F.; Sephton, M. A.; Kilner, C.; Zakharov, L. N.; Astles, P. C.; Warriner, S. L.; Blakemore, P. R. Total Synthesis of (\pm)- α -Isosparteine,

- (±)-β-Isosparteine, and (±)-Sparteine from a Common Tetraoxobispidine Intermediate. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7939-7951.
336. Hoppe, D.; Hense, T. Enantioselective synthesis with lithium/(-)-sparteine carbanion pairs. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1997**, *36*, 2282-2316.
337. Lesma, G.; Pilati, T.; Sacchetti, A.; Silvani, A. New chiral diamino ligands as sparteine analogues. Application to the palladium-catalyzed kinetic oxidative resolution of 1-phenyl ethanol. *Tetrahedron Asymmetry* **2008**, *19*, 1363-1366. 2008.
338. Breuning, M.; Steiner, M. Chiral bispidines. *Synthesis* **2008**, *18*, 2841-2867.
339. Dearden, M. J.; Firkin, C. R.; Hermet, J. P.; O'Brien, P. A readily-accessible (+)-sparteine surrogate. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11870-11871.
340. Dearden, M. J.; McGrath, M. J.; O'Brien, P. Evaluation of (+)-Sparteine-like Diamines for Asymmetric Synthesis. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5789-5792.
341. Dixon, A. J.; McGrath, M. J.; O'Brien, P. Synthesis of (+)-(1*R*,2*S*,9*S*)-11-methyl-7,11-diazatricyclo[7.3.1.0_{2,7}]tridecane, A (+)-sparteine surrogate. *Org. Synth.* **2006**, *83*, 141-154.
342. Galinovsky, F.; Langer, H. Synthesis of 1,3-diazaadamantane and of bispidine. *Monatsh. Chem.* **1955**, *86*, 449-453.
343. Stetter, H.; Schafer, J.; Dieminger, K. Compounds with the urotropine structure. X. The formation of the 1,3-diazaadamantan ring system by Mannich condensation. *Chem. Ber.* **1958**, *91*, 598-604.
344. Mannich, C.; Mons, P. Derivatives of a condensed ring system of two piperidine rings. *Chem. Ber.* **1930**, *63*, 608-612.
345. Mannich, C.; Veit, F. Derivatives of bispidine. *Chem. Ber.* **1935**, *68*, 506-512.
346. Becker Heinz, G. O. Organic Chemistry: Organic Chemistry Fundamental Laboratory Course. **1986**, 16th Ed. Wiley VCH, Weinheim
347. Brueckner, R.; (Ed.) Reaktionsmechanismen **2004**, 3. Aufl. Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford
348. Spieler, J.; Huttenloch, O.; Waldmann, H. Synthesis of chiral amino alcohols embodying the bispidine framework and their application as ligands in enantioselectively catalyzed additions to C=O and C=C groups. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, *3*, 391-399.
349. Huttenloch, O.; Spieler, J.; Waldmann, H. Chiral bicyclic phosphoramidites - a new class of ligands for asymmetric catalysis. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 671-675.
350. Huttenloch, O.; Laxman, E.; Waldmann, H. Solid-phase development of chiral phosphoramidite ligands for enantioselective conjugate addition reactions. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4767-4780.
351. Huttenloch, O.; Laxman, E.; Waldmann, H. Combinatorial development of chiral phosphoramidite-ligands for enantioselective conjugate addition reactions. *Chem. Commun. (Camb.)* **2002**, 673-675.
352. Kyi, Z. Y.; Wilson, W. Synthetic analgesics and related compounds. II. Some derivatives of 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane (bispidine). *J. Chem. Soc.* **1951**, 1706-1708.
353. Marshall, P. B.; Ahmad, N. u. d.; Weston, R. E. The pharmacology of some basic ketones and related compounds. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1952**, *7*, 85-92.
354. Ruenitz, P. C.; Smissman, E. E. Use of the Mannich reaction in the synthesis of bispidine. *J. Heterocycl. Chem.* **1976**, *13*, 1111-1113.
355. Ruenitz, P. C.; Mokler, C. M. Analogs of sparteine. 5. Antiarrhythmic activity of selected N,N'-disubstituted bispidines. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 1668-1671.
356. Ruenitz, P. C.; Mokler, C. M. Antiarrhythmic activity of some N-alkylbispidinebenzamidines. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 1142-1144.
357. Knoll AG: DE2428792 (1974)

