

**Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Fakultät
für Chemie und Pharmazie der Ludwig-Maximilians-
Universität München**



**Amin-substituierte Spiroacetale von Grundmanns Keton
als neuartige Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Sterolisomerase**

Melanie Krojer geb. Hass

aus Dortmund

2011

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 (in der Fassung der sechsten Änderungssatzung vom 16. August 2010) von Herrn Prof. Dr. Franz Bracher betreut.

Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbständig und ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den 14.06.2011

Melanie Krojer geb. Hass

Dissertation eingereicht am 27.06.2011

1. Gutachter Prof. Dr. Franz Bracher

2. Gutachter Prof. Dr. Klaus T. Wanner

Mündliche Prüfung am 18.07.2011

Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle Herrn Prof. Dr. F. Bracher für die stets großzügige Unterstützung und wohlwollende Förderung dieser Arbeit. Ebenfalls möchte ich mich bei den Mitgliedern der Prüfungskommission, insbesondere Herrn Prof. Dr. Wanner für die Übernahme des Koreferats, bedanken.

Desweiteren bedanke ich mich bei:

- Herrn Dr. Lars Allmendinger und seinem Team für die Anfertigung der NMR-, IR- und Massenspektren und ihre Diskussions- und Hilfsbereitschaft
- Frau Martina Stadler für die Durchführung der Agar-Diffusions- und MTT-Tests
- Tanja Höft für ihre wertvolle Unterstützung im Labor sowie im Praktikum
- Christoph Müller für die Durchführung und Auswertung des Cholesterol- und Ergosterolbiosynthese-Assays
- Meinen Kollegen im Arbeitskreis für die gute Zusammenarbeit

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei:

- Meinen Laborkolleginnen Sandra Hemmers und Ursula Kopp, die mir über die Jahre wertvolle Freundinnen geworden sind und ohne die ich vielleicht nicht durchgehalten hätte
- Meinen Eltern Ursula und Peter Hass für ihre konstante Unterstützung
- Meinem Ehemann Florian Sylvester Krojer, für all das Verständnis und die Liebe, die er mir jeden Tag entgegen bringt

I came to this world with nothing
And I leave with nothing but love
Everything else is just borrowed.

(Mike Skinner, The Streets)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	- 1 -
1.1	Die Triterpenbiosynthese.....	- 2 -
1.1.1	Der Prä-Squalen-Abschnitt	- 2 -
1.1.2	Der Post-Squalen-Abschnitt.....	- 6 -
1.1.3	Die Cholesterolbiosynthese ab Lanosterol.....	- 12 -
1.1.4	Die Ergosterolbiosynthese	- 24 -
2	Themenstellung und Syntheseplanung	- 31 -
2.1	Themenstellung.....	- 31 -
2.2	Syntheseplanung.....	- 33 -
3	Synthesen	- 34 -
3.1	Grundmanns Keton – Die Vorstufe.....	- 34 -
3.2	Versuche der Synthese der Piperazine	- 36 -
3.3	Pyridine und Piperidine.....	- 38 -
3.3.1	Syntheseplanung Pyridine	- 38 -
3.3.2	Pyridin-Synthesen.....	- 40 -
3.3.3	Versuche zur Synthese der Piperidine.....	- 48 -
3.4	Acetale, N,O-Acetale und Aminale	- 50 -
3.4.1	Acetale.....	- 50 -
3.4.2	Versuche zur Synthese von N,O-Acetalen und Aminalen.....	- 67 -
3.5	Tetraline und Indole.....	- 68 -
3.5.1	Tetraline.....	- 69 -
3.5.2	Indole	- 71 -
4	Biologische Testung	- 74 -
4.1	Agar-Diffusionstest	- 74 -
4.1.1	Testergebnisse	- 75 -
4.2	Test auf Inhibition der Ergosterolbiosynthese.....	- 77 -

4.3	MTT-Test.....	- 77 -
4.3.1	Testergebnisse	- 78 -
4.4	Test auf Inhibition der Cholesterolsynthese.....	- 83 -
4.4.1	Aktivitätsbestimmung der Testsubstanzen.....	- 83 -
4.5	Struktur-Aktivitäts-Beziehungen	- 84 -
5	Zusammenfassung	- 89 -
6	Experimenteller Teil.....	- 101 -
6.1	Geräte und Parameter.....	- 101 -
6.1.1	Schmelzpunkte	- 101 -
6.1.2	IR-Spektroskopie	- 101 -
6.1.3	Massenspektrometrie.....	- 101 -
6.1.4	GC-MS	- 101 -
6.1.5	NMR-Spektroskopie.....	- 101 -
6.1.6	Chromatographische Verfahren	- 102 -
6.1.7	Mikrowellensynthesen.....	- 102 -
6.1.8	Elementaranalyse	- 102 -
6.1.9	Polarimetrie.....	- 102 -
6.1.10	Ozonolyse	- 102 -
6.1.11	Software.....	- 103 -
6.1.12	Trocknung der Lösungsmittel.....	- 103 -
6.1.13	Sterilbank.....	- 103 -
6.1.14	UV – Spektrophotometer	- 103 -
6.1.15	Zentrifuge.....	- 103 -
6.2	Nomenklatur der Spiroverbindungen.....	- 104 -
6.3	Synthesvorschriften	- 105 -
6.3.1	(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-5-Brom-7 <i>a</i> -methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)- octahydroinden-4-on (3)	- 105 -

6.3.2	(6 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-6 <i>a</i> -Methyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6 <i>a</i> ,9 <i>a</i> -tetrahydro-5H-cyclopenta[<i>h</i>]chinolin (9).....	106 -
6.3.3	(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-7 <i>a</i> -Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-on (Grundmanns Keton (11)).....	108 -
6.3.4	(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-7 <i>a</i> -Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-2,3,3 <i>a</i> ,6,7,7 <i>a</i> -hexahydro-1H-inden-4-yloxy-trimethylsilan (13).....	109 -
6.3.5	(6 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-2,6 <i>a</i> -Dimethyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6 <i>a</i> ,9 <i>a</i> -tetrahydro-5H-cyclopenta[<i>h</i>]chinolin (15).....	110 -
6.3.6	2-Methyl-3-aminoacrolein (19).....	111 -
6.3.7	(6 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-3,6 <i>a</i> -Dimethyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6 <i>a</i> ,9 <i>a</i> -tetrahydro-5H-cyclopenta[<i>h</i>]chinolin (22).....	112 -
6.3.8	N'-[(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-7 <i>a</i> -Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-yliden]-N,N-dimethylhydrazin (23).....	114 -
6.3.9	N'-[(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-7 <i>a</i> -Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-5-[2-(1,3-dioxolan-2-yl)ethyl]octahydroinden-4-yliden]-N,N-dimethylhydrazin (24).....	115 -
6.3.10	Crotylhydroxylamin-Hydrochlorid (26).....	116 -
6.3.11	N-Crotyloxyphthalimid (27).....	117 -
6.3.12	(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-7 <i>a</i> -Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-on-O-allyl-oxim (28).....	118 -
6.3.13	(1 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-7 <i>a</i> -Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-on-O-crotyl-oxim (29).....	120 -
6.3.14	(6 <i>aR</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>aR</i> ,1' <i>R</i>)-N-Methyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6 <i>a</i> ,9 <i>a</i> -tetrahydro-5H-cyclopenta[<i>h</i>]chinoliniumiodid (30).....	121 -
6.3.15	(1' <i>R</i> ,3 <i>a</i> ' <i>R</i> ,7 <i>a</i> ' <i>R</i> ,1'' <i>R</i>)-7 <i>a</i> '-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxolan-2,4'-octahydroinden] (32).....	122 -
6.3.16	(1' <i>R</i> ,3 <i>a</i> ' <i>R</i> ,7 <i>a</i> ' <i>R</i> ,1'' <i>R</i>)-4-Hydroxymethyl-7 <i>a</i> '-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxolan-2,4'-octahydroinden] (40).....	124 -
6.3.17	(1' <i>R</i> ,3 <i>a</i> ' <i>R</i> ,7 <i>a</i> ' <i>R</i> ,1'' <i>R</i>)-7 <i>a</i> '-Methyl-5-methylen-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (44).....	126 -

6.3.18 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden]-5-on (45)	127 -
6.3.19 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-Amino-5-hydroxymethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (51a)	129 -
6.3.20 Benzyl-2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethylcarbamate (52)	130 -
6.3.21 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-Hydroxymethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (54)	131 -
6.3.22 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-(N-methylamino)methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (55)	134 -
6.3.23 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-(N,N-dimethylaminomethyl)-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (56)	135 -
6.3.24 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-[N-(N,N-dimethylaminoeth-2-yl)aminomethyl]-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (57)	137 -
6.3.25 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-[N-(N,N-dimethylaminoeth-2-yl)-N-methylaminomethyl]-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (58)	138 -
6.3.26 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-(4-methylpiperazin-1-yl)-methyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (59)	140 -
6.3.27 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-(2,6-dimethylmorpholin-4-yl)-methyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (60)	141 -
6.3.28 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[[2-(piperidin-1-yl)ethyl]aminomethyl]spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (61)	143 -
6.3.29 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]aminomethyl]spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (62)	145 -
6.3.30 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-(3-pyridinyl)methylaminomethyl-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (63)	147 -

6.3.31 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-(N-Benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (64)	- 149 -
6.3.32 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-(N-Benzylpiperidin-4-yl)-N-methylaminomethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (65)	- 151 -
6.3.33 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-[N-(4-Chlorbenzyl)-N-methylaminomethyl]-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (66) ...	- 153 -
6.3.34 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[4-(3-trifluormethylphenyl)piperazin-1-ylmethyl]-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (67)	- 155 -
6.3.35 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[N-methyl-N-((E)-phenylprop-1-en-3-yl)aminomethyl]spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (68)	- 157 -
6.3.36 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-Benzoyloxymethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (69)	- 159 -
6.3.37 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-(pyridin-3-yl-carbonyloxymethyl)spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (70)	- 161 -
6.3.38 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-(morpholin-4-yl-carbonyloxymethyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (72)	- 163 -
6.3.39 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-hydroxymethyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (76)	- 164 -
6.3.40 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-(N-benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (77)	- 166 -
6.3.41 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-hydroxymethyl-6'-methoxy-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (79)	- 167 -
6.3.42 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-(N-benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-6'-methoxy-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (80)	- 169 -
6.3.43 6-Hydroxy- α -tetralon (81)	- 170 -
6.3.44 6-(4-Methylpentyloxy)- α -tetralon (82)	- 172 -

6.3.45	1',2',3',4'-Tetrahydro-5-hydroxymethyl-5-nitro-6'-(4-methylpentyloxy)-spiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (83)	- 173 -
6.3.46	1',2',3',4'-Tetrahydro-5-(N-benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-5-nitro-6'-(4-methylpentyloxy)-spiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (84)	- 174 -
6.3.47	4-Oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzofuran-3-carbonsäure (86)	- 176 -
6.3.48	1-(1,5-Dimethylhexyl)-1,5,6,7-tetrahydroindol-4-on (87)	- 177 -
6.3.49	6,7-Dihydro-5H-benzofuran-4-on (89)	- 178 -
6.4	Testmethoden der biologischen Prüfung.....	- 179 -
6.4.1	Agar-Diffusionstest.....	- 179 -
6.4.2	MTT-Test.....	- 180 -
6.4.3	Ergosterolbiosynthese-Assay auf Enzyminhibitoren der Ergosterolbiosynthese.....	- 180 -
6.4.4	Cholesterolbiosynthese-Assay auf Enzyminhibitoren der Cholesterolbiosynthese.....	- 183 -
6.4.5	Aktivitätsbestimmung der synthetisierten Inhibitoren auf die Gesamtcholesterolbiosynthese.....	- 184 -
7	Abkürzungsverzeichnis.....	- 186 -
8	Literaturverzeichnis.....	- 189 -

1 Einleitung

Steroide sind Derivate des 1,2-Cyclopentanoperhydrophenanthrens (Steran), einer Verbindung aus vier kondensierten, nicht polaren Ringen, und gehören zu den Lipiden. Eine Untergruppe bilden die Sterole, die an C-3 eine Hydroxygruppe tragen. Steroide übernehmen vielfältige Funktionen in Eukaryoten, aber nicht in Insekten. Prokaryoten bilden als funktionelles und strukturelles Äquivalent pentacyclische Triterpene, z.B. Hopan. Dieser Unterschied wird auf die Einbindung von Sauerstoff in die Biosynthese im Verlauf der Evolution zurückgeführt. In neueren Untersuchungen konnten einige Gene in Bakterien identifiziert werden, die mit der Sterolbiosynthese verknüpft sind, z.B. konnte in dem Bakterium *Methylococcus capsulatus* das Enzym Oxidosqualencyclase (OSC) nachgewiesen werden¹. In den unterschiedlichen Lebensformen kommen verschiedene Hauptsterole vor; bei den Wirbeltieren Cholesterol, bei Pilzen und Protozoen Ergosterol und bei höheren Pflanzen Sitosterol. Cholesterol ist für Wirbeltiere essenziell. Es ist die Ausgangsverbindung der Biosynthese von Steroidhormonen und Gallensäuren und ein Hauptstrukturelement der Plasmamembran, das deren Fluidität reguliert und so den Membrantransfer stark vereinfacht. Cholesterol ist beim Menschen aber auch der pathogene Faktor bei Hypercholesterinämie, die zu Arteriosklerose führen kann, und eine der Hauptursachen für Herz- und Gefäßerkrankungen ist. Das Cholesterol spielt auch in der embryonalen Entwicklung und der Morphogenese eine entscheidende Rolle. So werden verschiedene Krankheiten wie das Smith-Lemli-Opitz-Syndrom und das Conradi-Hünemann-Syndrom durch Gendefekte, die Fehler in der Cholesterolbiosynthese induzieren, ausgelöst². Ergosterol kommt in Pilzen fast ausschließlich in der Zellmembran vor, es übernimmt dort die gleiche Funktion wie das Cholesterol bei Wirbeltieren. Des Weiteren wird Ergosterol im Pilz in geringen Konzentrationen als Wachstumspromotor benötigt³. Das Sitosterol ist integraler Bestandteil der Lipiddoppelschicht höherer Pflanzen und eine Vorstufe der Brassinosteroide, ubiquitärer Phytohormone, die für Wachstum und Entwicklung der Pflanzen erforderlich sind⁴. Alle Sterole werden *de novo* ausgehend von Acetyl-CoenzymA (Acetyl-CoA) aus Terpeneinheiten in einem vielstufigen, enzymatischen Prozess aufgebaut⁵. Die Sterolbiosynthese gliedert sich in zwei Abschnitte, den Prä- und den Post-Squalen-Abschnitt. Der Prä-Squalen-Abschnitt (siehe Abschnitt [1.1.1](#)) verläuft sowohl bei Eukaryoten als auch bei den meisten Prokaryoten gleich. Bei den

Prokaryoten katalysiert die Squalen-Hopen-Cyclase die Reaktion von Squalen zum Hopen. Die Oxidosqualencyclase ist das eukaryotische Äquivalent der Squalen-Hopen-Cyclase und bildet aus Squalenepoxid in einer Reaktionskaskade das letzte gemeinsame Sterol aller Eukaryoten, das Lanosterol (siehe Abschnitt [1.1.2](#)). In den drei Biosynthesen unterscheiden sich die jeweiligen Enzyme für bestimmte Reaktionsschritte nicht in ihrer Funktion und den Substraten, aber signifikant in ihrer Struktur⁶.

Die Sterolbiosynthese ist ein wichtiger Ansatzpunkt für die Kontrolle und Manipulation von biochemischen Vorgängen in Wirbeltieren und Pilzen, also für die Entwicklung therapeutischer Wirkstoffe, z.B. Cholesterolbiosynthese-Inhibitoren zur Lipidsenkung im Blut oder zur Therapie der Alzheimer Erkrankung und der Creutzfeld-Jakob Krankheit⁷. Die strukturelle Diversität der an der Sterolbiosynthese beteiligten Enzyme ermöglicht es auch, die Ergosterolbiosynthese zu inhibieren, ohne in die Cholesterolbiosynthese des Patienten einzugreifen, was eine Behandlung von Mykosen ermöglicht. Auch antibiotische Wirksamkeit von Sterolbiosynthese-Inhibitoren *in vivo*^{8,9} und antimikrobielle Aktivität *in vitro*¹⁰ wurden nachgewiesen.

1.1 Die Triterpenbiosynthese

1.1.1 Der Prä-Squalen-Abschnitt

Dieser Abschnitt der Biosynthese verläuft sowohl bei Eukaryoten als auch bei den meisten Prokaryoten gleich. Ausgehend von Acetyl-CoA wird durch enzymatische Katalyse das einfachste, aliphatische Triterpen Squalen gebildet. Der Aufbau des C₃₀-Körpers erfolgt schrittweise. Der erste biosynthetische Schritt des Mevalonatbiosynthesewegs ist Bildung von Acetoacetyl-CoA aus zwei Acetyl-CoA-Einheiten. Die Kondensation mit einer weiteren Acetyl-CoA-Einheit ergibt 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA), welches zu Mevalonat reduziert wird. Aus Mevalonat entsteht in drei Schritten Isopentenylpyrophosphat (IPP), das mit Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) in einem Gleichgewicht vorliegt². Die beiden Isomere IPP und DMAPP reagieren zu Geranylpyrophosphat (GPP), das mit einem weiteren Molekül IPP zu dem Sesquiterpen Farnesylpyrophosphat (FPP) umgesetzt wird. Durch eine 1,1'-Verknüpfung werden zwei Moleküle FPP zu Squalen kondensiert. IPP und DMAPP werden über den Mevalonatbiosyntheseweg produziert (siehe Abb. 1-1). Eine Ausnahme bilden höhere Pflanzen, bestimmte Eubakterien

und einige Protozoen. Sie bilden IPP und DMAPP über den Methylerythritolphosphatweg¹¹.

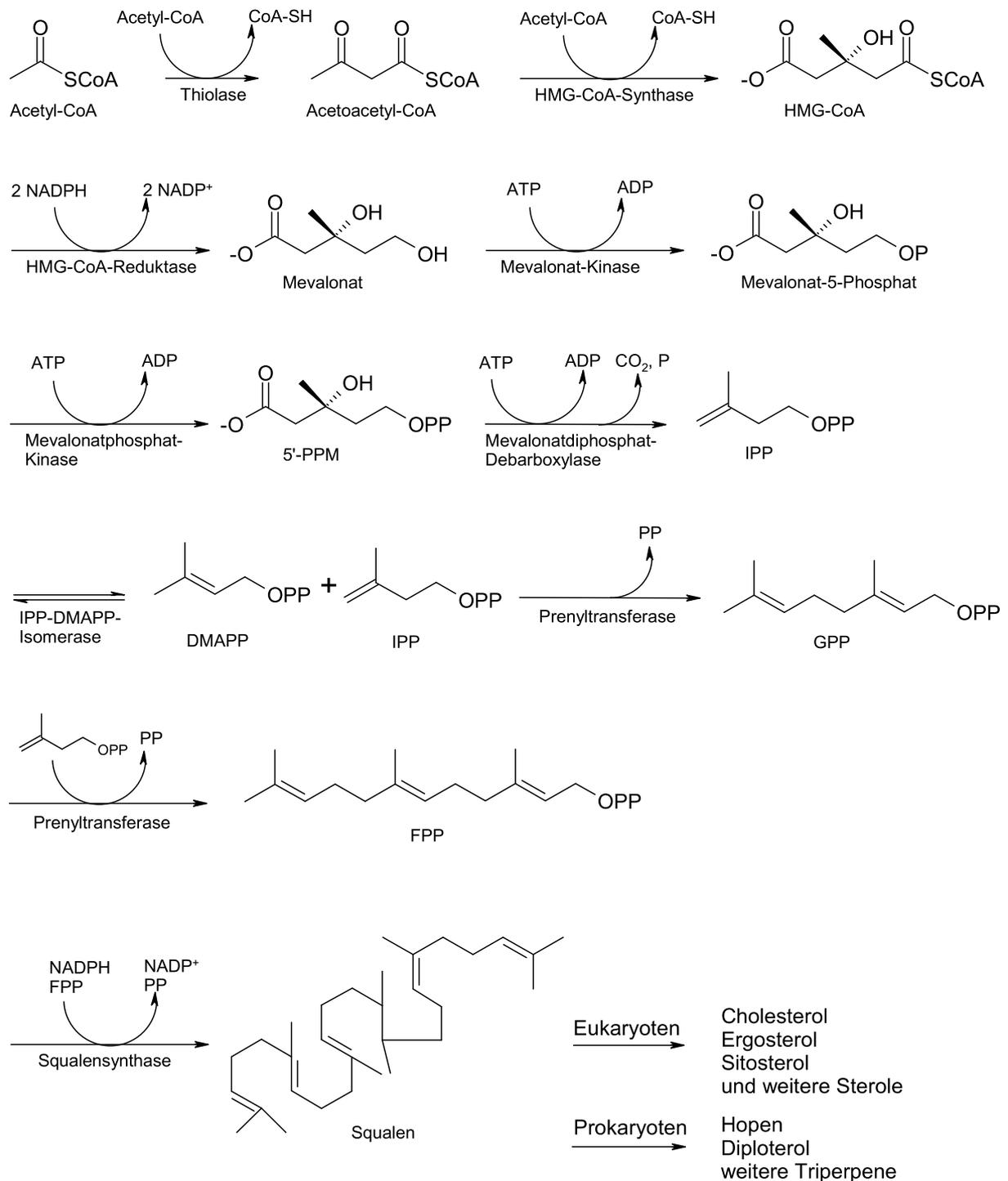


Abbildung 1-1: Prä-Squalen-Abschnitt: Mevalonatbiosyntheseweg der Sterol- und Triterpenbiosynthese mit P = Phosphat, PP = Pyrophosphat

Für jedes Enzym des Prä-Squalen-Abschnitts sind Inhibitoren bekannt¹². Therapeutisch werden ausschließlich HMG-CoA-Reduktase-Hemmer zur Senkung

des Cholesterin-Blutspiegels eingesetzt. Kommerziell erhältliche Lipidsenker sind z.B. Simvastatin, Fluvastatin und Atorvastatin¹³

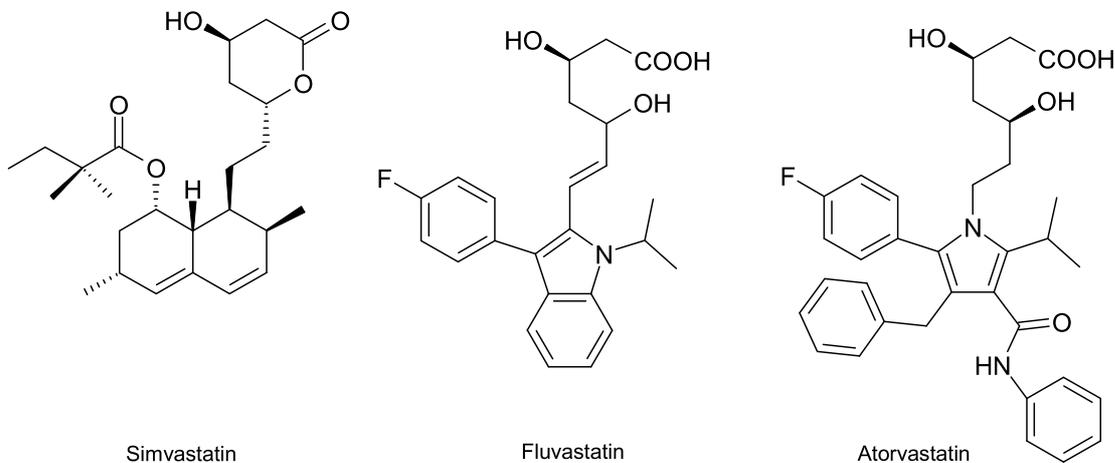


Abbildung 1-2: Kommerziell erhältliche HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (Auswahl)

In Standarddosierungen werden die Statine vom menschlichen Körper ohne nennenswerte Nebenwirkungen toleriert, hohe Dosen verursachen einen Mangel an Isoprenoiden wie Coenzym Q₁₀, die über einen sekundären Signalweg gebildet werden. Coenzym Q₁₀ ist an der oxidativen Phosphorylierung beteiligt, weshalb Organe mit hohem Energiebedarf wie Herz und Leber eine hohe Q₁₀-Konzentration aufweisen. Ein Mangel an Coenzym Q₁₀ kann zu Lebererkrankungen führen¹⁴. Im Tierversuch wurde nachgewiesen, dass Simvastatin einen Schaden an der Linse hervorruft und die Bildung von Katarakten induziert¹⁵. Der Katarakt, auch bekannt als grauer Star, ist eine irreversible Trübung der Linse, die zum Erblinden führen kann. Desweiteren wurde beim Menschen eine Wechselwirkung zwischen dem Antibiotikum Erythromycin und Simvastatin nachgewiesen; bei Einnahme dieser beiden Wirkstoffe verdreifacht sich das Risiko einer Kataraktbildung¹⁶.

Es konnte nachgewiesen werden, dass Inhibitoren der humanen Squalen-Synthase (BPH-652, BPH-698 und BPH-700) die Staphyloxanthin-Biosynthese des Bakteriums *Staphylococcus aureus* hemmen⁹.

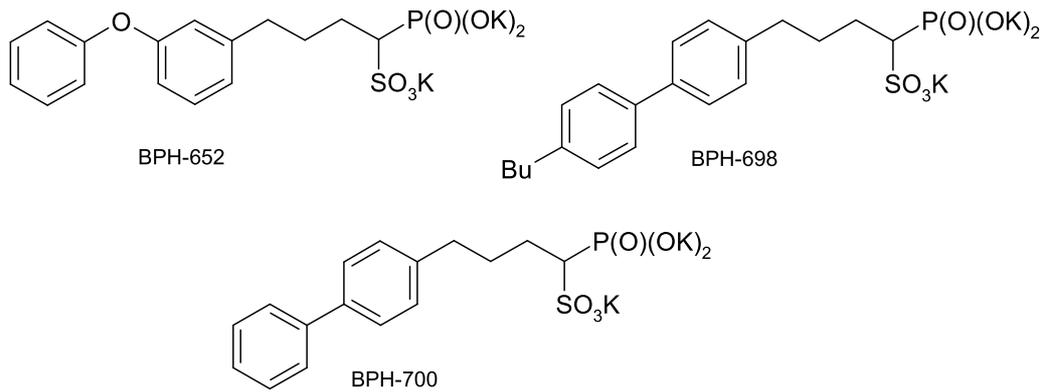


Abbildung 1-3: Inhibitoren der humanen Squalen-Synthase, die die Staphyloxanthin-Biosynthese von *S. aureus* hemmen

Von diesen Verbindungen wird die *S. aureus* Dehydrosqualen-Synthase (CrtM) gehemmt, das prokaryotische Äquivalent der Squalen-Synthase. Dieses Enzym ist nicht NADPH-abhängig, weshalb die Reduktion entfällt und *S. aureus* Dehydrosqualen bildet.

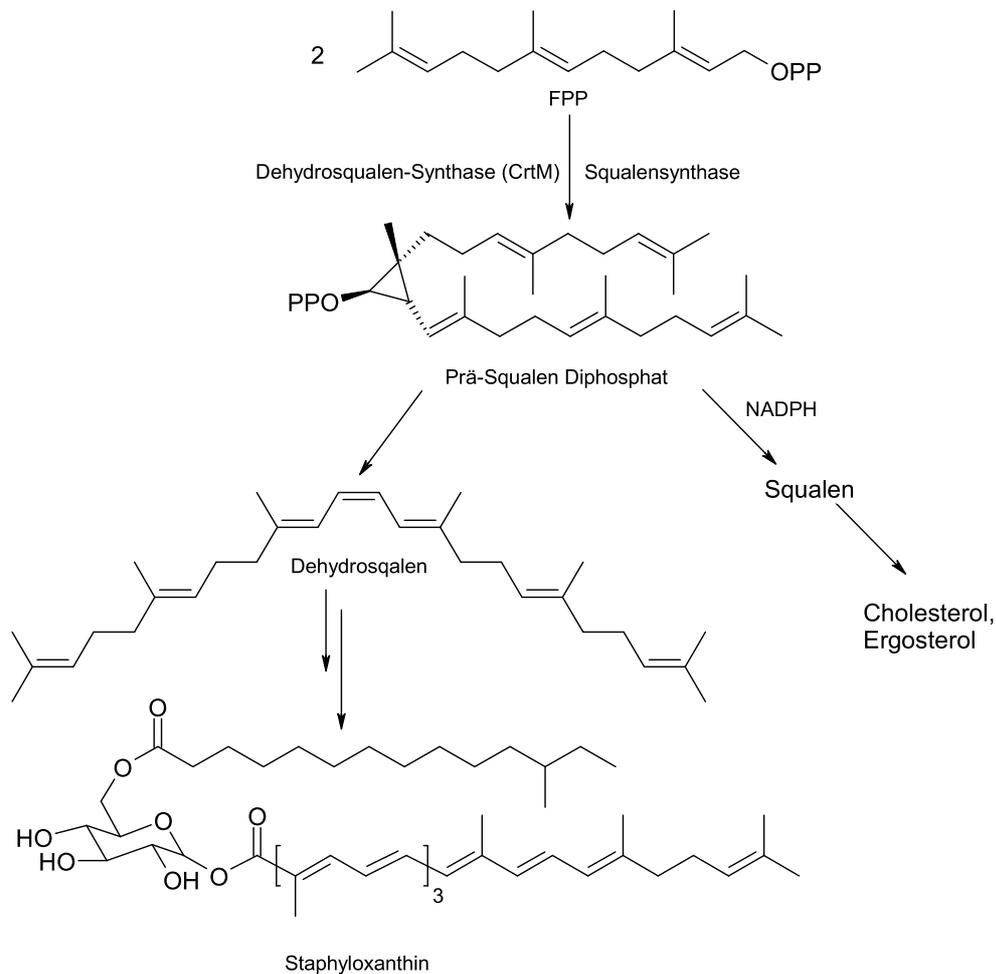


Abbildung: 1-4: Ausschnitt aus der Staphyloxanthin-Biosynthese in *S. aureus*

Die Inhibition dieses Enzyms führt zu einer stark erhöhten Mortalität von *S. aureus* durch System-generierte reaktive Sauerstoffspezies (ROS) des Wirts⁹.

1.1.2 Der Post-Squalen-Abschnitt

Dieser Abschnitt der Sterol- bzw. Triterpenbiosynthese verläuft bei Pro- und Eukaryoten unterschiedlich. In Prokaryoten wird das Squalen von der Squalen-Hopen-Cyclase direkt zu Hopen und Diploterol umgesetzt¹⁷. Bei den Eukaryoten wird Squalen zuerst von der Squalenepoxidase epoxidiert. Das entstandene 2,3-Oxidosqualen wird dann von der Oxidosqualencyclase (OSC) in einer enzymatischen Reaktionskaskade zu Sitosterol (Pflanzen) und bei Tieren und Pilzen zu ihrem letzten identischen Sterol Lanosterol umgesetzt (siehe Abb.1-5).

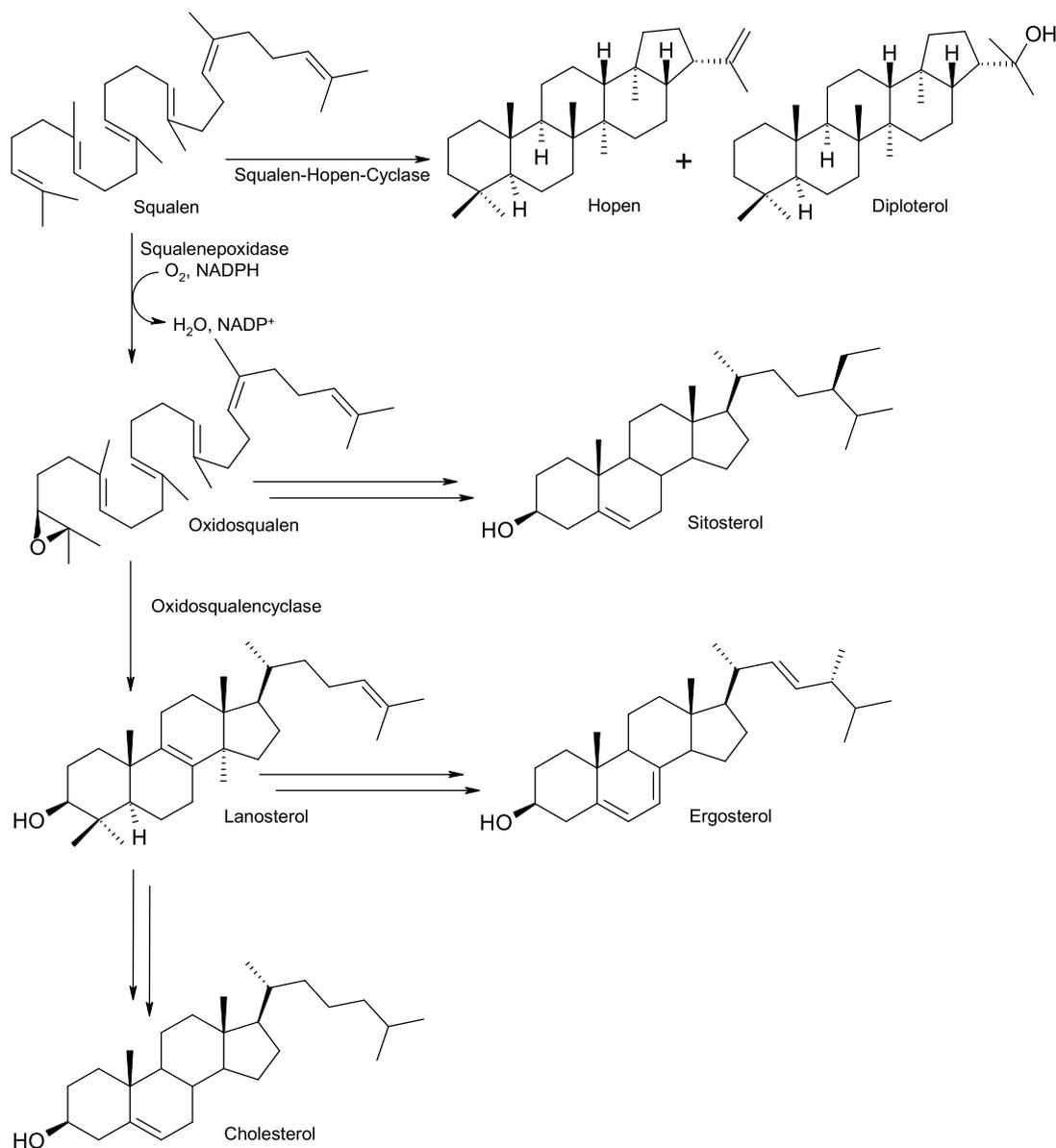


Abbildung 1-5: Übersicht der Reaktionen des Post-Squalen-Abschnitts

Bevor auf die einzelnen enzymatischen Reaktionen genauer eingegangen wird, folgt zum besseren Verständnis eine Übersicht der IUPAC-Nummerierung von Sterolen am Beispiel des Lanosterols (siehe Abb. 1-6).

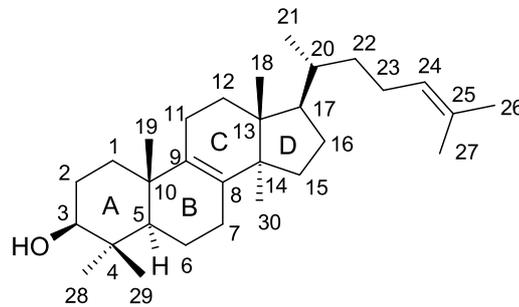


Abbildung 1-6: Nummerierung von Lanosterol nach IUPAC

1.1.2.1 Squalenepoxidase

Die Squalenepoxidase ist eine membranassoziierte Flavoprotein-Monoxygenase, die sowohl aerobe Bedingungen als auch NADPH, NADPH-Cytochrom P-450 Reduktase, FAD sowie einen supernatanten Faktor benötigt. Der Mechanismus ist nicht gänzlich aufgeklärt, es wurde postuliert, dass er wie folgt abläuft¹⁸:

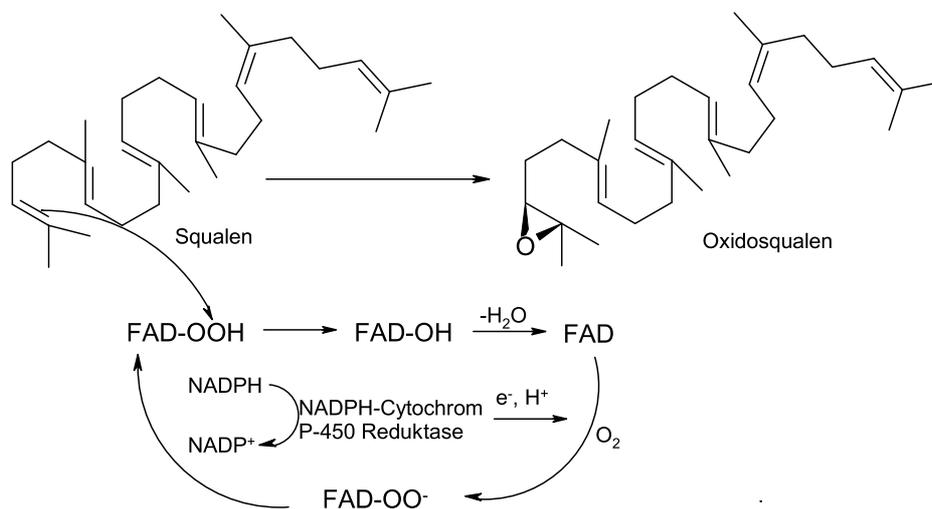


Abbildung 1-7: Mechanismus der Squalenepoxidase

Das Enzym ist ein gut erforschtes Target sowohl für Inhibitoren der Cholesterol- als auch der Ergosterolbiosynthese. Die wichtigsten Klassen von Inhibitoren sind Allylamine (NB-598) in der Cholesterolbiosynthese und Thiocarbamate (Tolciclat) und

Allylamine (Natifin zur Behandlung von oberflächlichen Mykosen und Terbinafin zur Behandlung systemischer Mykosen) in der Ergosterolbiosynthese (siehe Abb. 1-7)¹².

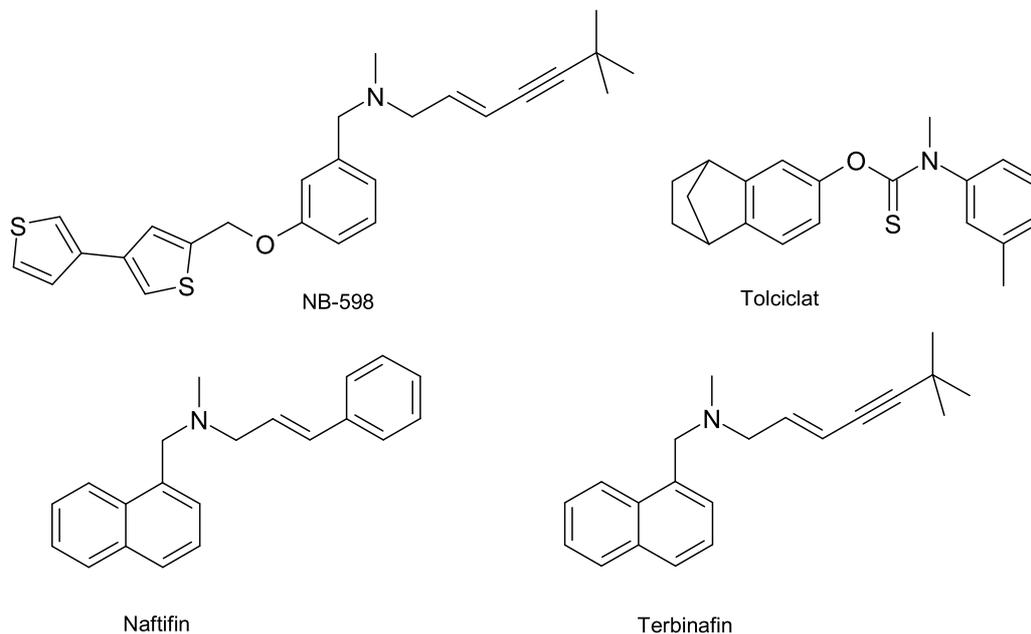


Abbildung 1-8: Inhibitoren der Squalenepoxidase

1.1.2.2 Oxidosqualencyclase (OSC)

Die Cyclisierung des Oxidosqualens zu Lanosterol erfordert die Sessel-Boot-Sessel-Konformation des Edukts^{19,20,21}. Die OSC erzwingt diese energetisch ungünstige Substratkonformation. Der erste Reaktionsschritt ist die Protonierung des Oxirans, welches sich als sehr stabil erwies²². Die erforderliche Reaktivität wird durch einen Aspartat-Rest der OSC²³, dessen Acidität durch zwei Wasserstoffbrücken im aktiven Zentrum gesteigert wird, erreicht. Die Protonierung des Oxirans und die Bildung des A-Rings verlaufen vermutlich konzertiert²⁴. Die folgende Reaktionskaskade verläuft über mehrere carbokationische Zwischenstufen (High Energy Intermediates, HEI), an pro-C-10, pro-C-8, pro-C-13, pro-C-17 und C-20²¹. Die Bildung des B-Rings (**II**) erfolgt sobald die positive Ladung am pro-C-10 des A-Rings (**I**) entstanden ist. Wie die folgende Cyclisierung zum C-Ring mechanistisch funktioniert, ist nicht vollständig geklärt. Untersuchungen weisen auf ein fünfgliedriges Intermediat (**III**) hin¹⁹. Das wäre das Produkt einer Anti-Markownikow-Addition, die im Vergleich zu einer direkten Bildung des sechsgliedrigen Ringes (**IV**) (Markownikow-Addition), stereoelektronisch weniger begünstigt ist. Durch die Bildung des fünfgliedrigen D-

Ringes entsteht das Protosterolkation (**V**) mit β -ständiger Seitenkette. Durch vier 1,2-trans-Wagner-Meerwein-Umlagerungen und eine Hydridwanderung wird schließlich aus **V** Lanosterol gebildet. Initialisierend ist die Hydridwanderung des 17α -H nach C-20. Anschließend wandert das 13α -H nach C-17 gefolgt von der Wanderung der 14β -Methylgruppe zu C-13 und der 8α -Methylgruppe zu C-14. Diese Umlagerung ist aufgrund der höheren π -Elektronendichte in der Umgebung von C-8 und C-9 begünstigt. Das resultierende Carbokation an C-8 reagiert durch die terminale Abspaltung des 9β -Protons zum Olefin.