358. BASF AG: DE3112055 (1981)
359. Astrazeneca AB: WO2000077000 (2000)
360. Astrazeneca AB: WO2000076999 (2000)
361. Astrazeneca AB: WO2000076998 (2000)
362. Astrazeneca AB: WO2000076997 (2000)
363. Astrazeneca AB: WO2002004446 (2001)
364. Solvay Pharmaceuticals GmbH: EP1270576 (2002)
365. Freestone, B.; Lip, G. Y. H. Tedisamil: a new novel antiarrhythmic. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2004**, *3*, 151-160.
366. Grohs, J. G.; Fischer, G.; Raberger, G. Cardiac and hemodynamic effects of the selective bradycardic agent KC 8857 during exercise-induced myocardial ischemia. *Eur. J. Pharmacol.* **1989**, *161*, 53-60.
367. Mutschler, E. Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. **2001**, 8. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
368. Siener, T.; Cambareri, A.; Kuhl, U.; Englberger, W.; Haurand, M.; Koegel, B.; Holzgrabe, U. Synthesis and Opioid Receptor Affinity of a Series of 2,4-Diaryl-Substituted 3,7-Diazabicyclononanones. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3746-3751.
369. Kuhl, U.; Englberger, W.; Haurand, M.; Holzgrabe, U. Diazabicyclo[3.3.1]nonanone-type ligands for the opioid receptors. *Arch. Pharm.* **2000**, *333*, 226-230.
370. Kogel, B.; Christoph, T.; Friderichs, E.; Hennies, H. H.; Matthiesen, T.; Schneider, J.; Holzgrabe, U. HZ2, a selective kappa-opioid agonist. *CNS Drug Rev.* **1998**, *4*, 54-70.
371. Comba, P.; Merz, M.; Pritzkow, H. Catalytic aziridination of styrene with copper complexes of substituted 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonanones. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *9*, 1711-1718.
372. Bleiholder, C.; Boerzel, H.; Comba, P.; Ferrari, R.; Heydt, M.; Kerscher, M.; Kuwata, S.; Laurenczy, G.; Lawrance, G. A.; Lienke, A.; Martin, B.; Merz, M.; Nuber, B.; Pritzkow, H. Coordination chemistry of a new rigid, hexadentate bispidine-based bis(amine)tetrakis(pyridine) ligand. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 8145-8155.
373. Anastasi, A. E.; Comba, P.; McGrady, J.; Lienke, A.; Rohwer, H. Electronic Structure of Bispidine Iron(IV) Oxo Complexes. *Inorg. Chem. (Washington, DC, U.S.)* **2007**, *46*, 6420-6426.
374. Comba, P.; Kuwata, S.; Linti, G.; Tarnai, M.; Wadepohl, H. Synthesis and oxidation of vanadyl complexes containing bispidine ligands. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, *5*, 657-664.
375. Comba, P.; Rajaraman, G. Epoxidation and 1,2-Dihydroxylation of Alkenes by a Nonheme Iron Model System - DFT Supports the Mechanism Proposed by Experiment. *Inorg. Chem. (Washington, DC, U.S.)* **2008**, *47*, 78-93.
376. MacDonald, P. E.; Sewing, S.; Wang, J.; Joseph, J. W.; Smukler, S. R.; Sakellaropoulos, G.; Wang, J.; Saleh, M. C.; Chan, C. B.; Tsushima, R. G.; Salapatek, A. M.; Wheeler, M. B. Inhibition of Kv2.1 Voltage-dependent K⁺ Channels in Pancreatic β -Cells Enhances Glucose-dependent Insulin Secretion. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 44938-44945.
377. Glaxo Group Ltd.: WO9932487 (1998)
378. Abbott Lab.: WO2000044755 (2000)
379. Targacept Inc.: WO2008057938 (2007)
380. Gündisch, D. Nicotinic acetylcholine receptor ligands as potential therapeutics. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2005**, *15*, 1221-1239.
381. Audouze, K.; Oestergaard Nielsen, E.; Olsen, G. M.; Ahring, P.; Jorgensen, T. D.; Peters, D.; Liljefors, T.; Balle, T. New Ligands with Affinity for the $\alpha 4\beta 2$ Subtype of

- Nicotinic Acetylcholine Receptors. Synthesis, Receptor Binding, and 3D-QSAR Modeling. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3159-3171.
382. Walker, D. P.; Wishka, D. G.; Piotrowski, D. W.; Jia, S.; Reitz, S. C.; Yates, K. M.; Myers, J. K.; Vetman, T. N.; Margolis, B. J.; Jacobsen, E. J.; Acker, B. A.; Groppi, V. E.; Wolfe, M. L.; Thornburgh, B. A.; Tinholt, P. M.; Cortes-Burgos, L. A.; Walters, R. R.; Hester, M. R.; Seest, E. P.; Dolak, L. A.; Han, F.; Olson, B. A.; Fitzgerald, L.; Staton, B. A.; Raub, T. J.; Hajos, M.; Hoffmann, W. E.; Li, K. S.; Higdon, N. R.; Wall, T. M.; Hurst, R. S.; Wong, E. H.; Rogers, B. N. Design, synthesis, structure-activity relationship, and in vivo activity of azabicyclic aryl amides as $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8219-8248.
383. Ivachtchenko, A. V.; Khvat, A.; Tkachenko, S. E.; Sandulenko, Y. B.; Vvedensky, V. Y. Access to novel substituted diazaadamantanes via semi-natural tetrahydrocytisine. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6733-6736.
384. Stead, D.; O'Brien, P.; Sanderson, A. J. Concise Synthesis of (\pm)-Cytisine via Lithiation of N-Boc-bispidine. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4459-4462.
385. Hutchins, R. O.; Maryanoff, B.; Milewski, C. Selective reduction of aliphatic ketones and aldehydes to hydrocarbons with sodium cyanoborohydride and p-toluenesulfonyl hydrazide in dimethylformamide-sulfolane. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 1793-1794.
386. Mahajan, J. R.; De Araujo, H. C. Synthesis of ($\hat{A}\pm$)-decan-9-olide (phoracantholide I) from cyclohexanone. *Synthesis* **1981**, *1*, 49-51.
387. Clemmensen, E. Reduktion von Ketonen und Aldehyden zu den entsprechenden Kohlenwasserstoffen unter Anwendung von amalgmiertem Zink und Salzsäure. *Chem. Ber.* **1913**, *46*, 1837-1843.
388. Clemmensen, E. A general method for the reduction of the carbonyl group in aldehydes and ketones to the methylene group. II. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 51-63.
389. Clemmensen, E. General method for the reduction of the carbonyl group in aldehydes and ketones to the methylene group. III. *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 681-687.
390. Wolff; Ludwig. Methode zum Ersatz des Sauerstoffatoms der Ketone und Aldehyde durch Wasserstoff. *Liebigs Ann. Chem.* **1912**, *86*, 394.
391. Kishner; N. *J. Russ. Phys. Chem. Soc.* **1911**, *43*, 582.
392. Hasan, I.; Marinelli, E. R.; Lin, L. C. C.; Fowler, F. W.; Levy, A. B. Synthesis and reactions of N-protected 2-lithiated pyrroles and indoles. The tert-butoxycarbonyl substituent as a protecting group. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 157-164.
393. Huang, M. Simple modification of the Wolff-Kishner reduction. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 2487-2488.
394. Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. Protective Groups in Organic Synthesis. **1991** 2nd Ed., John Wiley & Sons, Hoboken
395. Lindlar, H. A new catalyst for selective hydrogenations. *Helv. Chim. Acta* **1952**, *35*, 446-450.
396. ElAmin, B.; Anantharamaiah, G. M.; Royer, G. P.; Means, G. E. Removal of benzyl-type protecting groups from peptides by catalytic transfer hydrogenation with formic acid. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 3442-3444.
397. Olofson, R. A.; Martz, J. T.; Senet, J. P.; Piteau, M.; Malfroot, T. A new reagent for the selective, high-yield N-dealkylation of tertiary amines: improved syntheses of naltrexone and nalbuphine. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 2081-2082.
398. DeShong, P.; Kell, D. A. A total synthesis of ($\hat{A}\pm$)-allo-kainic acid. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3979-3982.
399. Yang, B. V.; O'Rourke, D.; Li, J. Mild and selective debenzoylation of tertiary amines using α -chloroethyl chloroformate. *Synlett* **1993**, *3*, 195-196.