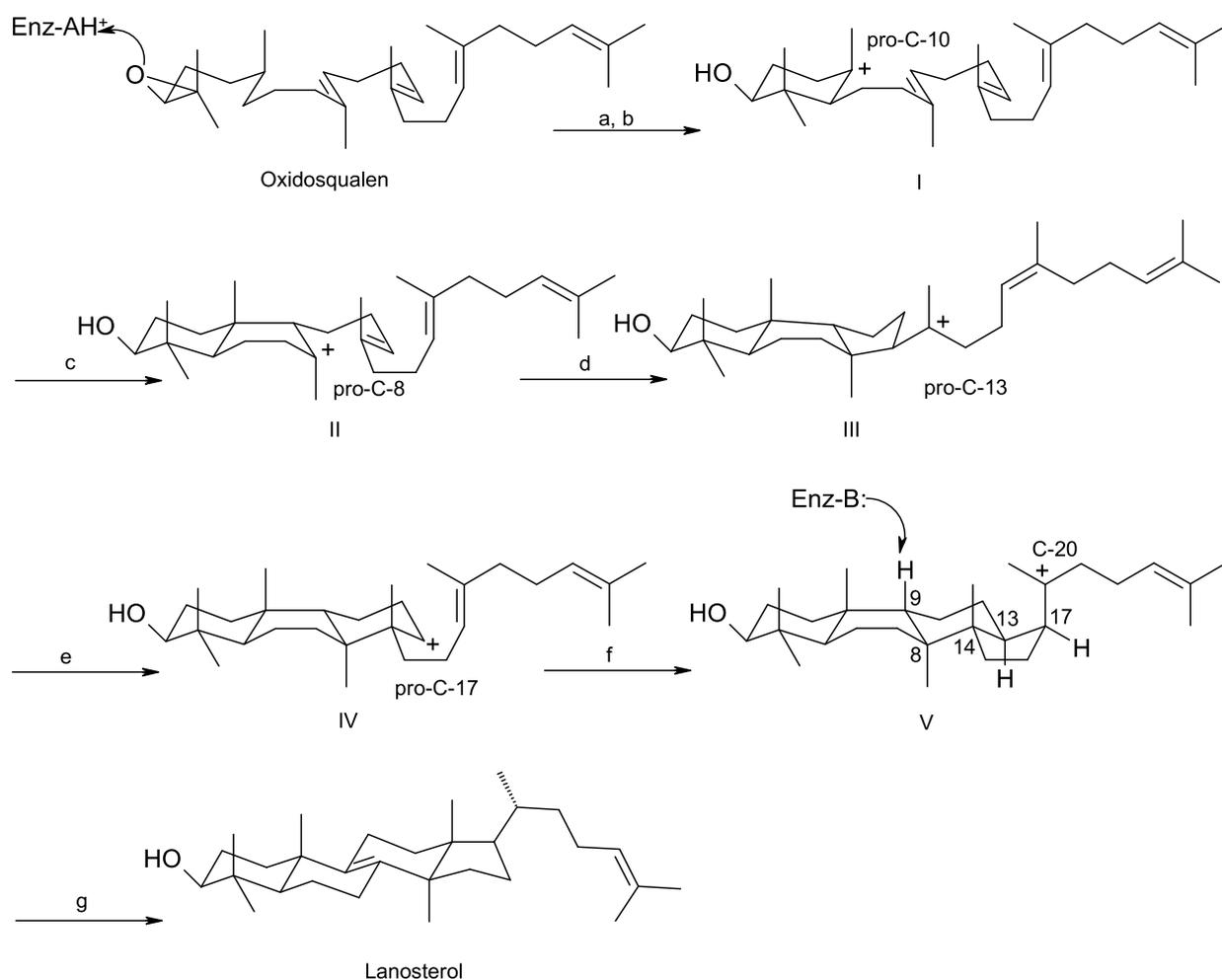


Abbildung 1-9: OSC-katalysierte Cyclisierung von Oxidosqualen zu Lanosterol: a) Protonierung des Epoxids, b) Ringschluss zum A-Ring, c) Ringschluss zum B-Ring, d) Anti-Markownikow-Ringschluss, e) Ringerweiterung, f) Bildung des D-Rings, g) Hydrid- und Methylgruppenverschiebungen

Die Hauptaufgabe der OSC ist die Abschirmung der entstehenden Carbokationen, z.B. vor der Reaktion mit Wasser oder Deprotonierung durch Basen. Das aktive

Zentrum ist aus diesem Grund hydrophob und enthält keine basischen Reste²¹. Bei der Entwicklung neuer OSC-Inhibitoren macht man sich zu Nutze, dass während der Cyclisierung carbokationische Intermediate (HEI) an pro-C-10, pro-C-8, pro-C-13, pro-C-17 und C-20 auftreten. Diese sind laut des Hammond-Postulats eine gute Annäherung an den enzymgebundenen Übergangszustand, der eine hohe Affinität zum Substrat aufweist. Um eine Mimikry der HEIs zu erreichen entwickelt man Substanzen, die anstelle instabiler sp^2 -hybridisierter Carbokationen ein stabiles sp^3 -hybridisiertes Ammoniumion besitzen²⁵. Diese HEI-Analoga finden als Wirkstoffe Anwendung auf vielen Gebieten. Beim Menschen könnten OSC-Inhibitoren als Lipidsenker eingesetzt werden. Diese lassen sich in drei Klassen einteilen: 1. tertiäre Amine, z.B. BIBX-79 und 2-Aza-2,3-dihydrosqualen (pro-C-4-HEI-Analoga), die bei physiologischen pH-Wert protoniert vorliegen, 2. Boehringer Ingelheims Oxazoline wie BIBB-515 ($pK_a = 6.4$) und 3. Astra Zenecas Pyridine und Pyrimidine ($pK_a = 6.1-9.2$) (siehe Abb. 1-10). Von der OSC wird ein weiter pK_a -Bereich toleriert, ein lipophiler Rest ist aber entscheidend für die Wirksamkeit der Inhibitoren.

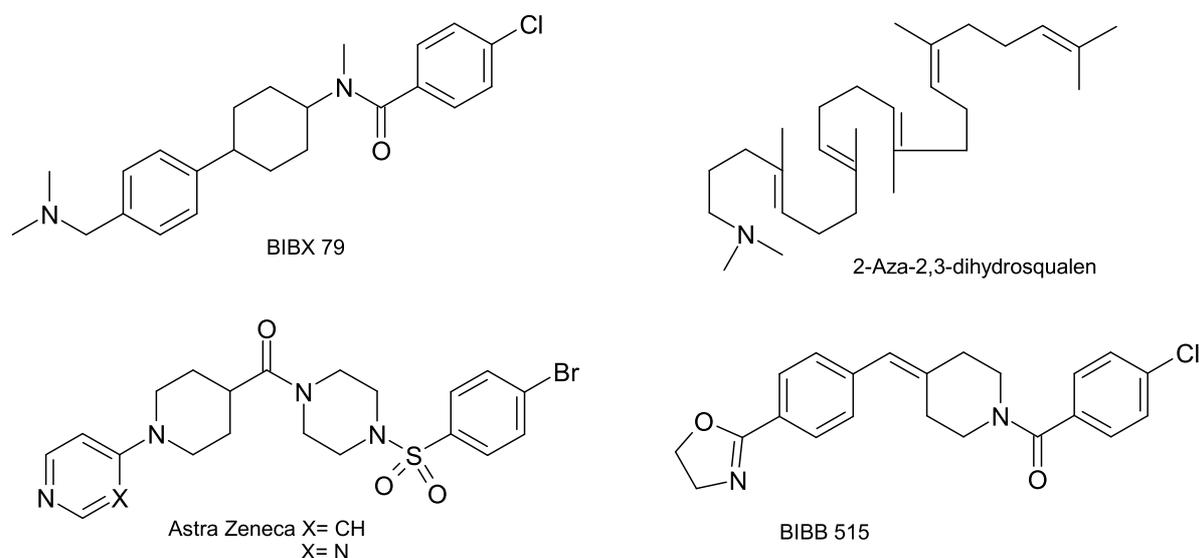


Abbildung 1-10: Inhibitoren der humanen OSC

OSC-Inhibitoren als Lipidsenker bieten prinzipiell mehrere Vorteile. Es gibt nicht die Nebenwirkungen wie bei den Statinen (siehe Abschnitt [1.1.1](#)) oder anderen Prä-Squalen-Inhibitoren auf die Coenzym Q₁₀-Synthese. Die Konzentration von Coenzym Q₁₀ bleibt bei Einnahme von OSC-Inhibitoren in Herz und Leber konstant²⁶. Auf Grund der Stellung der OSC in der Sterolbiosynthese kann es nicht zur Akkumulation höherer, toxischer Sterole wie Desmosterol kommen²⁷. Ein weiterer Vorteil von OSC-

Inhibitoren ist, dass bei Teilhemmung der OSC bevorzugt 24(S),25-Epoxycholesterol über eine alternative Oxysterol-Biosynthese gebildet wird (siehe Abb. 1-11). Schlüsselschritt dieses alternativen Prozesses ist die Oxidation von Oxidosqualen zu Diepoxysqualen, das von der OSC zu 24(S),25-Epoxylanosterol umgewandelt wird. Im letzten Reaktionsschritt wird 24(S),25-Epoxycholesterol gebildet, ein Repressor der HMG-CoA-Reduktase.

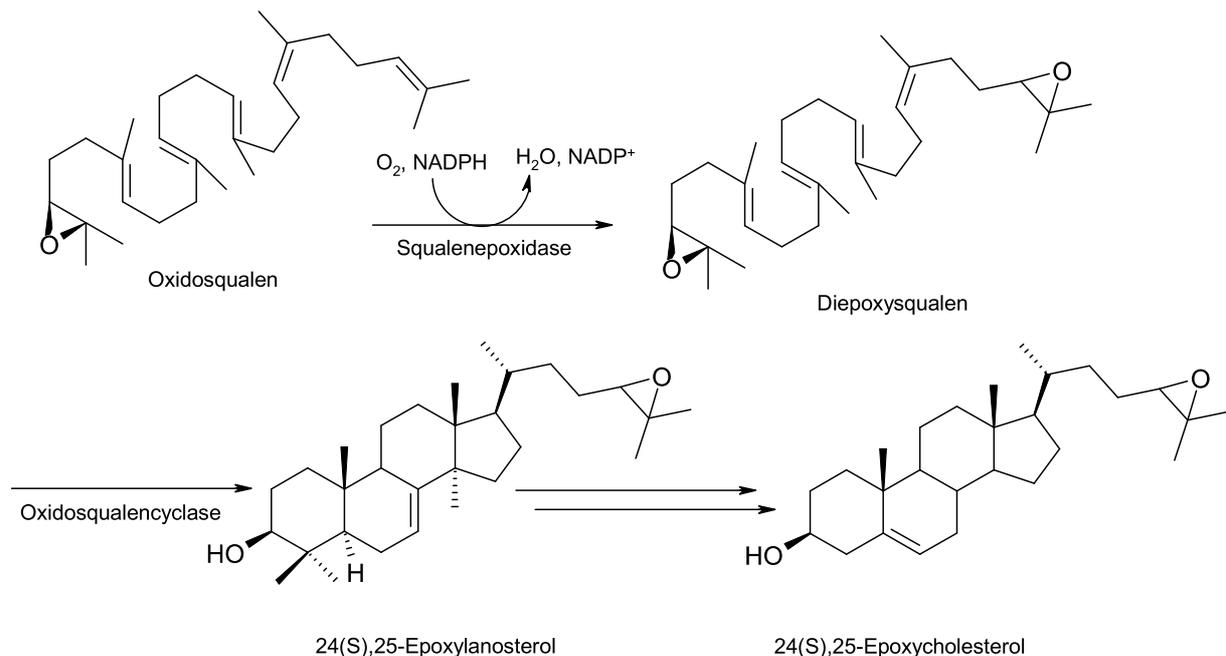


Abbildung 1-11: Abschnitt aus der alternativen Oxysterol-Biosynthese

Das bedeutet, dass OSC-Inhibitoren die Cholesterolsynthese auf Grund eines dualen Mechanismus hemmen: Erstens durch eine direkte Inhibition der Lanosterolsynthese und zweitens durch eine Repression der HMG-CoA-Reduktase im Prä-Squalen-Abschnitt^{28,29,30}. Im Tierversuch wird der Nachteil der OSC-Inhibitoren deutlich; sie induzieren eine Kataraktbildung stärker als die Statine (vgl. Abschnitt [1.1.1](#))³¹. Ob dieser Effekt auf Grund der Hemmung der Cholesterolsynthese entsteht oder durch direkte Störung der Linsen-Membranstruktur ist nicht vollständig geklärt. Viele Fakten weisen auf die zweite Möglichkeit hin. OSC-Inhibitoren, wie U18666A (siehe Abb. 1-26), BIBX 79 und BIBB 515 (siehe Abb. 1-10) sind amphiphile, protonierbare Substanzen. Es wurde nachgewiesen, dass andere Vertreter dieser Substanzklasse wie die Phenothiazine³², die nicht die Cholesterolsynthese inhibieren, ebenfalls kataraktogen wirken. Es wurden auch wirksame, spezifische Inhibitoren der fungalen OSC als Antimykotika entwickelt. Besonders erwähnenswert sind das Azasqualen

N,N-Diethylazasqualen³³ (pro-C-4-Analogon) und das Protosterol-Analogon N-[2-(4,8-Dimethyl-3-(E),7-nonadienyl)phenylmethyl]-N',N'-diethyl-1,2-ethandiamin³⁴ (siehe Abb. 1-12). Ein Problem bei der Entwicklung selektiver OSC-Inhibitoren ist, dass bei anderen enzymatischen Reaktionen der Sterolbiosynthese ebenfalls HEIs an den selben Kohlenstoffen (C-8: $\Delta^{8,7}$ -Isomerase) oder räumlich benachbarten Kohlenstoffen (C-14: Δ^{14} -Reduktase, C-7: Δ^7 -Reduktase) entstehen und OSC-Inhibitoren evtl. auch die genannten Enzyme hemmen können.

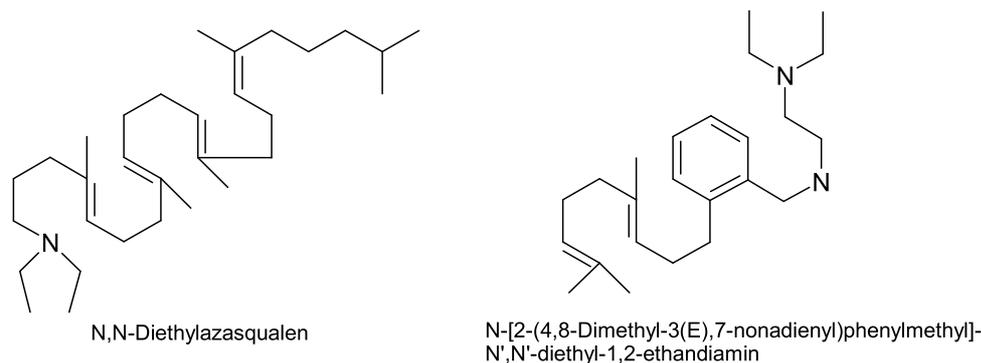


Abbildung 1-12: Inhibitoren der fungalen OSC

1.1.3 Die Cholesterolsynthese ab Lanosterol

Im Post-Squalen-Abschnitt der Cholesterolsynthese wird ausgehend von Squalen in neun Reaktionsschritten, an denen ebenso viele Enzyme beteiligt sind, Cholesterol (**h**) aufgebaut. Es treten carbokationische Zwischenstufen (HEI) an C-7, C-8, C-14 und C-24 auf. Die Cholesterolsynthese wird in diesem Kapitel ausgehend von Lanosterol (**a**) beschrieben, da der Prä-Squalen-Abschnitt (siehe Abschnitt [1.1.1](#)) und die vorgehenden zwei Schritte des Post-Squalen-Abschnitts bereits (siehe Abschnitt [1.1.2](#)) behandelt wurden. Die vorkommenden Enzyme sind spezifisch, auch wenn Enzyme mit prinzipiell gleicher Funktion auch in der Ergosterol- und Sitosterolsynthese vorkommen. Für die Cholesterolsynthese wurden von Bloch³⁵ und Kandutsch und Russell³⁶ zwei nach ihnen benannte alternative Reaktionswege postuliert. Diese Reaktionswege unterscheiden sich nur im Zeitpunkt der Reduktion der Δ^{24} -Doppelbindung. Auf Grund der geringen Substratspezifität der Δ^{24} -Reduktase können alle Zwischenstufen des Bloch-Reaktionswegs in die des Kandutsch-Russel-Reaktionswegs überführt werden. Im Bloch-Reaktionsweg ist Desmosterol (**g**) die direkte Synthesevorstufe des Cholesterols (**h**) und im Kandutsch-Russel-Reaktionsweg ist es 7-Dehydrocholesterol (**i**) (siehe Abb. 1-13).

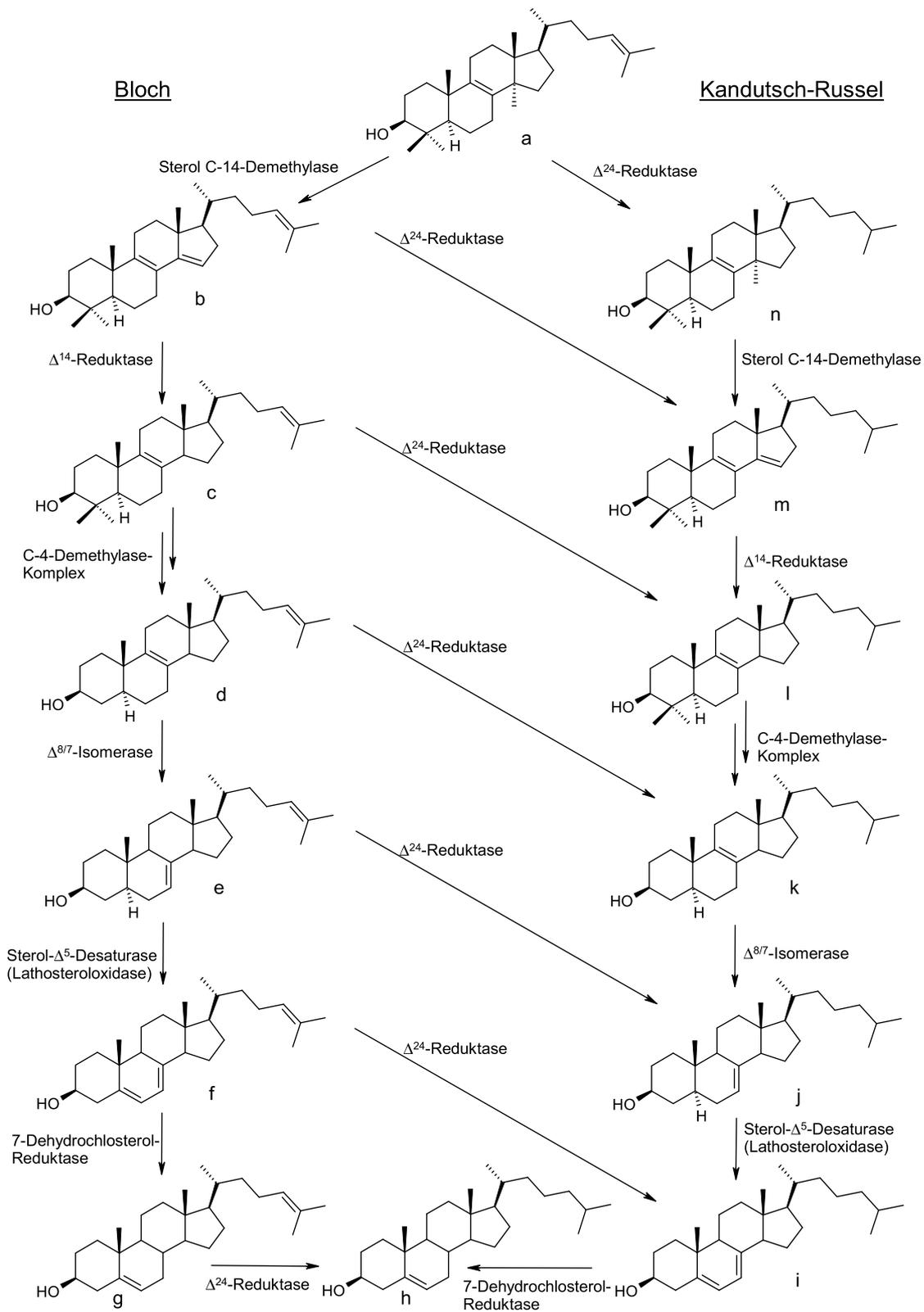


Abbildung 1-13: Bloch-und Kandutsch-Russel-Alternativen der Cholesterolsynthese mit a) Lanosterol, b) 4,4-Dimethylcholesta-8,14,24-trien-3 β -ol, c) 4,4-Dimethylcholesta-8,24-dien-3 β -ol, d) Zymosterol, e) Cholesta-7,24-dien-3 β -ol, f) Cholesta-5,7,24-trien-3 β -ol, g) Desmosterol, h) Cholesterol, i) 7-Dehydrocholesterol, j) Lathosterol, k) Zymostenol, l) 4,4-Dimethylcholesta-8-en-3 β -ol, m) 4,4-Dimethylcholesta-8,14-dien-3 β -ol, n) Dihydrolanosterol

Der Bloch-Reaktionsweg der Cholesterolsynthese beginnt mit der Demethylierung des Lanosterols (**a**) an der C-14-Position durch die Sterol-C-14-Demethylase. Das entstandene 4,4-Dimethylcholesta-8,14,24-trien-3 β -ol (**b**) wird mittels der Δ^{14} -Reduktase zu 4,4-Dimethylcholesta-8,24-dien-3 β -ol (**c**) umgesetzt. Der nächste Schritt ist die sukzessive Entfernung der 4 α - und 4 β -Methylgruppen durch den C-4-Demethylase-Komplex, es entsteht Zymosterol (**d**). Durch Isomerisierung der Δ^8 -Doppelbindung mittels der $\Delta^{8,7}$ -Isomerase wird Cholesta-7,24-dien-3 β -ol (**e**) gebildet, welches durch die Lathosteroloxidase zu Cholesta-5,7,24-trien-3 β -ol (**f**) umgesetzt wird. Aus dieser Zwischenstufe entsteht durch die 7-Dehydrocholesterol-Reduktase Desmosterol (**g**), das im letzten Reaktionsschritt durch Sättigung der Δ^{24} -Doppelbindung mittels der Δ^{24} -Reduktase zu Cholesterol (**h**) umgesetzt wird. Der Kandutsch-Russell-Reaktionsweg beginnt mit der Reduktion der Δ^{24} -Doppelbindung. Die folgenden Reaktionsschritte verlaufen in der gleichen Reihenfolge wie bei der Bloch-Alternative. Als letzte Stufe vor dem Cholesterol (**h**) entsteht 7-Dehydrocholesterol (**i**), das mittels der 7-Dehydrocholesterol-Reduktase umgesetzt wird.

1.1.3.1 Sterol-C-14-Demethylase (a**→**b und n**→**m)

Die Sterol-C-14-Demethylase ist eine membranständige Cytochrom P 450-haltige Oxidoreduktase³⁷. Die Demethylierung an der C-14-Position verläuft in vier Schritten und benötigt Sauerstoff und NADPH. Der erste Schritt ist die Oxidation der 14 α -Methylgruppe zum primären Alkohol, der im zweiten Schritt weiter zum Aldehyd oxidiert wird. Ein weiterer Oxidationsschritt führt in einer Bayer-Villiger-artigen Reaktion zum Ameisensäureester, aus dem im letzten Reaktionsschritt unter Elimination von Formiat und dem 15 α -Wasserstoff das demethylierte Produkt 4,4-Dimethylcholesta-8,14,24-trien-3 β -ol (**b**) bzw. 4,4-Dimethylcholesta-8,14-dien-3 β -ol (**m**) gebildet wird¹².

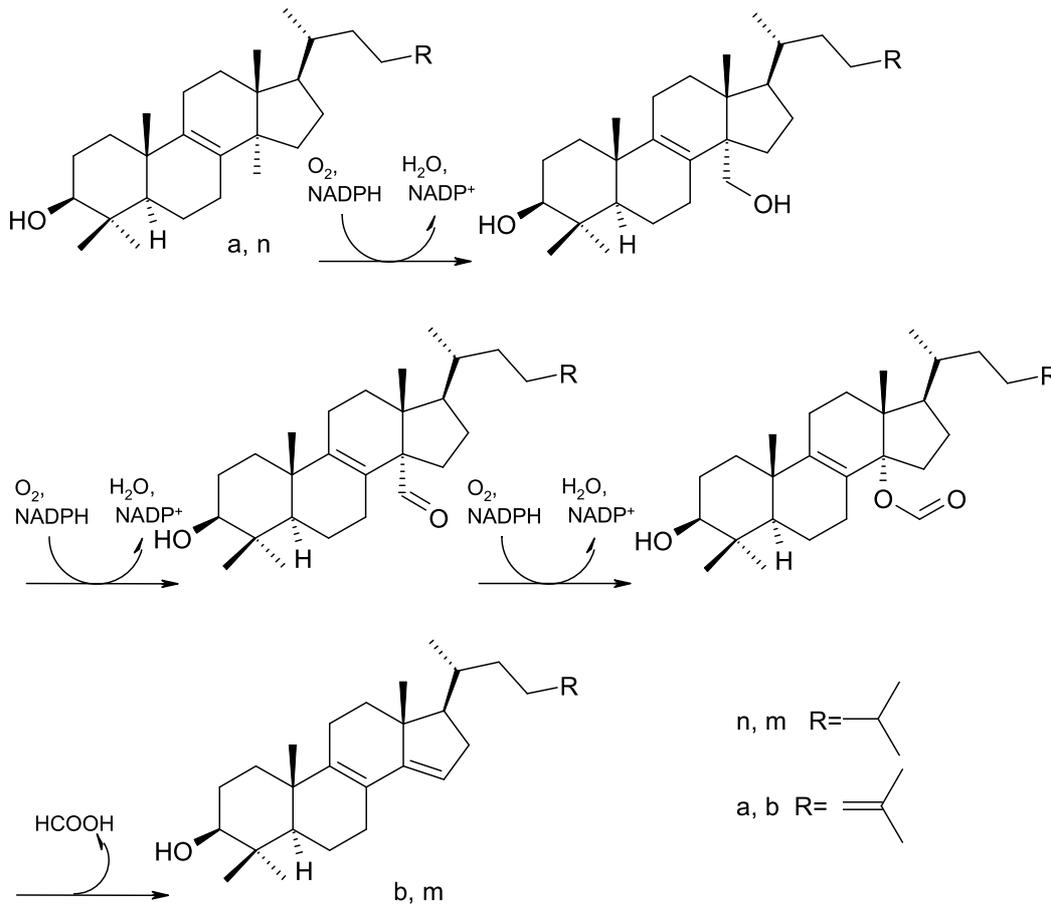


Abbildung 1-14: Mechanismus der Sterol-C-14-Demethylase

Für die humane Sterol-C-14-Demethylase sind nur wenige Inhibitoren bekannt. Ein Beispiel ist das zu den Azolen gehörige Azalanstat (siehe Abb. 1-15)³⁸.

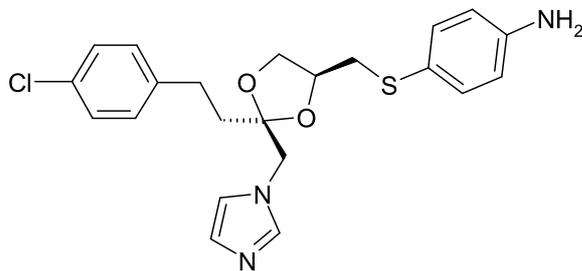


Abbildung 1-15: Azalanstat: Inhibitor der humanen C-14-Demethylase

Es sind jedoch eine große Anzahl von Wirkstoffen bekannt, die die fungale C-14-Demethylase hemmen (siehe Abschnitt [1.1.4.1](#)).

1.1.3.2 Δ^{14} -Reduktase (b \rightarrow c und m \rightarrow l)

Die Δ^{14} -Reduktase katalysiert die Reduktion der Doppelbindung zwischen C-14 und C-15, die durch die in Kapitel [1.1.3.1](#) beschriebene Demethylierung entstanden ist. Als Substrat eignen sich sowohl 4,4-Dimethylcholesta-8,14,24-trien-3 β -ol (**b**) als auch 4,4-Dimethylcholesta-8,14-dien-3 β -ol (**m**). Als Reduktionsmittel wird NADPH benötigt. Initialisierend ist die Protonierung an C-15, wodurch ein mesomeriestabilisiertes Allylkation (HEI) an C-14 entsteht. Das Produkt 4,4-Dimethylcholesta-8,24-dien-3 β -ol (**c**) bzw. 4,4-Dimethylcholesta-8-en-3 β -ol (**l**) entsteht durch stereoselektiven Hydridtransfer von NADPH an die 14 α -Position.

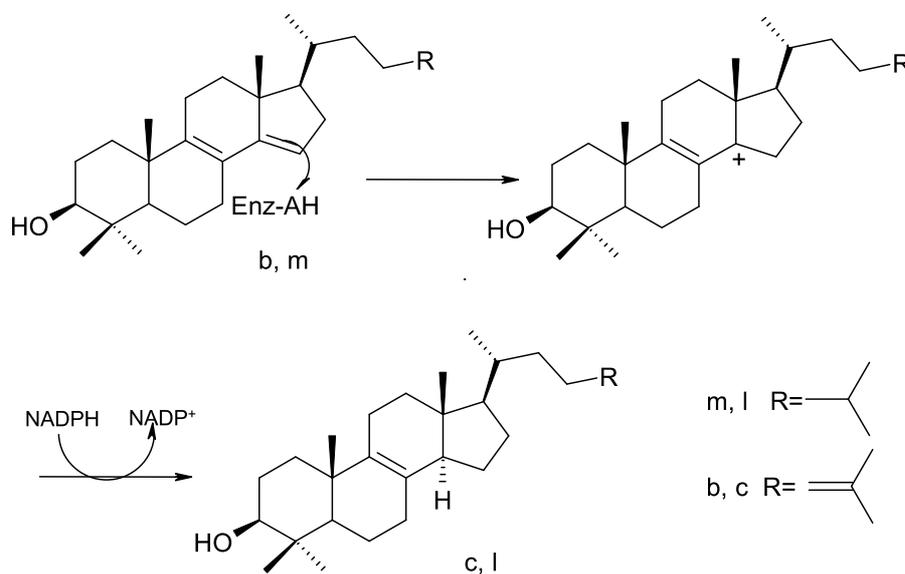
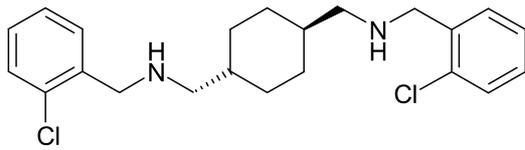
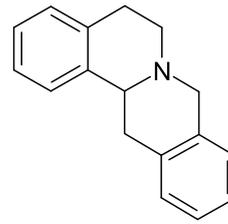


Abbildung 1-16: Reduktion der Doppelbindung an C-14 durch Δ^{14} -Reduktase

Der bekannteste, wenn auch unspezifische, Inhibitor der humanen Δ^{14} -Reduktase ist AY 9944 (siehe Abb. 1-17), der aber auch die $\Delta^{8,7}$ -Isomerase und in niedrigen Konzentrationen die 7-Dehydrocholesterol-Reduktase hemmt³⁹. Kim et al.⁴⁰ gelang es, den ersten spezifischen Inhibitor der humanen Δ^{14} -Reduktase zu identifizieren. Aus dem Extrakt von *Corydalis turtschaninowii* Besser, einer orientalischen Heilpflanze, konnte 7,8,13,13a-Tetrahydrocoridalin (siehe Abb. 1-17) isoliert werden. Dieses Alkaloid und seine Derivate sind selektive Δ^{14} -Reduktase-Inhibitoren.



AY 9944



7,8,13,13a -Tetrahydrocoridalin

Abbildung 1-17: Inhibitoren der humanen Δ^{14} -Reduktase

1.1.3.3 Sterol-C-4-Demethylase-Komplex (c→d und l→k)

Die Demethylierung von Sterolen an der C-4 Position wird in der Cholesterolsynthese von einem komplexen mikrosomalen Enzym katalysiert. Der Sterol-C-4-Demethylase-Komplex besteht aus einer Monooxygenase, einer NAD^+ -abhängigen Sterol-C4-Decarboxylase und einer NADPH -abhängigen 3-Ketosteroid-Reduktase.

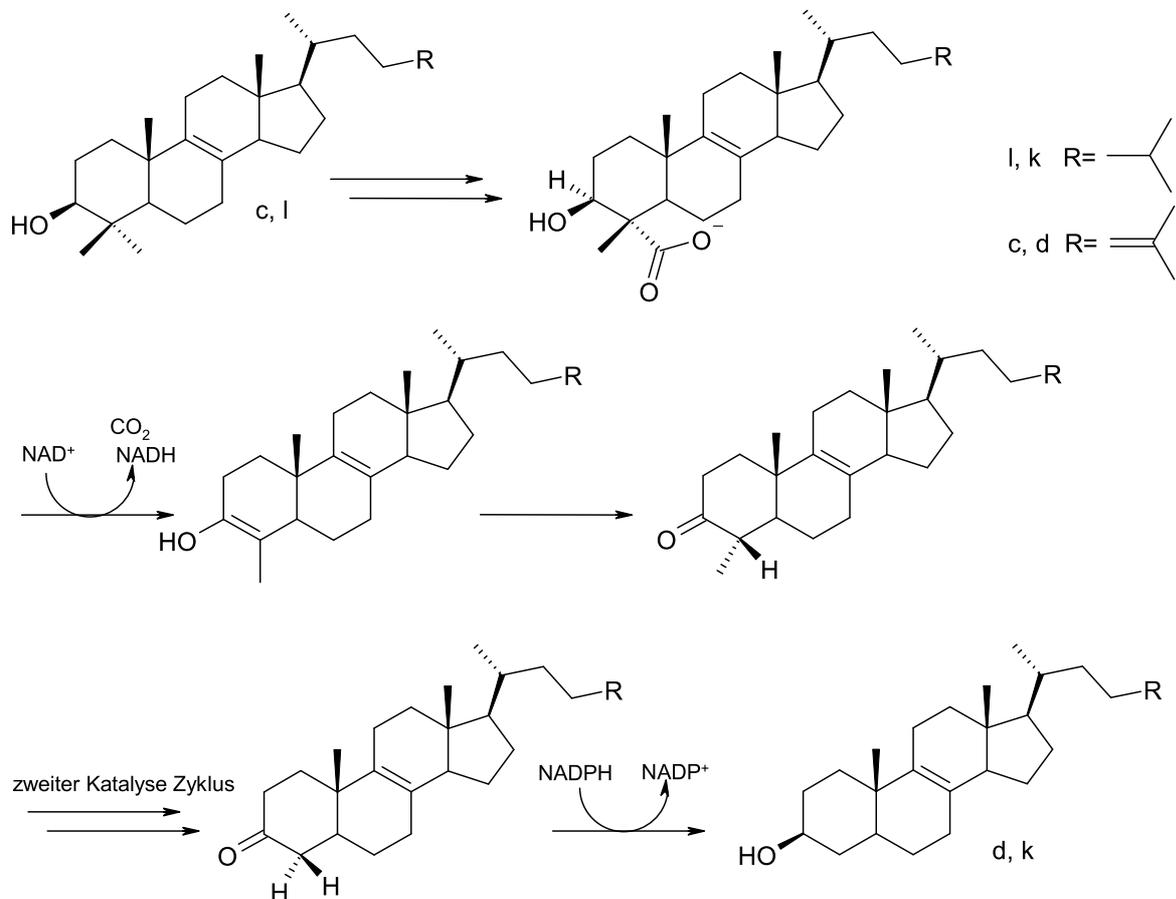


Abbildung 1-18: Reaktionen des C-4-Demethylase-Komplexes

Die Monooxygenase katalysiert die schrittweise Oxidation der 4 α -Methylgruppe von 4,4-Dimethylcholesta-8,24-dien-3 β -ol (**c**) oder 4,4-Dimethyl-cholesta-8-en-3 β -ol (**I**), über den korrespondierenden Alkohol und den Aldehyd zu einer 4 α -Carboxylgruppe. Das resultierende 4 α -Carboxy-4 β -methyl-sterol wird oxidativ decarboxyliert. Durch die konzertierte Abspaltung des 3 α -Wasserstoffs bildet sich ein 3-Hydroxy-4-methyl-3,4-en-sterol, das sich spontan in seine stabilere Ketoform umlagert. Die verbliebene Methylgruppe nimmt eine α -Orientierung an und ist somit als Substrat für den zweiten Katalyse-Zyklus geeignet, der nun beginnt. Der letzte Schritt ist die Reduktion der 3-Ketogruppe zum 3 β -Alkohol durch die 3-Ketosteroidreduktase (siehe Abb. 1-18)¹². Auch für den C-4-Demethylase-Komplex gibt es nur wenige Inhibitoren. Da bekannt ist, dass das Enzym schwach von Cyanid-Ionen gehemmt wird⁴¹, entwickelten Barlett et al.⁴² einen irreversiblen Inhibitor, der nur in der Gegenwart von NADPH bindet, das 4 α -Cyanomethy-5 α -cholestan-3 β -ol (siehe Abb. 1-19).

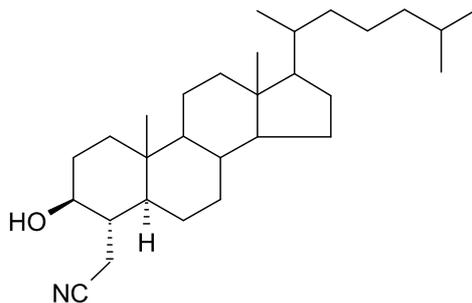


Abbildung 1-19: Struktur von 4 α -Cyanomethy-5 α -cholestan-3 β -ol

Bis heute wurden keine medizinisch einsetzbaren Inhibitoren des humanen C-4-Demethylase-Komplexes entwickelt.

1.1.3.4 $\Delta^{8,7}$ -Isomerase (d \rightarrow e und k \rightarrow j)

Die aus 230 Aminosäuren bestehende $\Delta^{8,7}$ -Isomerase liegt in der Membran des endoplasmatischen Reticulums (ER) und hat vier transmembranäre Domänen⁴³. Sie katalysiert die Isomerisierung der C-8/C-9-Doppelbindung zur C-7/C-8-Doppelbindung. In tierischen Zellen können verschiedene C-14-demethylierte Sterole umgesetzt werden, Zymosterol (**d**) und Zymostenol (**k**) werden als Substrate bevorzugt⁴⁴. Es gibt keine Hinweise darauf, dass die $\Delta^{8,7}$ -Isomerase einen Cofaktor benötigt. Während der Reaktion entsteht durch Protonierung an C-9 ein HEI an C-8,

das unter Verlust des 7 β -Protons zu der Doppelbindung zwischen C-7 und C-8 reagiert.