400. Maruyama, K.; Kusakawa, T.; Higuchi, Y.; Nishinaga, A. Cobalt Schiff base complex catalyzed dehydrogenation of amines with tert-butyl hydroperoxide. *Chem. Lett.* 1991, 7, 1093-1096.
401. Yamaguchi, J.; Takeda, T. Oxidation of amines with cupric bromide-lithium tert-butoxide. *Chem. Lett.* 1992, 10, 1933-1936.
402. Gao, X.; Jones, R. A. Nitrogen-15 labeled deoxynucleosides. Synthesis of ¹⁵N6- and ¹⁵N1-deoxyadenosines from deoxyadenosine. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 1275-1278.
403. Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron* 2005, 61, 10827-10852.
404. 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.* 1999, 1, 55-68.
405. Chu, W.; Tu, Z.; McElveen, E.; Xu, J.; Taylor, M.; Luedtke, R. R.; Mach, R. H. Synthesis and in vitro binding of N-phenyl piperazine analogs as potential dopamine D3 receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13, 77-87.
406. Adams, R.; Ulich, L. H. Use of oxalyl chloride and bromide for producing acid chlorides, acid bromides or acid anhydrides. III. *J. Am. Chem. Soc.* 1920, 42, 599-611.
407. Bosshard, H. H.; Mory, R.; Schmid, M.; Zollinger, H. A method for the catalyzed preparation of carboxylic and sulfonic acid chlorides with thionyl chloride. *Helv. Chim. Acta* 1959, 42, 1653-1658.
408. Sanchez-Sancho, F.; Mann, E.; Herradon, B. Efficient syntheses of polyannular heterocycles featuring microwave-accelerated Bischler-Napieralski reaction, stereoselective Heck cyclization, and Claisen rearrangement. *Synlett* 2000, 4, 509-513.
409. Ragnarsson, U.; Grehn, L. Novel Amine Chemistry Based on DMAP-Catalyzed Acylation. *Acc. Chem. Res.* 1998, 31, 494-501.
410. Anderson, G.; Paul, R. N,N'-Carbonyldiimidazole, a new reagent for peptide synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* 1958, 80, 4423.
411. Paul, R.; Anderson, G. W. N,N'-Carbonyldiimidazole, a new peptide-forming reagent. *J. Am. Chem. Soc.* 1960, 82, 4596-4600.
412. Grzyb, J. A.; Shen, M.; Yoshina-Ishii, C.; Chi, W.; Brown, R. S.; Batey, R. A. Carbamoylimidazolium and thiocarbamoylimidazolium salts: novel reagents for the synthesis of ureas, thioureas, carbamates, thiocarbamates and amides. *Tetrahedron* 2005, 61, 7153-7175.
413. Klausner, Y. S.; Bodansky, M. Coupling reagents in peptide synthesis. *Synthesis* 1972, 9, 453-463.
414. Shibata, N.; Baldwin, J. E.; Jacobs, A.; Wood, M. E. Electrophilic sulfonylation in a stereocontrolled synthesis of protected (2R,3R)-3-mercaptoaspartic acid from L-aspartic acid. *Tetrahedron* 1996, 52, 12839-12852.
415. Pikul, S.; Dunham, K. L. M.; Almstead, N. G.; De, B.; Natchus, M. G.; Anastasio, M. V.; McPhail, S. J.; Snider, C. E.; Taiwo, Y. O.; Rydel, T.; Dunaway, C. M.; Gu, F.; Mieling, G. E. Discovery of Potent, Achiral Matrix Metalloproteinase Inhibitors. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 3568-3571.
416. Tamura, Y.; Watanabe, F.; Nakatani, T.; Yasui, K.; Fuji, M.; Komurasaki, T.; Tsuzuki, H.; Maekawa, R.; Yoshioka, T.; Kawada, K.; Sugita, K.; Ohtani, M. Highly Selective and Orally Active Inhibitors of Type IV Collagenase (MMP-9 and MMP-2): N-Sulfonylamino Acid Derivatives. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 640-649.
417. Jones-Hertzog, D. K.; Jorgensen, W. L. Binding Affinities for Sulfonamide Inhibitors with Human Thrombin Using Monte Carlo Simulations with a Linear Response Method. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 1539-1549.