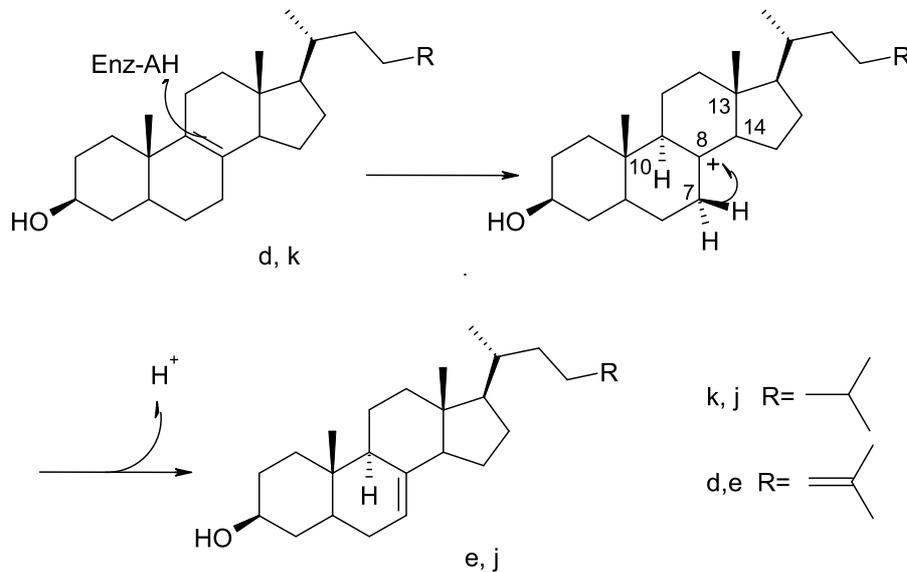


Abbildung 1-20: $\Delta^{8,7}$ -Isomerase-katalysierte Reaktion

Die $\Delta^{8,7}$ -Isomerase ist auch der Rezeptor für das anti-ischämische (Ischämie = Durchblutungsausfall eines Gewebes) Medikament Emopamil (siehe Abb. 1-21), weshalb man in der medizinischen Literatur oft die Abkürzung EBP (Emopamil bindendes Protein) findet. Die Entwicklung spezifischer Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase ist aus drei Gründen schwierig. Erstens: Obwohl die humane und die fungale $\Delta^{8,7}$ -Isomerase keine strukturelle Ähnlichkeit aufweisen, weisen sie dieselbe Funktion mit ähnlichen Substraten auf⁶. Beispielsweise hemmt das Fungizid Tridemorph (siehe Abb. 1-21) sowohl die humane als auch die fungale $\Delta^{8,7}$ -Isomerase⁴⁵. Zweitens treten bei den Reaktionen der $\Delta^{8,7}$ -Isomerase, der Δ^{14} -Reduktase, der OSC und der Sterol- Δ^7 -Reduktase räumlich benachbarte HEIs (C-8 bzw. C-14 bzw. bzw. C-8, C-10, C-13 bzw. C-7, siehe Abb. 1-20) auf, weshalb AY 9944 (siehe Abb. 1-17), bei Mensch und Pilz, in höheren Konzentrationen die $\Delta^{8,7}$ -Isomerase und die Δ^{14} -Reduktase und in geringen Konzentrationen die Sterol- Δ^7 -Reduktase inhibiert. Drittens sind sehr viele $\Delta^{8,7}$ -Isomerase-Inhibitoren auch Liganden des σ -Rezeptors. Der σ -Rezeptor, der ebenfalls im ER lokalisiert ist, hat keine strukturelle Homologie mit der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase, teilt aber 30 % seiner Aminosäuresequenz mit der fungalen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase⁶. Er reguliert eine Reihe von Signaltransduktionen. Medizinische Anwendung finden σ -Rezeptor-Liganden unter

anderem als Neuroleptika (Haloperidol), aber auch zur Behandlung von Tumoren⁴⁶. Der σ -Rezeptor Ligand SR31747A weist antitumorale Aktivität sowohl *in vitro* als auch *in vivo* auf und ist auch ein Inhibitor der humanen und der fungalen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase^{47,48}.

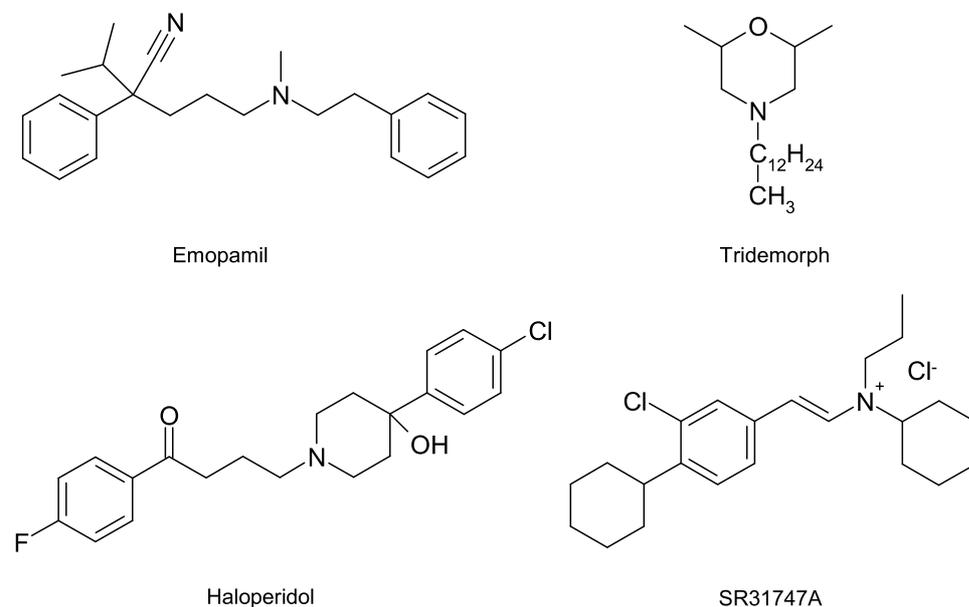


Abbildung 1-21: $\Delta^{8,7}$ -Isomerase-Inhibitoren und σ -Rezeptor-Liganden

Die Entwicklung eines spezifischen Inhibitors der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase könnte, neben dem Einsatz als Lipidsenker, auch dazu beitragen die funktionalen Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen humaner und fungaler $\Delta^{8,7}$ -Isomerase und dem σ -Rezeptor aufzuklären.

1.1.3.5 Sterol- Δ^5 -Desaturase (Lathosteroloxidase, (e→f und j→i))

Die Bildung der Δ^5 -Doppelbindung erfolgt ausgehend von einem Δ^7 -Sterol (**e** oder **j**). Die Reaktion muss unter aeroben Bedingungen verlaufen und benötigt NADH oder NADPH als Cofaktor. Das Enzym ist ein Multienzymkomplex bestehend aus NAD(P)H-Cytochrom b_5 -Reduktase, Cytochrom b_5 und der eigentlichen Δ^5 -Desaturase⁴⁹. Der Reaktionsmechanismus ist nicht endgültig geklärt, es wurde aber von Rahier⁵⁰ folgender radikalischer Mechanismus postuliert:

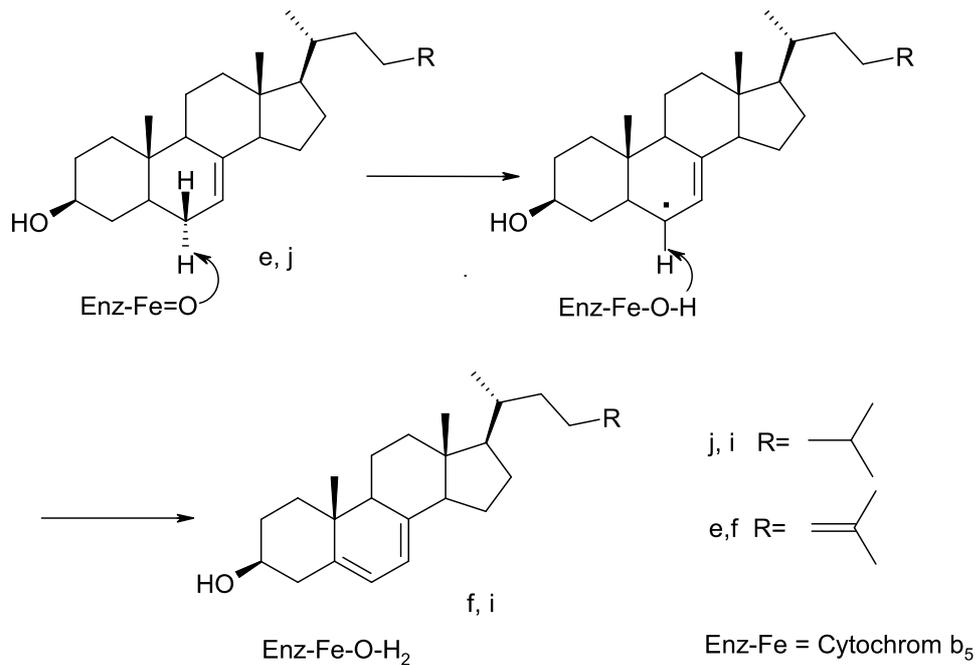


Abbildung 1-22: Postulierter Mechanismus der Lathosteroloxidase-katalysierten Dehydrierung

Für die humane Lathosteroloxidase sind nur wenige Inhibitoren bekannt. Ein schwacher Inhibitor ist das Dithiothreitol⁵¹. Bracher et al.⁵² synthetisierten die ersten potenten Inhibitoren dieses Enzyms, Substratanaloga mit Amiden in der Seitenkette.

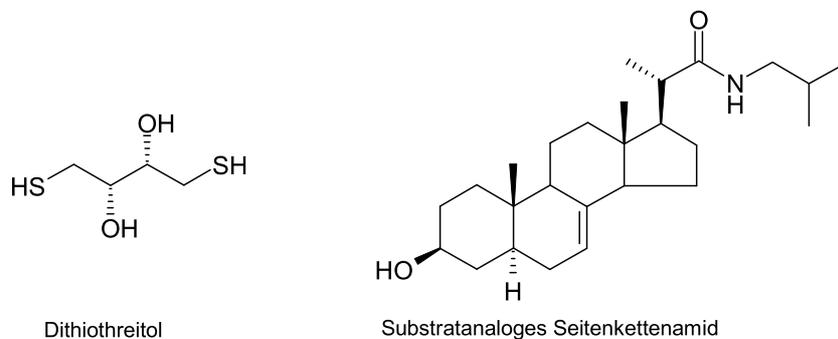


Abbildung 1-23: Inhibitoren der Lathosteroloxidase

1.1.3.6 Sterol- Δ^7 -Reduktase (7-Dehydrocholesterol-Reduktase, (f→g und i→h))

Die Sterol- Δ^7 -Reduktase katalysiert die Reduktion der Δ^7 -Doppelbindung bei $\Delta^{5,7}$ -Sterolen. Die bevorzugten Substrate sind Cholesta-5,7,24-trien-3 β -ol (**f**) und 7-Dehydrocholesterol (**i**). Als Cofaktor wird NADPH benötigt. Während der Reaktion

entsteht durch Protonierung an C-8 ein intermediäres mesomeriestabilisiertes Allylkation (HEI) an Position C-7⁵³.

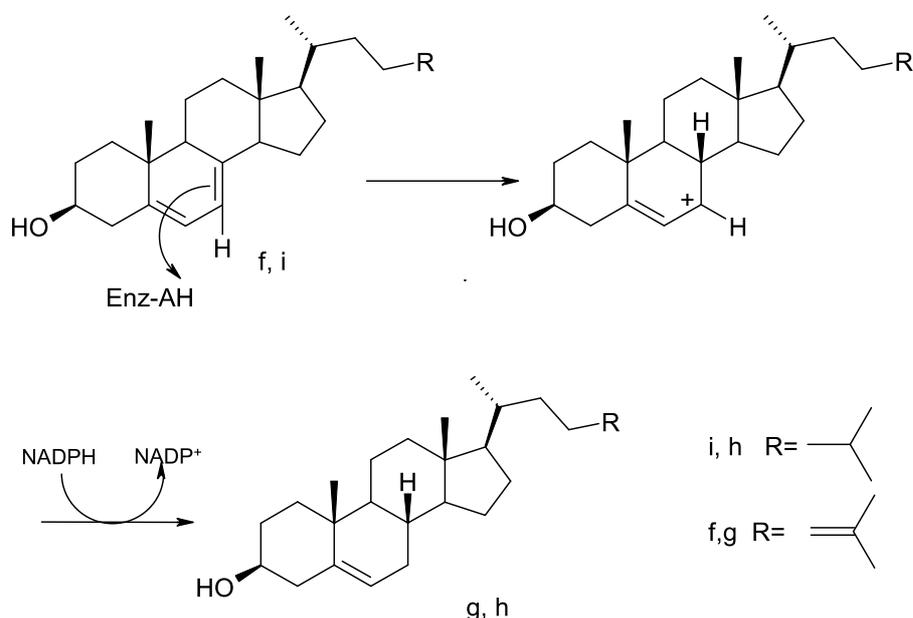


Abbildung 1-24: Reaktionsmechanismus der Sterol- Δ^7 -Reduktase-katalysierten Reduktion

Die Sterol- Δ^7 -Reduktase kommt in der Ergosterolbiosynthese nicht vor. Die Substanz AY 9944 (Abb. 1-17) ist in niedrigen Konzentrationen ein Inhibitor der Sterol- Δ^7 -Reduktase und in höheren Konzentrationen inhibiert AY 9944 sowohl die $\Delta^{8,7}$ -Isomerase als auch die Δ^{14} -Reduktase¹².

1.1.3.7 Δ^{24} -Reduktase (z.B. g \rightarrow h)

Die Δ^{24} -Reduktase ist ein spezifisches Enzym der Cholesterolsynthese. Das Enzym katalysiert die Sättigung der C-24-C-25-Doppelbindung und weist eine geringe Substratspezifität auf¹² (siehe Abb. 1-13). So kann jedes Sterol der Cholesterolsynthese mit einer Δ^{24} -Doppelbindung von dem Enzym umgesetzt werden. Als Cofaktor wird NADPH benötigt. Bei der Reaktion entsteht durch Protonierung an der C-24 Position ein HEI an C-25 (siehe Abb. 1-25).

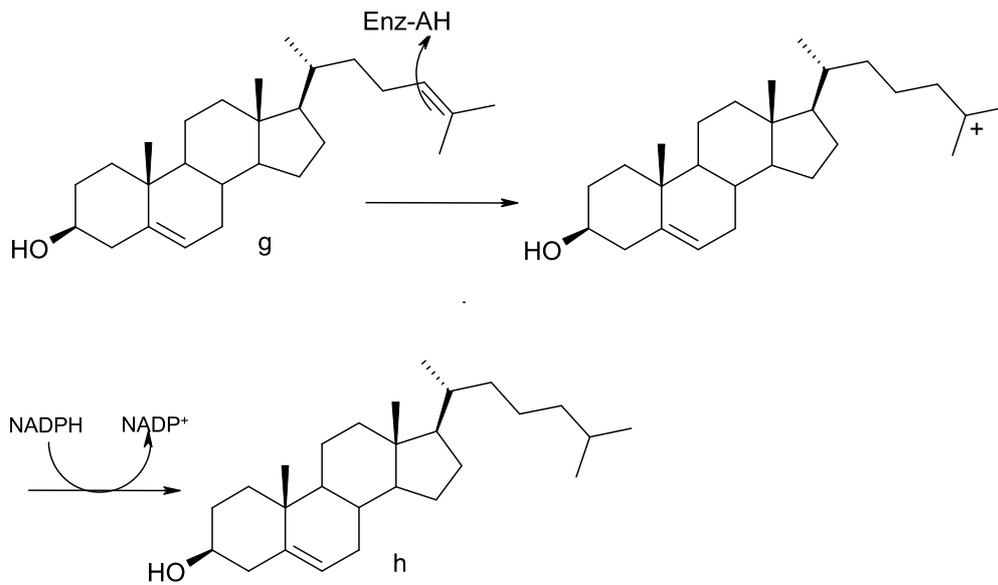


Abbildung 1-25: Reduktion von Desmosterol (g) zu Cholesterol (h)

Δ^{22} -Sterole wie Ergosterol und die Phytosterole Stigmasterol und Brassicasterol hemmen die Δ^{24} -Reduktase kompetitiv mit der gleichen Affinität wie das Substrat Desmosterol (g). Das Desmosterol-Isomer 5,22-Cholestadien-3 β -ol weist eine etwa um den Faktor 8 größere Affinität zum Enzym auf⁵⁴. Triparanol, sowie der Multienzym-Inhibitor U18666A, hemmen die Δ^{24} -Reduktase ebenfalls⁵⁵.

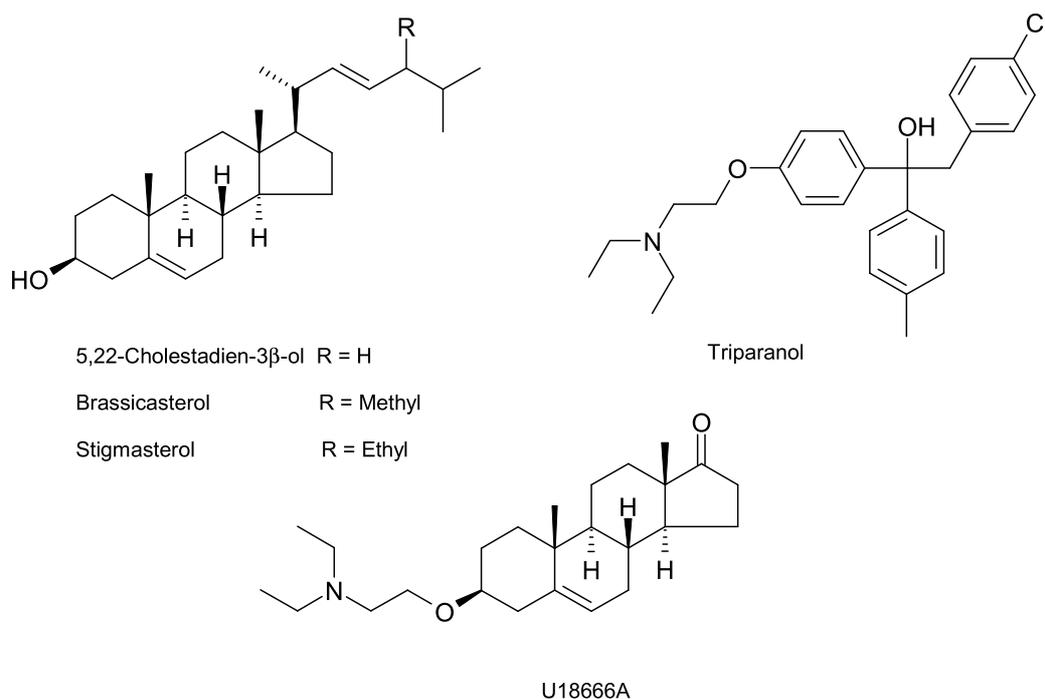


Abbildung 1-26: Inhibitoren der Δ^{24} -Reduktase

1.1.4 Die Ergosterolbiosynthese

Im Post-Squalen-Abschnitt der Ergosterolbiosynthese wird ausgehend von Squalen in zehn Reaktionsschritten Ergosterol (**s**) aufgebaut. Es treten mehrere carbokationische High Energy Intermediates (HEIs) auf. Die Ergosterolbiosynthese wird hier ausgehend von Lanosterol (**a**) beschrieben, da der Prä-Squalen-Abschnitt (siehe Abschnitt [1.1.1](#)) und die vorgehenden zwei Schritte des Post-Squalen-Abschnitts bereits (siehe Abschnitt [1.1.2](#)) behandelt wurden. Die vorkommenden Enzyme sind spezifisch, auch wenn Enzyme mit gleicher Funktion auch in der Cholesterolbiosynthese vorkommen. Die ersten drei Reaktionsschritte (**a** bis **d**) entsprechen dem Bloch-Weg der Cholesterolbiosynthese (siehe Abschnitt [1.2](#)).