418. Kim, S. W.; Hong, C. Y.; Lee, K.; Lee, E. J.; Koh, J. S. Solid phase synthesis of benzylamine-derived sulfonamide library. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 735-738.
419. Bradbury, R. H.; Bath, C.; Butlin, R. J.; Dennis, M.; Heys, C.; Hunt, S. J.; James, R.; Mortlock, A. A.; Sumner, N. F.; Tang, E. K.; Telford, B.; Whiting, E.; Wilson, C. New Non-Peptide Endothelin-A Receptor Antagonists: Synthesis, Biological Properties, and Structure-Activity Relationships of 5-(Dimethylamino)-N-pyridyl-, -N-pyrimidinyl-, -N-pyridazinyl-, and -N-pyrazinyl-1-naphthalenesulfonamides. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 996-1004.
420. Decicco, C. P.; Seng, J. L.; Kennedy, K. E.; Covington, M. B.; Welch, P. K.; Arner, E. C.; Magolda, R. L.; Nelson, D. J. Amide surrogates of matrix metalloproteinase inhibitors: urea and sulfonamide mimics. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2331-2336.
421. Caddick, S.; Wilden, J. D.; Bush, H. D.; Wadman, S. N.; Judd, D. B. A New Route to Sulfonamides via Intermolecular Radical Addition to Pentafluorophenyl Vinylsulfonate and Subsequent Aminolysis. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2549-2551.
422. Shi, F.; Tse, M. K.; Zhou, S.; Pohl, M. M.; Radnik, J.; Huebner, S.; Jaehnisch, K.; Brueckner, A.; Beller, M. Green and Efficient Synthesis of Sulfonamides Catalyzed by Nano-Ru/Fe₃O₄. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1775-1779.
423. De Luca, L.; Giacomelli, G. An Easy Microwave-Assisted Synthesis of Sulfonamides Directly from Sulfonic Acids. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3967-3969.
424. Stahl, G. L.; Walter, R.; Smith, C. W. General procedure for the synthesis of mono-N-acylated 1,6-diaminohexanes. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2285-2286.
425. Houghten, R. A.; Beckman, A.; Ostresh, J. M. Use of 10% sulfuric acid/dioxane for removal of N-tertiary-butyloxycarbonyl group during solid phase peptide synthesis. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1986**, *27*, 653-658.
426. Van Benthem, R. A. T. M.; Hiemstra, H.; Speckamp, W. N. Synthesis of N-Boc-protected 1-amino-3-alken-2-ols from allylic carbamates via palladium(II)-catalyzed oxidative cyclization. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6083-6085.
427. Sakai, N.; Ohfuné, Y. Total synthesis of galantamine. Acid-catalyzed cyclization of galantinic acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 998-1010.
428. Li, B.; Berliner, M.; Buzon, R.; Chiu, C. K. F.; Colgan, S. T.; Kaneko, T.; Keene, N.; Kissel, W.; Le, T.; Leeman, K. R.; Marquez, B.; Morris, R.; Newell, L.; Wunderwald, S.; Witt, M.; Weaver, J.; Zhang, Z.; Zhang, Z. Aqueous phosphoric acid as a mild reagent for deprotection of tert-butyl carbamates, esters, and ethers. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9045-9050.
429. Rawal, V. H.; Jones, R. J.; Cava, M. P. Photocyclization strategy for the synthesis of antitumor agent CC-1065: synthesis of dideoxy PDE-I and PDE-II. Synthesis of thiophene and furan analogs of dideoxy PDE-I and PDE-II. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 19-28.
430. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
431. Wasserman, H. H.; Berger, G. D.; Cho, K. R. Transamidation reactions using β -lactams. The synthesis of homaline. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 465-468.
432. Siro, J. G.; Martin, J.; Garcia-Navio, J. L.; Remuinan, M. J.; Vaquero, J. J. Easy microwave-assisted deprotection of N-Boc derivatives. *Synlett* **1998**, *2*, 147-148.
433. Bose, D. S.; Lakshminarayana, V. An efficient and highly selective cleavage of N-tertiary-butyloxycarbonyl group under microwave irradiation. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5631-5634.
434. Babu, V.; Patil, B.; Vasanthakumar, G. R. MW-enhanced high-speed deprotection of Boc group using p-TsOH and concomitant formation of N-Me-amino acid benzyl ester p-TsOH salts. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 1795-1802.

435. Nigam, S. C.; Mann, A.; Taddei, M.; Wermuth, C. G. Selective removal of the tert-butoxycarbonyl group from secondary amines: zinc bromide as the deprotecting reagent. *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 3139-3142.
436. Kahnt, G. Trans-cis equilibrium of hydroxycinnamic acids during irradiation of aqueous solutions at different pH. *Phytochemistry* **1967**, *6*, 755-758.
437. Hartley, R. D.; Jones, E. C. Effect of ultraviolet light on substituted cinnamic acids and the estimation of their cis and trans isomers by gas chromatography. *J. Chromatogr.* **1975**, *107* 213-218.
438. Fenton, T. W.; Mueller, M. M.; Clandinin, D. R. Isomerization of some cinnamic acid derivatives. *J. Chromatogr.* **1978**, *152*, 517-522.
439. Tosun, F.; Tanker, M.; Ozden, T.; Tosun, A. Alkaloids of *Genista involucreta* and *Genista albida*. *Planta Med.* **1987**, *53*, 499-500.
440. Tosun, A.; Tanker, M.; Ozden, T.; Tosun, F. Alkaloids of *Genista libanotica*. *Planta Med.* **1987**, *53*, 501.
441. Tosun, A.; Tanker, M.; Tosun, F.; Ozden, T. Alkaloids of *Genista lydia* var. *lydia* and var. *antiochia*. *Planta Med.* **1988**, *54*, 466.
442. Wink, M.; Witte, L. Quinolizidine alkaloids in *Genista acanthoclada* and its holoparasite, *Cuscuta palaestina*. *J. Chem. Ecol.* **1993**, *19*, 441-448.
443. Kinghorn, A. D.; Hussain, R. A.; Robbins, E. F.; Balandrin, M. F.; Stirton, C. H.; Evans, S. V. Alkaloids of Papilionoideae. Part 3. Alkaloid distribution in seeds of *Ormosia*, *Pericopsis* and *Haplormosia*. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 439-444.
444. Izaddoost, M. Alkaloid chemotaxonomy of the Genus *sophora*. *Phytochemistry* **1975**, *14*, 203-204.
445. Negrete, R.; Backhouse, N.; Cassels, B. K. Leaf alkaloids of *Sophora macrocarpa*. *J. Nat. Prod.* **1982**, *45*, 652.
446. Takamatsu, S.; Saito, K.; Ohmiya, S.; Ruangrunsi, N.; Murakoshi, I. Lupine alkaloids from *Sophora exigua*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3793-3795.
447. Khristov, V.; Duchevska, K.; Selenghe, D.; Zhavsan, S.; Zhamyansan, Y. 13-epi-Hydroxysparteine and desoxyangustifoline, new alkaloids from *Thermopsis mongolica*. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 1413-1415.
448. Saito, K.; Takamatsu, S.; Murakoshi, I.; Ohmiya, S.; Otomasu, H. Isolation of a new alkaloid (-)-O-acetylbaptifoline and the absolute stereochemical relationships of lupine alkaloids in *Thermopsis chinensis*. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 1032-1035.
449. Ohmiya, S.; Otomasu, H.; Haginiwa, J.; Murakoshi, I. Alkaloids of *Thermopsis lupinoides*. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2665-2667.
450. Bisset, N. G.; Wichtl, M.; Editors. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, Third Edition. 708. 2004.
451. <http://www.botanikus.de/Gift/goldregen.html>
452. <http://www.gartendatenbank.de/>
453. Moll, F.; Koggel, A.; Moll, M. Vergiftung mit Goldregen. *Deutsche Apoth. Ztg.* **2001**, *22*, 74-76,
454. Richards, H. G.; Stephens, A. A fatal case of laburnum seed poisoning. *Med. Sci. Law* **1970**, *10*, 260-266.
455. Husemann and Marmé. *Zeitschr. Chem.* **1865**, *1*, 161
456. Partheil, A. Über das Cytisin. *Chem. Ber.* **1891**, *23*, 3201-3203.
457. Partheil, A. Über das Cytisin. *Chem. Ber.* **1891**, *24*, 634-640.
458. Ing, H. R.; Cahn, R. S. Cytisine. I. *J. Chem. Soc.* **1931**, 2195-2203.
459. Ing, H. R. Cytisine. II. *J. Chem. Soc.* **1932**, 2778-2780.

460. Okuda, S.; Tsuda, K.; Kataoka, H. Absolute configurations of l-cytisine and of related alkaloids. *Chem. Ind.(London, U.K.)* **1961**, 1751.
461. Coe, J. W.; Brooks, P. R.; Vetelino, M. G.; Wirtz, M. C.; Arnold, E. P.; Huang, J.; Sands, S. B.; Davis, T. I.; Lebel, L. A.; Fox, C. B.; Shrikhande, A.; Heym, J. H.; Schaeffer, E.; Rollema, H.; Lu, Y.; Mansbach, R. S.; Chambers, L. K.; Rovetti, C. C.; Schulz, D. W.; Tingley, F. D., III; O'Neill, B. T. Varenicline: An $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Receptor Partial Agonist for Smoking Cessation. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3474-3477.
462. Coe, J. W.; Vetelino, M. G.; Bashore, C. G.; Wirtz, M. C.; Brooks, P. R.; Arnold, E. P.; Lebel, L. A.; Fox, C. B.; Sands, S. B.; Davis, T. I.; Schulz, D. W.; Rollema, H.; Tingley, F. D.; O'Neill, B. T. In pursuit of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptor partial agonists for smoking cessation: Carbon analogs of (-)-cytisine. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2974-2979.
463. Nicolotti, O.; Canu Boido, C.; Sparatore, F.; Carotti, A. Cytisine derivatives as high affinity nAChR ligands: synthesis and comparative molecular field analysis. *Farmaco* **2002**, *57*, 469-478.
464. Slater, Y. E.; Houlihan, L. M.; Maskell, P. D.; Exley, R.; Bermudez, I.; Lukas, R. J.; Valdivia, A. C.; Cassels, B. K. Halogenated cytisine derivatives as agonists at human neuronal nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Neuropharmacology* **2003**, *44*, 503-515.
465. Parker, M. J.; Beck, A.; Luetje, C. W. Neuronal nicotinic receptor $\beta 2$ and $\beta 4$ subunits confer large differences in agonist binding affinity. *Mol. Pharmacol.* **1998**, *54*, 1132-1139.
466. Carbonnelle, E.; Sparatore, F.; Canu-Boido, C.; Salvagno, C.; Baldani-Guerra, B.; Terstappen, G.; Zwart, R.; Vijverberg, H.; Clementi, F.; Gotti, C. Nitrogen substitution modifies the activity of cytisines on neuronal nicotinic receptor subtypes. *Eur. J. Pharmacol.* **2003**, *471*, 85-96.
467. Tilotta, M. C. Novel Nicotinic Acetylcholine Receptor Ligands based on Cytisine, Ferruginine, Anatoxin-a and Choline: In vitro evaluation and structure activity relationships, *Bonn, Univ., Diss.* (2004)
468. Pabreza, L. A.; Dhawan, S.; Kellar, K. J. [^3H]cytisine binding to nicotinic cholinergic receptors in brain. *Mol. Pharmacol.* **1991**, *39*, 9-12.
469. Fitch, R. W.; Kaneko, Y.; Klaperski, P.; Daly, J. W.; Seitz, G.; Gundisch, D. Halogenated and isosteric cytisine derivatives with increased affinity and functional activity at nicotinic acetylcholine receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1221-1224.
470. Khan, I. M.; Yaksh, T. L.; Taylor, P. Ligand specificity of nicotinic acetylcholine receptors in rat spinal cord: studies with nicotine and cytisine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *270*, 159-166.
471. Hall, M.; Zerbe, L.; Leonard, S.; Freedman, R. Characterization of [^3H]cytisine binding to human brain membrane preparations. *Brain Res.* **1993**, *600*, 127-133.
472. Luetje, C. W.; Patrick, J. Both alpha- and beta-subunits contribute to the agonist sensitivity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Neurosci.* **1991**, *11*, 837-845.
473. Peng, X.; Katz, M.; Gerzanich, V.; Anand, R.; Lindstrom, J. Human $\alpha 7$ acetylcholine receptor: cloning of the $\alpha 7$ subunit from the SH-SY5Y cell line and determination of pharmacological properties of native receptors and functional $\alpha 7$ homomers expressed in *Xenopus* oocytes. *Mol. Pharmacol.* **1994**, *45*, 546-554.
474. Barlow, R. B.; McLeod, L. J. Some studies on cytisine and its methylated derivatives. *Br. J. Pharmacol.* **1969**, *35*, 161-174.
475. Scharfenberg, G.; Benndorf, S.; Kempe, G. [Cytisine (Tabex) as a pharmaceutical aid in stopping smoking]. *Dtsch. Gesundheitsw.* **1971**, *26*, 463-465.