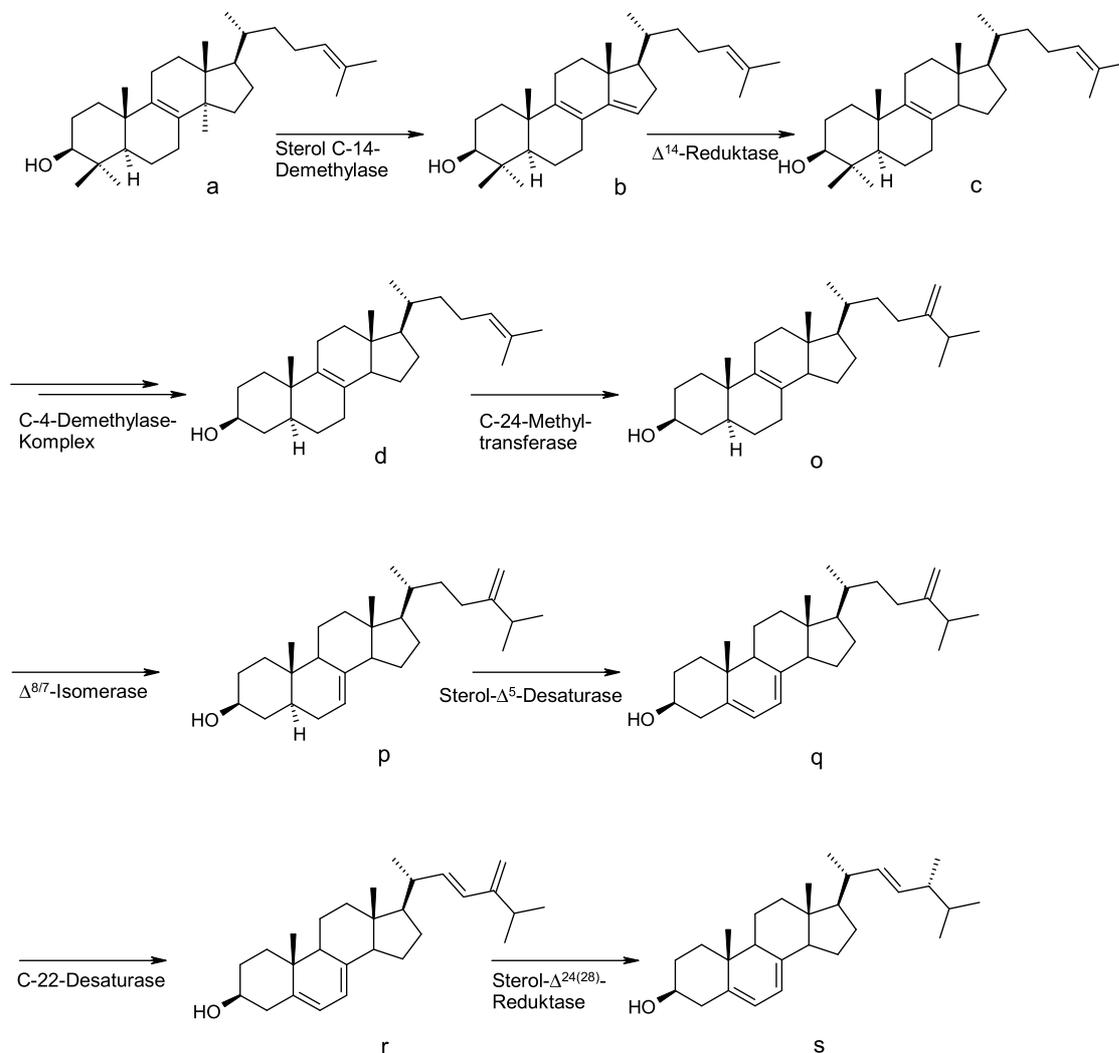


Abbildung 1-27: Prä-Squalen-Abschnitt der Ergosterolbiosynthese mit a) Lanosterol, b) 4,4-Dimethylcholesta-8,14,24-trien-3 β -ol, c) 4,4-Dimethylcholesta-8,24-dien-3 β -ol, d) Zymosterol, o) Fecosterol, p) Episterol, q) Ergosta-5,7,24(28)-trien-3 β -ol, r) 24(28)-Dehydroergosterol, s) Ergosterol

Die drei Enzyme C-24-Methyltransferase (siehe [1.1.4.4](#)), C-22-Desaturase (siehe [1.1.4.7](#)) und $\Delta^{24(28)}$ -Reduktase (siehe [1.1.4.8](#)), die Seitenketten-Modifikationen katalysieren, kommen in der Ergosterolbiosynthese, aber nicht in der Cholesterolbiosynthese, vor.

1.1.4.1 Sterol-C-14-Demethylase (a→b)

Dieser Reaktionsschritt der Ergosterolbiosynthese verläuft analog zur Cholesterolbiosynthese (siehe Abschnitt [1.1.3.1](#)). Als Inhibitoren der fungalen Sterol-C-14-Demethylase sind besonders die DMI (Demethylierung inhibierenden)-Antimykotika, Azole wie Clotrimazol, Ketoconazol und Etaconazol (siehe Abb. 1-28), zu nennen. Die DMIs sind die zahlenmäßig die größte Klasse von Antimykotika am Markt. Als strukturelle Gemeinsamkeit haben sie einen Imidazol- oder Triazol-Rest.

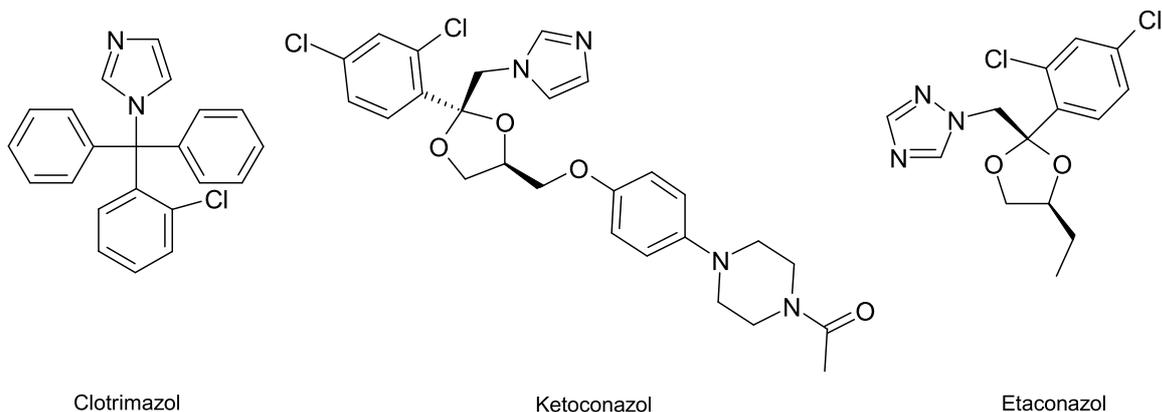


Abbildung 1-28: Inhibitoren der fungalen C-14 Demethylase: DMIs

Die DMIs inhibieren die C-14-Demethylase, ein Cytochrom P 450-abhängiges Enzym, indem das freie Elektronenpaar des *meta*-Stickstoffes des Imidazols oder Triazols eine koordinative Bindung zum Häm-Eisenion ausbildet⁵⁶. Das Problem bei den DMIs sind die häufig auftretenden Wechselwirkungen mit anderen oxidativ metabolisierten Arzneistoffen, auf Grund von Interaktion mit Cytochrom P-Enzymen in der Leber.

1.1.4.2 Δ^{14} -Reduktase (b→c)

Dieser Reaktionsschritt der Ergosterolbiosynthese verläuft analog zur Cholesterolbiosynthese (siehe Abschnitt [1.1.3.2](#)). Die wichtigsten Inhibitoren der Δ^{14} -Reduktase gehören zu der chemischen Klasse der Morpholine. Diese hemmen

neben der Δ^{14} -Reduktase auch die $\Delta^{8,7}$ -Isomerase. Das einzige in der Humanmedizin eingesetzte Morpholin ist Amorolfin⁵⁷. Strukturverwandte Verbindungen wie z.B. Fenpropidin (siehe Abb. 1-29) werden im Pflanzenschutz eingesetzt⁵⁸.

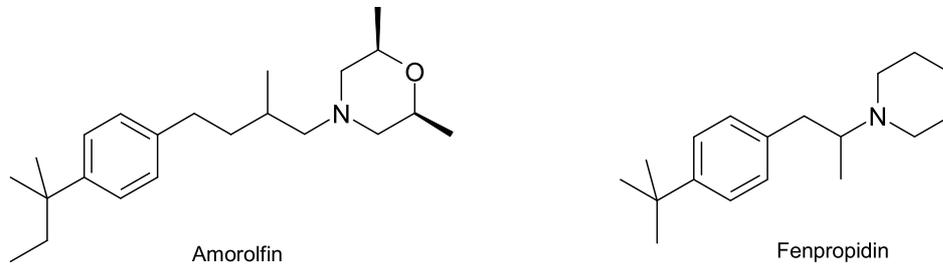


Abbildung 1-29: Morpholine als Δ^{14} -Reduktase-Inhibitoren

1.1.4.3 C-4-Demethylase-Komplex (c→d)

Dieser Reaktionsschritt der Ergosterolbiosynthese verläuft analog zur Cholesterolbiosynthese (siehe Abschnitt [1.1.3.3](#)). Es gibt bis heute keine selektiven Inhibitoren des fungalen C-4-Demethylase-Komplexes.

1.1.4.4 C-24-Methyltransferase (d→o)

Der Methyl donor der Transferase ist S-Adenosylmethionin (SAM), der Akzeptor ist Zymosterol (**d**). Es wird Fecosterol (**o**) gebildet. Durch die formale Addition eines Methylkations an Position C-24 entsteht ein Carbokation (HEI) an C-25. Ein Hydridshift von C-24 zu C-25 führt zu einer Verlagerung der positiven Ladung an die Position C-24. Die Eliminierung eines Protons der C-24-Methylgruppe führt zum Olefin¹² (siehe Abb. 1-30).

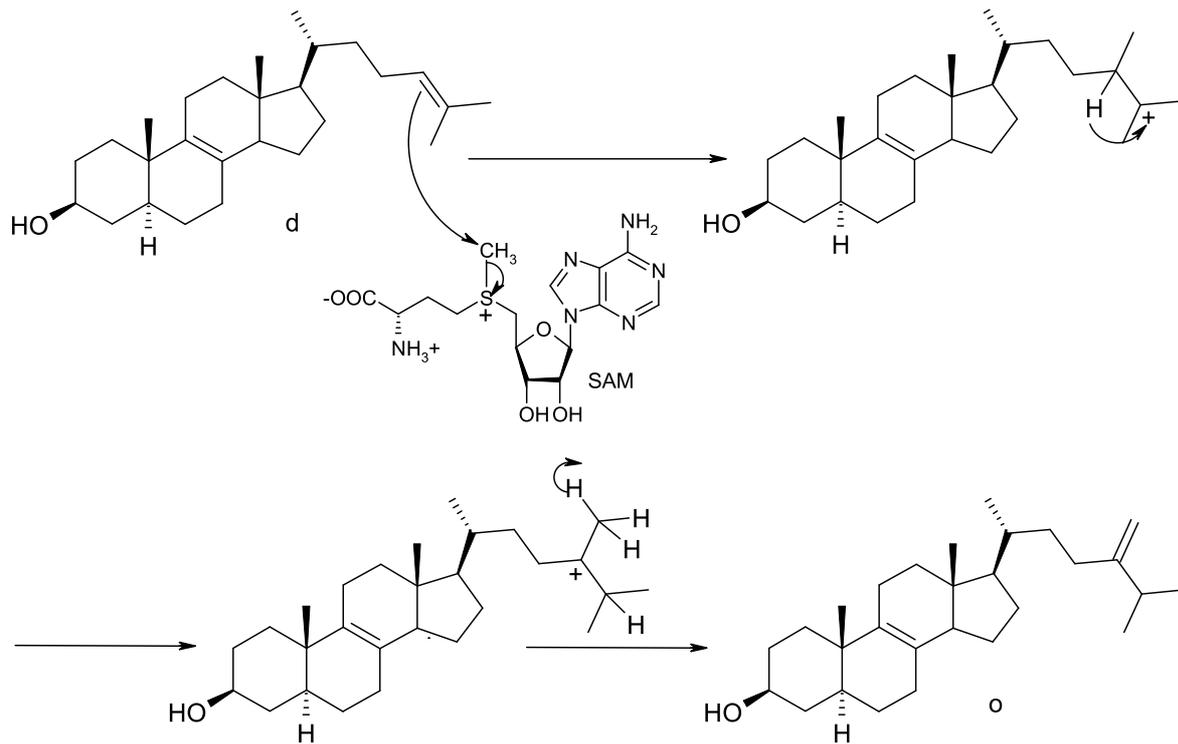


Abbildung 1-30: Reaktionsmechanismus der C-24-Methyltransferase-katalysierten Biosynthese von Fecosterol (o)

Die Inhibitoren der C-24-Methyltransferase sind Sterole mit Heteroatomen (Stickstoff oder Schwefel) an den Positionen der Carbokationen oder an benachbarten Positionen, wie z.B. 25-Aza-24,25-dihydrozymosterol⁵⁹ und das im Arbeitskreis Bracher dargestellte 20-(Butylamino-methyl)-pregn-7-en-3-ol⁶⁰.

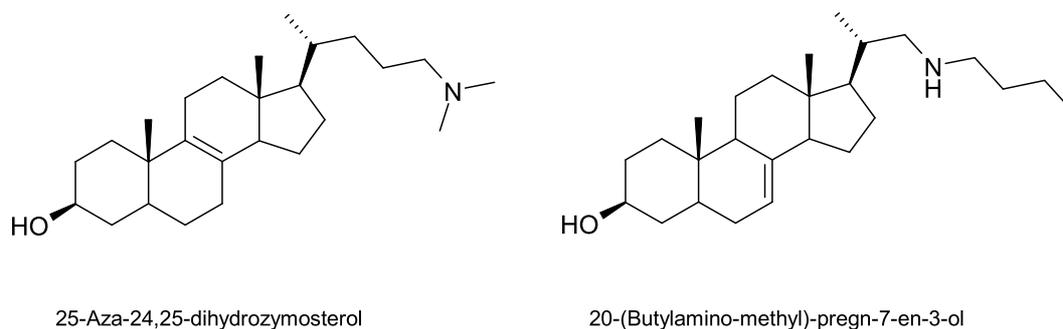


Abbildung 1-31: Inhibitoren der fungalen C-24-Methyltransferase

1.1.4.5 $\Delta^{8,7}$ -Isomerase (o→p)

Dieser Reaktionsschritt der Ergosterolbiosynthese verläuft mechanistisch analog zur Cholesterolbiosynthese (siehe Abschnitt [1.1.3.4](#)). Das Substrat ist Fecosterol (**o**), das Produkt Episterol (**p**). Anstelle des 7β -Protons wird in der Ergosterolbiosynthese das 7α -Proton abstrahiert. Obwohl keine strukturelle Homologie zwischen humaner und fungaler $\Delta^{8,7}$ -Isomerase besteht, konnten bislang keine spezifischen Inhibitoren identifiziert werden. Als Inhibitoren der fungalen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase sind nur die unspezifischen Morpholine (z.B. Tridemorph, siehe Abb. 1-21) zu nennen.

1.1.4.6 Sterol- Δ^5 -Desaturase (p→q)

Das Substrat der fungalen Sterol- Δ^5 -Desaturase ist Episterol (**p**), das Produkt Ergosta-5,7,24(28)-trien-3 β -ol (**q**). Der Reaktionsmechanismus ist nicht vollständig aufgeklärt. Da sich das Enzym nicht durch CO hemmen lässt, wird vermutet, dass es kein Eisen enthält⁶¹. Es gibt Hinweise, dass die Reaktion mit einer aeroben Hydroxylierung an C-6 (oder C-5) beginnt, gefolgt von einer Dehydratisierung, bei welcher die neu gebildete OH-Gruppe mit dem α -Wasserstoff von C-5 (oder C-6) eliminiert wird¹².

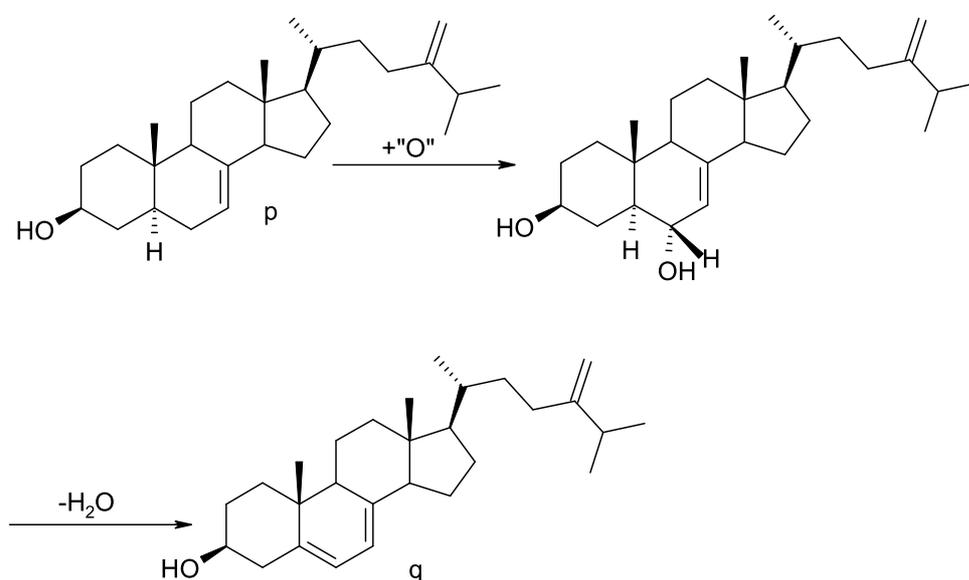


Abbildung 1-32: Formale Reaktion der Sterol- Δ^5 -Desaturase mit Hydroxylierung an C-6

Damit ein Sterol in Pilzen als Wachstumspromotor wirken kann, benötigt es die Doppelbindung in der Seitenkette (Δ^{22}), die Δ^7 -Doppelbindung, die Anwesenheit der

C-24 α -Methylgruppe in der Seitenkette und die Δ^5 -Doppelbindung, die von der Sterol- Δ^5 -Desaturase eingeführt wird^{62,63}. Somit ist dieses Enzym ein interessantes Ziel für antimykotische Wirkstoffe. Die Azole sind auch Inhibitoren der Sterol- Δ^5 -Desaturase, dies wurde am Beispiel des Etoconazols (siehe Abb. 1-28) erstmals nachgewiesen⁶⁴.

1.1.4.7 C-22-Desaturase (q→r)

Die C-22-Desaturase katalysiert die Bildung der Doppelbindung zwischen C-22 und C-23. Über den Mechanismus ist wenig bekannt. Die Doppelbindung ist *E*-konfiguriert, die Wasserstoffe an C-22 und C-23 werden *cis*-eliminiert. Das Substrat der C-22-Desaturase ist Ergosta-5,7,24(28)-trien-3 β -ol (**q**), das Produkt 24(28)-Dehydroergosterol (**r**).

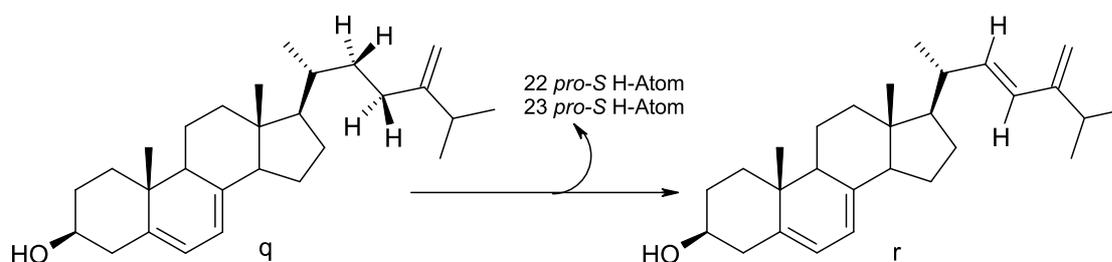


Abbildung 1-33: Bildung der Δ^{22} -Doppelbindung durch die C-22-Desaturase-katalysierte Dehydrierung

Die C-22-Desaturase ist, wie die Sterol-C-14-Demethylase (siehe Abschnitt [1.1.3.1](#)), eine mikrosomale Cytochrom P 450-Monooxygenase⁶⁵. Das begründet die Tatsache, dass Azole wie Ketoconazol (siehe Abb. 1-28) auch dieses Enzym hemmen⁶⁶.