476. Rollema, H.; Coe, J. W.; Chambers, L. K.; Hurst, R. S.; Stahl, S. M.; Williams, K. E. Rationale, pharmacology and clinical efficacy of partial agonists of alpha4beta2 nACh receptors for smoking cessation. *Trends Pharmacol. Sci.* **2007**, *28*, 316-325.
477. Mihalak, K. B.; Carroll, F. I.; Luetje, C. W. Varenicline is a partial agonist at alpha4beta2 and a full agonist at alpha7 neuronal nicotinic receptors. *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70*, 801-805.
478. Boido, C. C.; Tasso, B.; Boido, V.; Sparatore, F. Cytisine derivatives as ligands for neuronal nicotine receptors and with various pharmacological activities. *Farmaco* **2003**, *58*, 265-277.
479. Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavec, M.; Roth, H. J. Medizinische Chemie. Targets und Arzneistoffe **2005**, 1. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
480. Picciotto, M. R.; Addy, N. A.; Mineur, Y. S.; Brunzell, D. H. It is not "either/or": activation and desensitization of nicotinic acetylcholine receptors both contribute to behaviors related to nicotine addiction and mood. *Prog. Neurobiol.* **2008**, *84*, 329-342.
481. Quick, M. W.; Lester, R. A. Desensitization of neuronal nicotinic receptors. *J. Neurobiol.* **2002**, *53*, 457-478.
482. Gentry, C. L.; Lukas, R. J. Regulation of nicotinic acetylcholine receptor numbers and function by chronic nicotine exposure. *Curr Drug Targets. CNS Neurol. Disord.* **2002**, *1*, 359-385.
483. Dursun, S. M.; Kutcher, S. Smoking, nicotine and psychiatric disorders: evidence for therapeutic role, controversies and implications for future research. *Med. Hypotheses* **1999**, *52*, 101-109.
484. Salin-Pascual, R. J.; Cocer-Castillejos, N. V.; Ejo-Galarza, G. Nicotine dependence and psychiatric disorders. *Rev. Invest. Clin.* **2003**, *55*, 677-693.
485. Caldarone, B. J.; Harist, A.; Cleary, M. A.; Beech, R. D.; King, S. L.; Picciotto, M. R. High-affinity nicotinic acetylcholine receptors are required for antidepressant effects of amitriptyline on behavior and hippocampal cell proliferation. *Biol. Psychiatry* **2004**, *56*, 657-664.
486. Rabenstein, R. L.; Caldarone, B. J.; Picciotto, M. R. The nicotinic antagonist mecamylamine has antidepressant-like effects in wild-type but not beta2- or alpha7-nicotinic acetylcholine receptor subunit knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)* **2006**, *189*, 395-401.
487. Bojadschiewa, M.; Issaev, I.; Totev, I.; Dimov, C. New method for extraction of cytosin from seeds of *Cytisus laburnum*. *Pharmazie* **1971**, *26*, 643.
488. Goina, T.; Radu, A.; Petcu, P.; Tamas, M. Extraction of cytosine. *Planta Med.* **1971**, *20*, 114-117.
489. Marriere, E.; Rouden, J.; Tadino, V.; Lasne, M. C. Synthesis of Analogues of (-)-Cytisine for in Vivo Studies of Nicotinic Receptors Using Positron Emission Tomography. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1121-1124.
490. McKay, F. C.; Albertson, N. F. New amine-masking groups for peptide synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4686-4690.
491. Varala, R.; Nuvula, S.; Adapa, S. R. Molecular iodine-catalyzed facile procedure for N-Boc protection of amines. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8283-8286.
492. <http://www.gallawa.com/microtech/history.html>
493. Taylor, M.; Atri, B. S.; Minhas Sonas; Bisht, P. Developments in Microwave Chemistry. **2005**, 1-50.
494. Gedye, R.; Smith, F.; Westaway, K.; Ali, H.; Baldisera, L.; Laberge, L.; Rousell, J. The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 279-282.

495. Giguere, R. J.; Bray, T. L.; Duncan, S. M.; Majetich, G. Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4945-4948.
496. Perreux, L.; Loupy, A. A tentative rationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium, and mechanistic considerations. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9199-9223.
497. Kappe, C. O. Controlled microwave heating in modern organic synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2004**, *43*, 6250-6284.
498. Hayes, B. L. Microwave Synthesis - Chemistry at the Speed of Light. **2002**, 1-295. CEM Publishing.
499. Gabriel, C.; Gabriel, S.; Grant, E. H.; Grant, E. H.; Halstead, B. S. J.; Mingos, D. M. Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 213-224.
500. Kuhnert, N. Microwave-assisted reactions in organic synthesis - are there any non-thermal microwave effects? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1863-1866.
501. Baghurst, D. R.; Mingos, D. M. Superheating effects associated with microwave dielectric heating. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, *9*, 674-677.
502. Bogdal, D.; Lukasiewicz, M.; Pielichowski, J.; Miciak, A.; Bednarz, S. Microwave-assisted oxidation of alcohols using Magtrieve. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 649-653.
503. Lukasiewicz, M.; Bogdal, D.; Pielichowski, J. Microwave-assisted oxidation of side chain arenes by Magtrieve. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 1269-1272.
504. Mavandadi, F.; Lidstroem, P. Microwave - assisted chemistry in drug discovery. *Curr. Top. Med. Chem. (Sharjah, United Arab Emirates)* **2004**, *4*, 773-792.
505. Kappe, C. O.; Dallinger, D. The impact of microwave synthesis on drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, *5*, 51-63.
506. Lidstrom, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. Microwave assisted organic synthesis: a review. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225-9283.
507. Larhed, M.; Hallberg, A. Microwave-Promoted Palladium-Catalyzed Coupling Reactions. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9582-9584.
508. Larhed, M.; Lindeberg, G.; Hallberg, A. Rapid microwave-assisted Suzuki coupling on solid-phase. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8219-8222.
509. Blettner, C. G.; Koenig, W. A.; Stenzel, W.; Schotten, T. Microwave-Assisted Aqueous Suzuki Cross-Coupling Reactions. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3885-3890.
510. Gong, Y.; He, W. Direct Synthesis of Unprotected 4-Aryl Phenylalanines via the Suzuki Reaction under Microwave Irradiation. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3803-3805.
511. Leadbeater, N. E.; Marco, M. Ligand-Free Palladium Catalysis of the Suzuki Reaction in Water Using Microwave Heating. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2973-2976.
512. Leadbeater, N. E.; Marco, M. Transition-metal-free Suzuki-type coupling reactions: scope and limitations of the methodology. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5660-5667.
513. Bedford, R. B.; Butts, C. P.; Hurst, T. E.; Lidstroem, P. The Suzuki coupling of aryl chlorides under microwave heating. *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 1627-1630.
514. Appukkuttan, P.; Orts, A. B.; Chandran, R. P.; Goeman, J.; Van der Eycken, J.; Dehaen, W.; Van der Eycken, E. Generation of a small library of highly electron-rich 2-(hetero)aryl-substituted phenethylamines by the Suzuki-Miyaura reaction: A short synthesis of an apogalanthamine analogue. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *15*, 3277-3285.
515. Zhang, W.; Chen, C. H.-T.; Lu, Y.; Nagashima, T. A highly efficient microwave-assisted Suzuki coupling reaction of aryl perfluorooctylsulfonates with boronic acids. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1473-1476.
516. Savall, B. M.; Fontimayor, J. R. Synthesis of 2-arylbenzimidazoles via microwave Suzuki-Miyaura reaction of unprotected 2-chlorobenzimidazoles. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6667-6669.