1.1.4.8 $\Delta^{24(28)}$ -Reduktase (r→s)

Die $\Delta^{24(28)}$ -Reduktase ist das letzte Enzym der Ergosterolbiosynthese. Es katalysiert die Reduktion der von der C-24-Methyltransferase an Position C-24/C-28 eingeführten Doppelbindung. Es ist ein mikrosomales Enzym, das Substrat ist 24(28)-Dehydroergosterol (**r**), das Produkt ist Ergosterol (**s**). Als Cofaktor wird NADPH benötigt. Durch Protonierung an C-28 entsteht während der Reaktion an C-24 ein carbokationisches Intermediat. Durch NADPH wird Hydrid stereoselektiv in die 24 β -Position des Sterols übertragen.

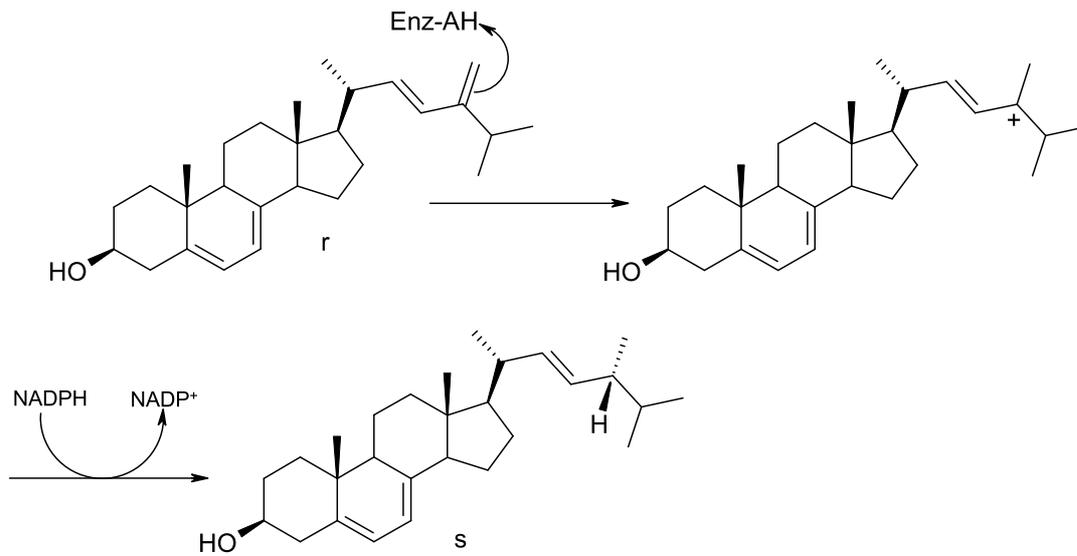


Abbildung 1-34: Mechanismus der $\Delta^{24(28)}$ -Reduktase-katalysierten Biosynthese von Ergosterol

Die $\Delta^{24(28)}$ -Reduktase wird von HEI-Analoga wie 23-Azacholesterol⁶⁷ und 22-piperidin-2-yl-5 α -pregnan-3 β ,22(S)-diol⁶⁸ (siehe Abb. 1-34) gehemmt.

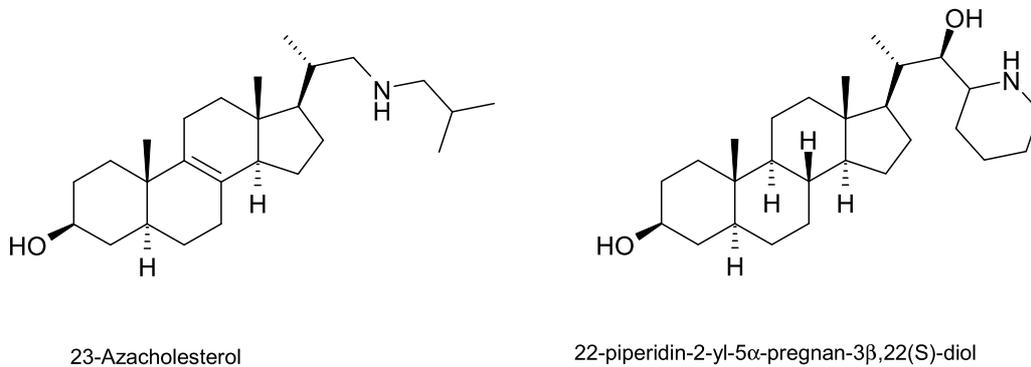


Abbildung 1-35: Inhibitoren der $\Delta^{24(28)}$ -Reduktase

2 Themenstellung und Syntheseplanung

2.1 Themenstellung

Die Sterolbiosynthese ist ein vielseitiger Angriffspunkt für Wirkstoffe gegen Mykosen, Hypercholesterinämie, Protozoen und sogar Viren. Unter den zahlreichen Enzymen, die in der Sterolbiosynthese benötigt werden, sind die Oxidosqualencyclasen ein besonders vielversprechendes Target für neue Wirkstoffe. Bei dem Einsatz von OSC-Inhibitoren als Lipidsenker sind nicht die Nebenwirkungen auf die Leber beschrieben, die bei Inhibitoren des Prä-Squalen-Abschnitts auftreten und auch nicht die Akkumulation toxischer Sterole, die beim Einsatz von anderen Post-Squalen-Inhibitoren nachgewiesen wurden. OSC-Inhibitoren haben als einzige, aber gewichtige, Nebenwirkung die Induktion der Kataraktbildung, welche sich aber möglicherweise durch strukturelle Änderungen der Inhibitoren umgehen lassen könnte. Der duale Mechanismus der Hemmung verstärkt die Wirksamkeit sowohl von Inhibitoren der humanen als auch der fungalen OSC (siehe Abschnitt [1.1.2.2](#)). Im Arbeitskreis von Professor Bracher, in dem die vorliegende Arbeit entstand, liegt ein Forschungsschwerpunkt auf der Entwicklung neuer Cholesterol- und Ergosterolbiosynthese-Inhibitoren, speziell auf der Entwicklung neuer Inhibitoren der OSC. Durch die vorhergegangenen Arbeiten von *Salman*⁶⁹ und *Lange*⁷⁰ konnte Grundmanns Keton als geeigneter Grundbaustein für Inhibitoren der Sterolbiosynthese identifiziert werden. Es weist eine definierte, den Sterolen analoge Stereochemie der Ringe C und D und eine lipophile Seitenkette auf. Die lipophile Seitenkette wurde durch die Arbeit von *Daab*⁷¹ als essenziell für die Aktivität von Steroidanaloga als Enzyminhibitoren herausgestellt.

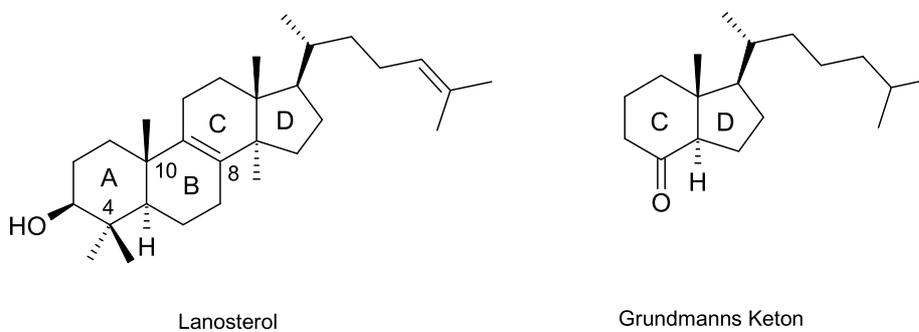


Abbildung 2-1: Vergleich von Lanosterol und Grundmanns Keton

Lange gelang es zwei Substanzklassen zu synthetisieren, die Aminoketone (pro-C-10-HEI-Analoga) und die Amine (pro-C-4-HEI-Analoga) (siehe Abb. 2-2), die Inhibitoren der fungalen OSC sind. *Salman* und *Burbiel*⁷² synthetisierten aus Grundmanns Keton pro-C-8-HEI-Analoga, die aber als Inhibitoren der fungalen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase identifiziert wurden.

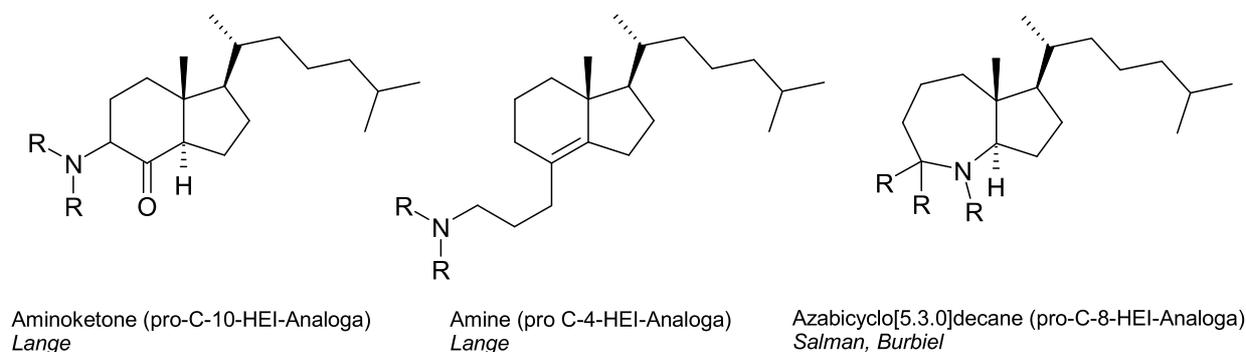


Abbildung 2-2: Verbindungen von *Lange*, *Salman* und *Burbiel* aus dem AK Bracher

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, aufbauend auf der Arbeit von *Lange* und ausgehend von Grundmanns Keton, neue Verbindungen zu synthetisieren, die an den Positionen pro-C-4 und/oder pro-C-7 und/oder pro-C-10 einen protonierbaren Stickstoff tragen und, neben den Ringen C und D, auch die Ringe A und/oder B des Sterolgrundgerüsts imitieren.

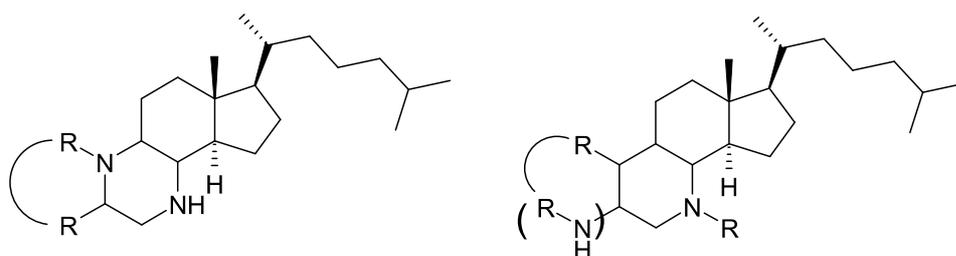


Abbildung 2-3: Allgemeine Strukturen der geplanten Verbindungen

Die Verbindungen sollten im Agar-Diffusionstest auf antimykotische und im MTT-Test auf cytotoxische Aktivität getestet werden und mittels GC-MS-Sterol-Analytik sollte im Ergosterol- und Cholesterolsynthese-Assay das gehemmte Enzym genau bestimmt werden.

2.2 Syntheseplanung

Ausgehend von Grundmanns Keton sollte anfangs auf zwei unterschiedlichen Synthesewegen versucht werden zu den geforderten Substanzen zu gelangen.

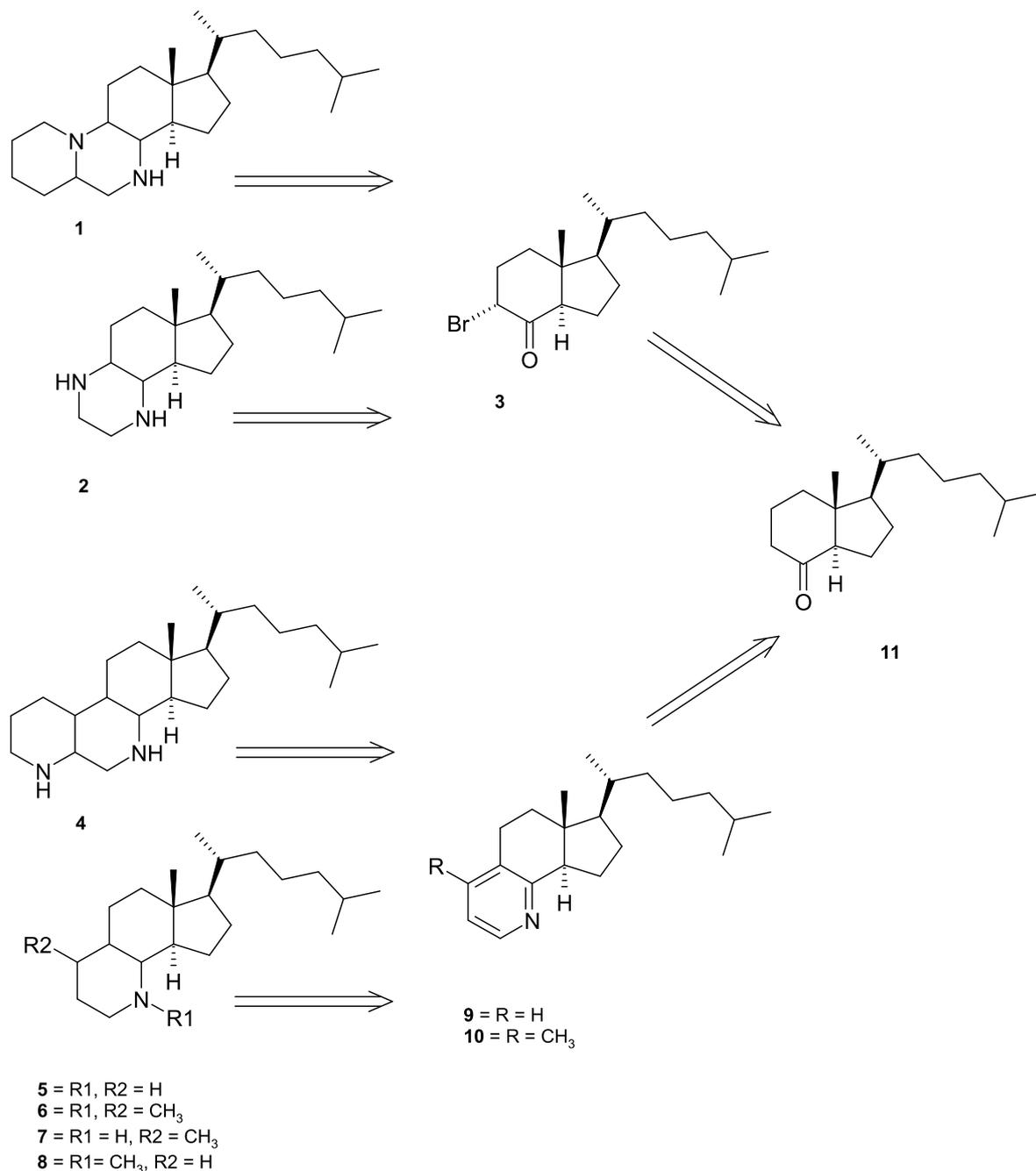


Abbildung 2-4: Retrosynthese der angestrebten Verbindungen

Erstens sollte über den Silylenolether **13** das α -Brom-Keton **3** von Grundmanns Keton (**11**) dargestellt werden. Dieses sollte in einer S_N-Reaktion gefolgt von einer reduktiven Aminierung mit Ethylendiamin bzw. 2-(Aminomethyl)-piperidin zu den

anellierten Piperazinen **1** und **2** umgesetzt werden. Zweitens sollten über verschiedene Wege ausgehend von Grundmanns Keton (**11**) unterschiedlich substituierte Pyridinringe anelliert werden. Diese sollten entweder eine acide, *para*-ständige Methylgruppe enthalten, die es ermöglicht einen Tetracyclus, der alle Ringe des Sterolgrundkörpers aufweist, aufzubauen oder partiell bzw. vollständig hydriert werden.

3 Synthesen

3.1 Grundmanns Keton – Die Vorstufe

Windaus und Grundmann waren bedeutende Naturstoffchemiker, die sich unter anderem mit der Aufklärung der Strukturen von Vitaminen und deren Beziehung zu den Sterolen befassten. Windaus erhielt 1928 für seine Arbeiten den Nobelpreis für Chemie⁷³. Sie untersuchten unter anderem die Produkte des oxidativen Abbaus von Vitamin D₂ (Ergocalciferol) und Vitamin D₃ (Calciferol), die in der Literatur als Windaus Keton (**12**) bzw. Grundmanns Keton (**11**) bezeichnet werden. Windaus Keton (**12**) hat in der Seitenkette eine Doppelbindung, Grundmanns Keton (**11**) nicht.

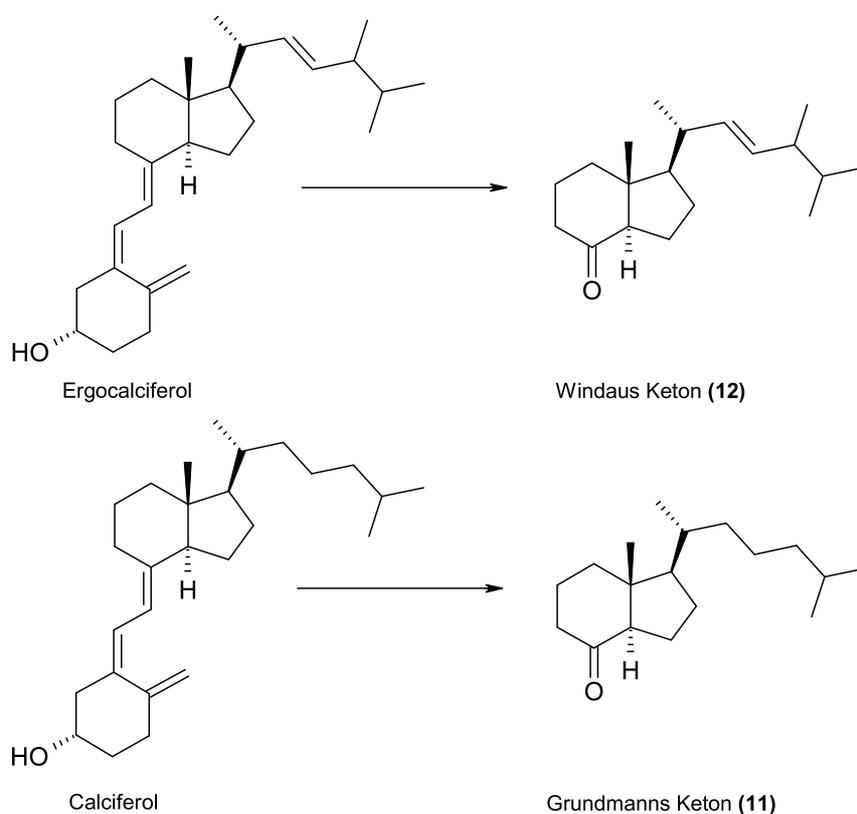


Abbildung 3-1: Ergocalciferol und Windaus Keton (**12**) und Calciferol und Grundmanns Keton (**11**)

Windaus und Grundmann spalteten hierzu die D-Vitamine oxidativ mit Kaliumpermanganat⁷⁴. In der moderneren Synthese wird zur Herstellung der Ketone **11** und **12** die Ozonolyse verwendet⁷⁵. Formal ist die Ozonolyse die Bildung einer Carbonylfunktion aus einem Alken und Ozon. Mechanistisch erfolgt zuerst die Bildung von Ozoniden, diese kann als Aufeinanderfolge von zwei [2+3]-Cycloadditionen und einer Cycloreversionen beschrieben werden. Entscheidende Zwischenprodukte sind die Primärozonide (1,2,3-Trioxolane), Sekundärozonide (1,2,4-Trioxolane) sowie Aldehyd- oder Ketonoxide, die alle eine kurze Lebensdauer besitzen⁷⁶.