517. Srinivasan, N.; Yurek-George, A.; Ganesan, A. Rapid deprotection of N-Boc amines by TFA combined with freebase generation using basic ion-exchange resins. *Mol. Divers.* **2005**, *9*, 291-293.
518. Ghassemi, S.; Fuchs, K. Alternative method of Boc-removal from sulfamide using silica-phenyl sulfonic acid in conjunction with microwave heating. *Mol. Diversity* **2005**, *9*, 295-299.
519. Choy, J.; Jaime-Figueroa, S.; Jiang, L.; Wagner, P. Novel practical deprotection of N-Boc compounds using fluorinated alcohols. *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 3840-3853.
520. Thaqi, A.; McCluskey, A.; Scott, J. L. A mild Boc deprotection and the importance of a free carboxylate. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6962-6964.
521. Dandepally, S. R.; Williams, A. L. Microwave-assisted N-Boc deprotection under mild basic conditions using K₃PO₄·H₂O in MeOH. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1071-1074.
522. Miyaura, N.; Suzuki, A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* **1995**, *95*, 2457-2483.
523. Miyaura, N.; Suzuki, A. Stereoselective synthesis of arylated (*E*)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, *19*, 866-867.
524. Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. A new stereospecific cross-coupling by the palladium-catalyzed reaction of 1-alkenylboranes with 1-alkenyl or 1-alkynyl halides. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *36*, 3437-3440.
525. de Meijere, A.; Diederich, F.; Editors. Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions, Second Completely Revised and Enlarged Edition; Volume 2. **2004**, 437.
526. Farina, V.; Krishnamurthy, V.; Scott, W. J. The Stille Reaction. **1998**, 657.
527. Hatanaka, Y.; Hiyama, T. Cross-coupling of organosilanes with organic halides mediated by a palladium catalyst and tris(diethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 918-920.
528. Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. Convenient synthesis of acetylenes. Catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromo alkenes, iodo arenes, and bromopyridines. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4467-4470.
529. Sonogashira, K. Development of Pd-Cu catalyzed cross-coupling of terminal acetylenes with sp²-carbon halides. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653*, 46-49.
530. Suzuki, A. Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles, 1995-1998. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147-168.
531. Hall, D. G.; (Ed.). Boronic Acids: Preparation and Applications in Organic Synthesis and Medicine. **2005**.
532. Coulson, D. R. Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(O). *Inorg. Syn.* **1971**, *13*, 121-124.
533. Amatore, C.; Jutand, A.; Suarez, A. Intimate mechanism of oxidative addition to zero-valent palladium complexes in the presence of halide ions and its relevance to the mechanism of palladium-catalyzed nucleophilic substitutions. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9531-9541.
534. Watanabe, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. Synthesis of sterically hindered biaryls via the palladium-catalyzed cross-coupling reaction of arylboronic acids or their esters with haloarenes. *Synlett* **1992**, *3*, 207-210.
535. Yale University and Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn: WO2007100430 (2007)
536. Armarego, W. L. F.; Chai, C. Purification of Laboratory Chemicals **2003**, 5th Edition, Elsevier Verlag, Amsterdam
537. Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

538. Liu, J.; Yang, Z.; Wang, Z.; Wang, F.; Chen, X.; Liu, X.; Feng, X.; Su, Z.; Hu, C. Asymmetric Direct Aldol Reaction of Functionalized Ketones Catalyzed by Amine Organocatalysts Based on Bispidine. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5654-5655.
539. Yang, Z.; Liu, J.; Liu, X.; Wang, Z.; Feng, X.; Su, Z.; Hu, C. Highly efficient amine organocatalysts based on bispidine for the asymmetric Michael addition of ketones to nitroolefins. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2001-2006.
540. Novo Nordisk A/S: WO2003051842 (2002)
541. Danieli, B.; Lesma, G.; Passarella, D.; Sacchetti, A.; Silvani, A.; Viridis, A. Total enantioselective synthesis of (-)-cytisine. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 493-496.
542. Roger, G.; Lagnel, B.; Rouden, J.; Besret, L.; Valette, H.; Demphel, S.; Gopisetti, J.; Coulon, C.; Ottaviani, M.; Wrenn, L. A.; Letchworth, S. R.; Bohme, G. A.; Benavides, J.; Lasne, M. C.; Bottlaender, M.; Dolle, F. Synthesis of a [2-Pyridinyl-¹⁸F]-labelled fluoro derivative of (-)-Cytisine as a candidate radioligand for brain nicotinic $\alpha 4\beta 2$ receptor imaging with PET. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5333-5343.
543. Cheng, Y.; Prusoff, W. H. Relationship between the inhibition constant (K₁) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099-3108.

Veröffentlichungen

Wissenschaftliche Originalarbeiten:

Mineur Y, Eibl C, Young G, Kochelar C, Papke R, Gündisch D, Picciotto M. *Cytisine-based nicotinic partial agonists as novel antidepressant compounds*. J Pharmacol Exp Ther. **2009**. 329(1). 377-386

Abstrakta/Kongressmitteilungen/Posterpräsentationen:

Yann S Mineur, Christoph Eibl, Christopher Kochevar, Grace J Young, Emily B Einstein, Daniela Gündisch, Marina R Picciotto. *Antidepressant-like properties of varenicline and other nicotinic partial agonists*. Society for Neuroscience, Annual Meeting, Nov. 15th-19th, **2008**, Washington, DC, U.S.A.

Christoph Eibl, Julia Thomas, Daniela Gündisch. *Novel ligands for nAChRs derived from cytisine*. Nicotinic Acetylcholine Receptors 2008, April 23rd-26rd, **2008**, Wellcome Trust, Hinxton, Cambridge, UK.

Christoph Eibl, Daniela Gündisch. *Synthesis and in vitro evaluation of bispidine derivatives for nicotinic acetylcholine receptors*. Biochemical Pharmacology, 74 (8). **2007**. SMA 7

Christoph Eibl, Daniela Gündisch. *Synthesis and in vitro evaluation of bispidine derivatives for nicotinic acetylcholine receptors*. Society for Neuroscience, Annual Meeting, Nov. 3rd-7th, **2007**, San Diego, CA, U.S.A.

Christoph Eibl, Daniela Gündisch. *Synthesis and in vitro evaluation of bispidine derivatives for nicotinic acetylcholine receptors*. "Nicotinic Acetylcholine Receptors as Therapeutic Targets – Emerging Frontiers in Basic Research and Clinical Science", SfN Satellite Symposium, Oct. 31st-Nov. 2nd, **2007**, San Diego, CA, U.S.A.

Christoph Eibl, Lenka Munoz, Yann S Mineur, Marina R Picciotto, Daniela Gündisch. *Nicotinic acetylcholine receptor ligands based on cytisine as potential therapeutics against depression*. International Symposium, Graduate College 677, Sept. 25th-27th, **2006**, Bonn, Germany.

Christoph Eibl, Daniela Gündisch. *Cytisine derivatives as potent ligands for nACh receptors*. National Symposium, Graduate College 677, March 30th, **2006**, Bonn, Germany.