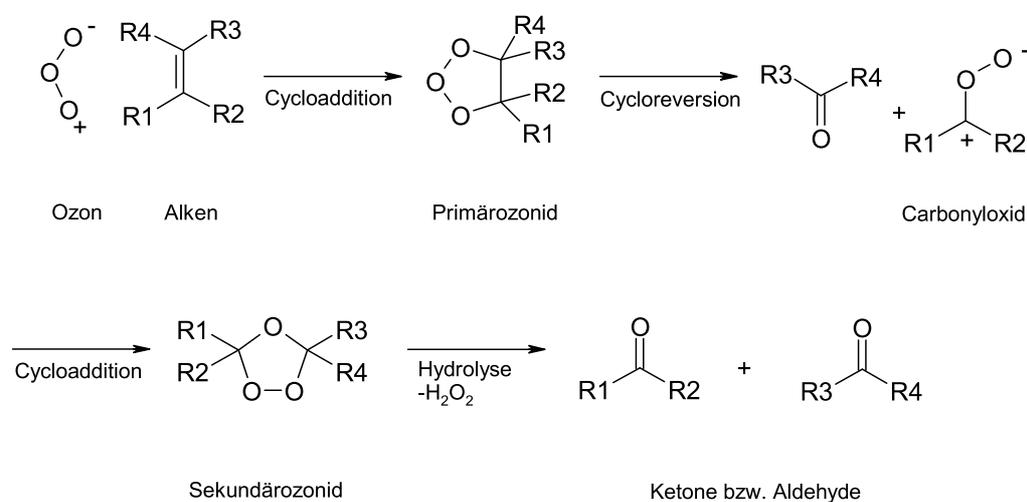


Abbildung 3-2: Mechanismus der Ozonolyse

Um das Keton **11** zu erhalten wurde auf eine reduktive Aufarbeitung verzichtet und die Reaktionsmischung lediglich hydrolysiert und mit Pentan extrahiert. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit Isohexan:Ethylacetat (98:2) als Eluent. Es konnte eine fast quantitative Ausbeute von 97 % erreicht werden.

3.2 Versuche der Synthese der Piperazine

Die Versuche zur Synthese der Piperazinderivate **1** und **2** erfolgten ausgehend von Grundmanns Keton (**11**) mittels kinetisch kontrollierter Silylierung, anschließender α -Bromierung und Umsetzung mit den entsprechenden Diaminen. Im ersten Schritt wurde Grundmanns Keton unter kinetischen Bedingungen in THF bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit LDA deprotoniert und mit Trimethylsilylchlorid (TMS-Cl) bei Raumtemperatur zum Silylenolether **13** umgesetzt⁷⁷:

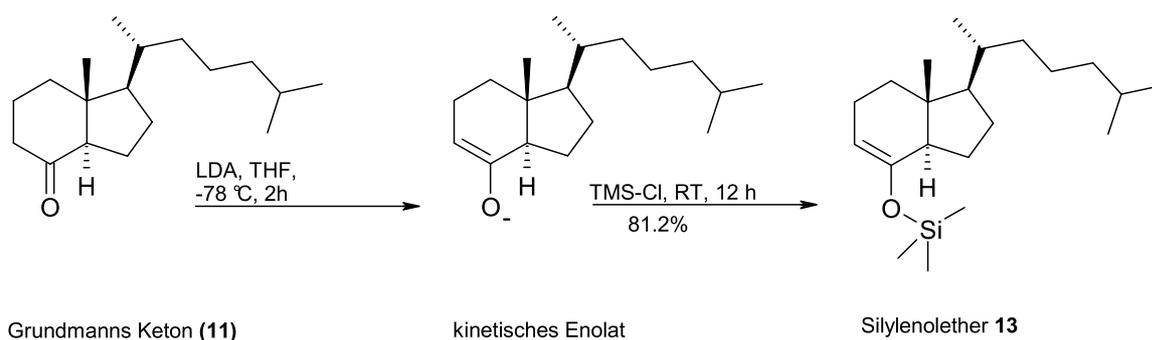


Abbildung 3-3: Bildung des Silylenolethers **13**

Der literaturbekannte Silylenolether **13** konnte mit einer Ausbeute von 81.2 % dargestellt werden. Die α -Bromierung erfolgte mittels N-Bromsuccinimid (NBS) in einem 1:1 THF/Wasser Gemisch in Anwesenheit von Natriumacetat. Es wird ein Bromoniumion gebildet, das die Doppelbindung elektrophil angreift. So wird unter Abspaltung von Trimethylsilanol das α -Bromketon **3** mit 56.4 % Ausbeute gebildet⁷⁰.

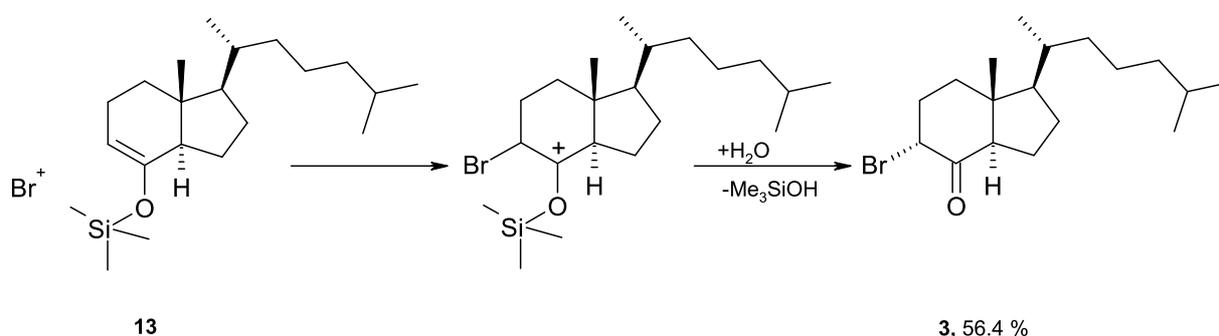


Abbildung 3-4: Reaktion des Silylenolethers **13** zum α -Bromketon **3**

Das entstandene α -Bromketon **3** wurde in Dioxan mit Ethylendiamin und NaBH_4 unter Stickstoffatmosphäre umgesetzt. Mechanistisch handelt es sich um zwei

Reaktionen, eine N-Alkylierung und eine reduktive Aminierung. Bei vergleichbaren Piperazinsynthesen wird postuliert, dass als Intermediat eine Schiff'sche Base entsteht⁷⁸.

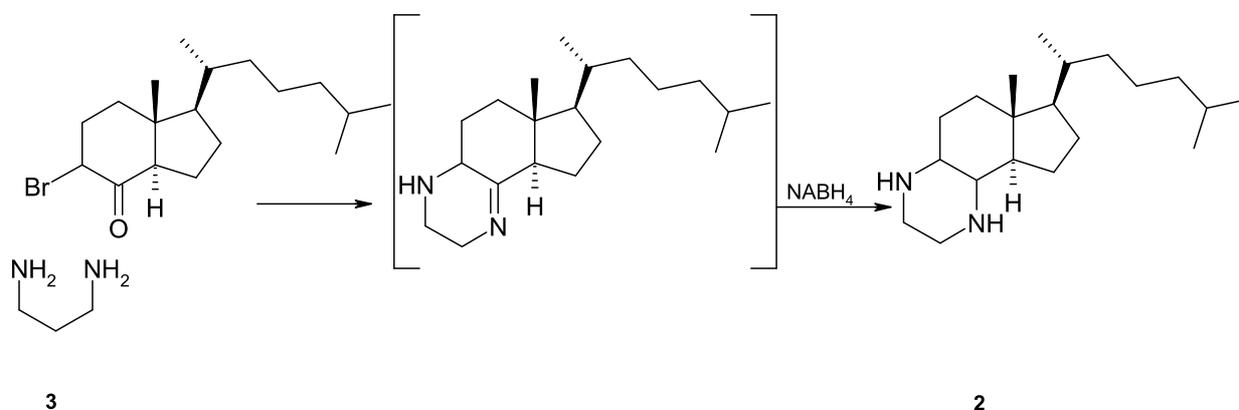


Abbildung 3-5: Bildung der Verbindung 2

Nach der Aufreinigung durch Extraktion und Waschen konnte im Rohprodukt mittels Massenspektrometrie und HRMS das Diamin **2** nachgewiesen werden. Eine vollständige Aufreinigung, sei es säulenchromatographisch, durch Ausfällen als Hydrochlorid oder Umkristallisation, schlug fehl. Mittels GC-MS-Analytik konnte festgestellt werden, dass das Rohprodukt aus vier Komponenten besteht; dem Edukt **11** (49.4 %), dem vermuteten Piperazin **2** (39.5 %) und zwei Verunreinigungen, die nicht charakterisiert werden konnten (4.2 bzw. 6.9 %).

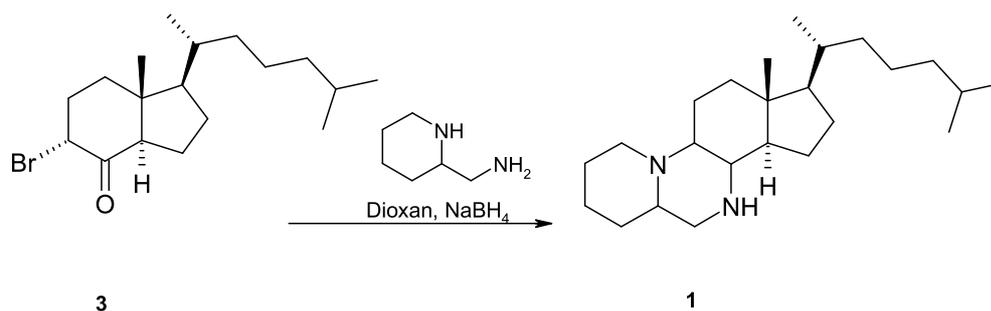


Abbildung 3-6: Bildung des Piperazins 1

Eine Umsetzung des α -Bromketons **3** mit 2-(Aminomethyl)piperidin zu dem Diamin **1** konnte mittels Massenspektrometrie nachgewiesen, das Produkt aber nicht aufgereinigt werden. Es konnten somit trotz umfangreicher Bemühungen keine

Piperazinderivate charakterisiert werden. Die Versuche mussten ohne Erfolg eingestellt werden.

3.3 Pyridine und Piperidine

Ausgehend von Grundmanns Keton (**11**) wurden die anellierten Pyridine erschlossen. Um zu den Produkten zugelangten wurden fünf verschiedene Wege besprochen.

3.3.1 Syntheseplanung Pyridine

Weg 1: In einer Lewisäure-katalysierten 1,4-Addition (Mukaiyama-Michael-Addition) sollte der Silylenolether **13** an Methylvinylketon addiert werden⁷⁹. Das resultierende Diketon **14** sollte mit Ammoniumacetat weiter zu dem *ortho*-methylierten Pyridin **15** umgesetzt werden.

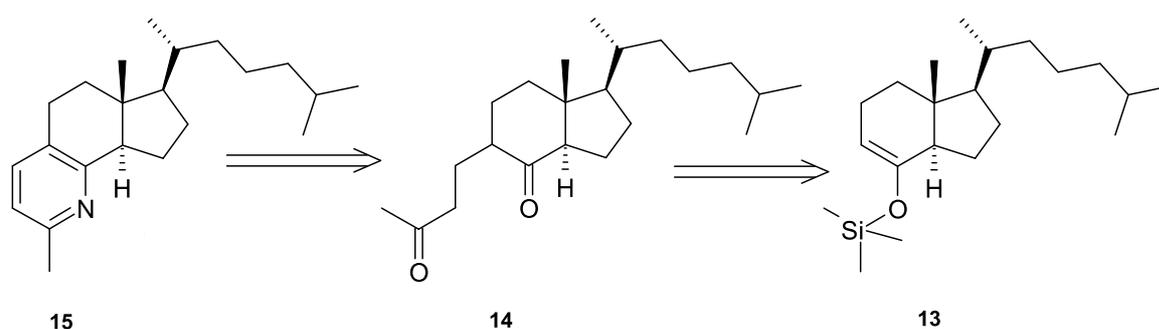


Abbildung 3-7: Retrosynthese der Pyridinsynthese über Weg 1

Weg 2: Grundmanns Keton (**11**) sollte mit Pyrrolidin zum Enamin **16** umgesetzt werden, welches über eine Diels-Alder-Reaktion mit inversem Elektronenbedarf mit 1,2,3-Triazinen zum Pyridin **9** bzw. **15** umgesetzt werden sollte^{80,81}.

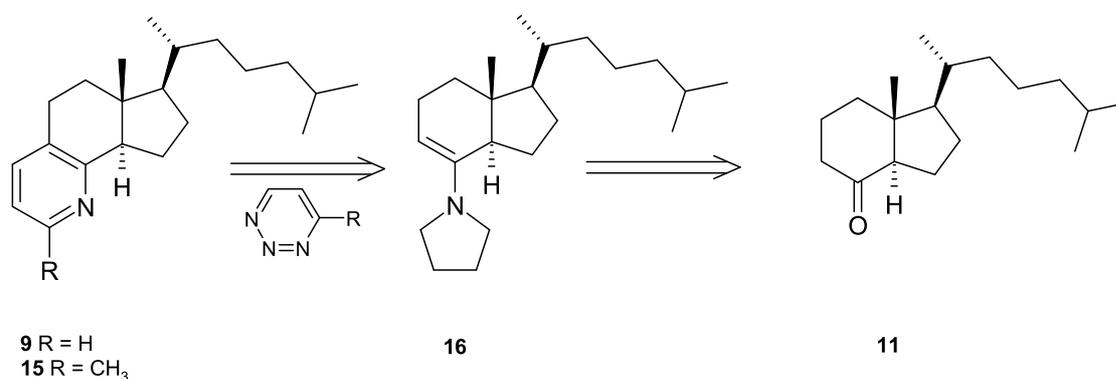
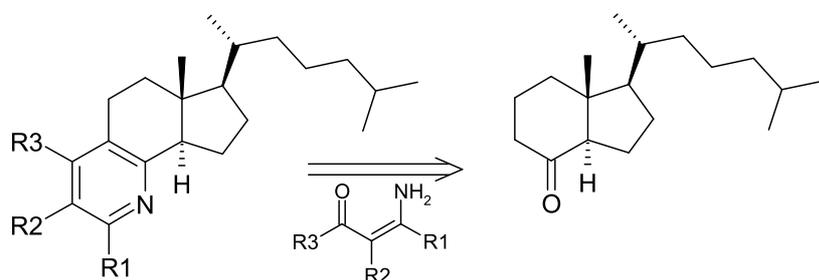


Abbildung 3-8: Retrosynthese der Pyridinsynthese über Weg 2

Weg 3: Grundmanns Keton (**11**) sollte direkt mittels zwei Kondensationsschritten mit verschiedenen β -Aminoketonen zu den entsprechenden Pyridinen **10**, **21** und **22** umgesetzt werden ^{82,83,84}.



10 R1, R2 = H, R3 = CH₃

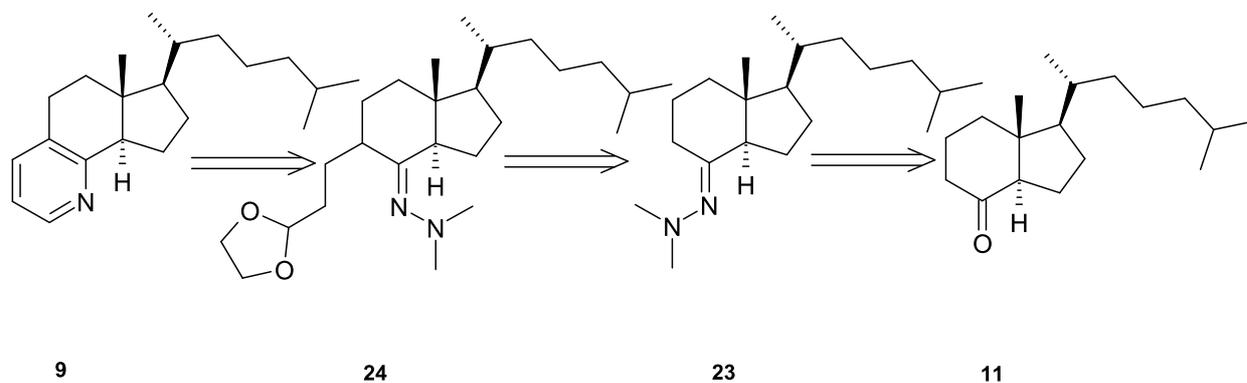
21 R1, R3 = CH₃, R2 = H

22 R1, R3 = H, R2 = CH₃

11

Abbildung 3-9: Retrosynthese der Pyridinsynthese über Weg 3

Weg 4: Ausgehend von Grundmanns Keton (**11**) sollte das Dimethylhydrazon **23** dargestellt werden. Aus Verbindung **23** sollte durch α -Deprotonierung und Alkylierung mit 2-(2-Brommethyl)-1,3-dioxolan (BED) Verbindung **24** dargestellt werden, welche durch Erhitzen in Essigsäure zum Pyridin **9** umgesetzt werden sollte ^{85,86}.



9

24

23

11

Abbildung 3-10: Retrosynthese der Pyridinsynthese über Weg 4

Weg 5: Grundmanns Keton (**11**) sollte zu den O-Allyloximen **27** und **28** umgesetzt werden, aus denen durch Thermolyse die Pyridine **9** und **10** dargestellt werden sollten^{87,88}.

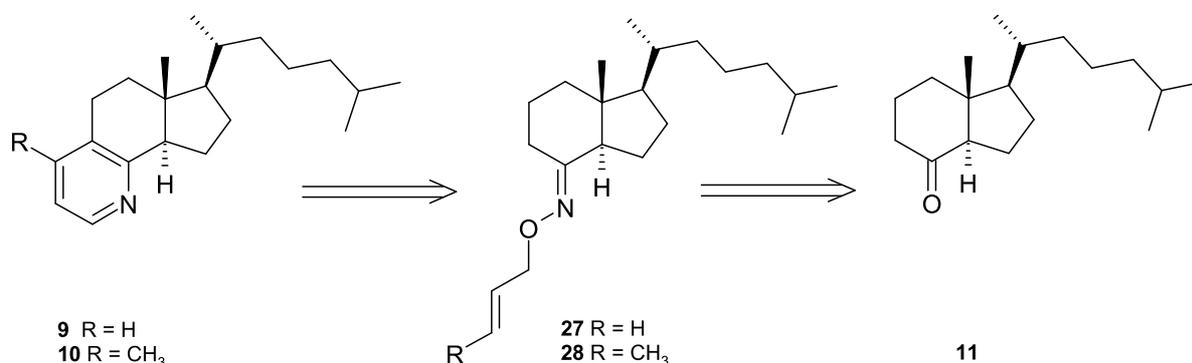


Abbildung 3-11: Retrosynthese der Pyridinsynthese über Weg 5

3.3.2 Pyridin-Synthesen

Weg 1: Der Silylenolether **13** sollte in Dichlormethan in Anwesenheit von Trimethylsilylchlorid (TMS-Cl) unter Zinn(II)chlorid-Katalyse⁷⁹ mit Methylvinylketon zum Diketon **14** umgesetzt werden.

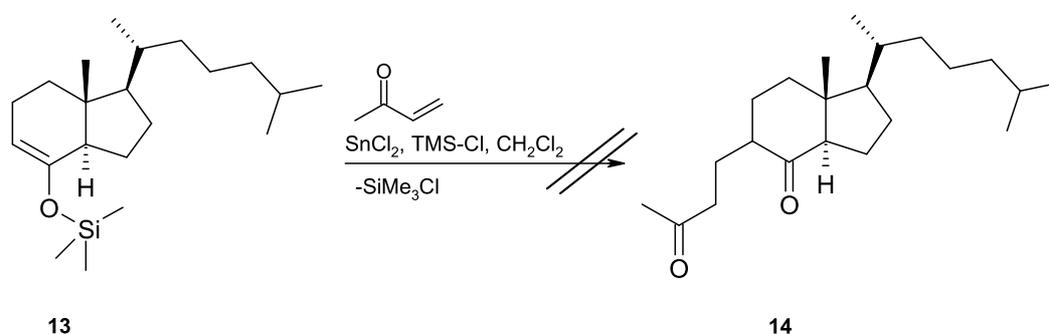


Abbildung 3-12: Versuchte Umsetzung des Silylenolethers **13** zum Diketon **14**

Es konnte mittels Dünnschichtchromatographie und Massenspektrometrie keine Umsetzung detektiert werden.

Weg 2: Grundmanns Keton (**11**) sollte mit Pyrrolidin zum Enamin **16** umgesetzt werden. Diese Umsetzung wurde auf zwei Arten versucht.

	Lösungsmittel	wasserentfernendes Agens	Katalysator
Bedingungen 1 ⁸⁹	Toluol	Molekularsieb 4Å	<i>p</i> -TsOH
Bedingungen 2	Acetonitril	HC(OMe) ₃	Sc(OTf) ₃

Tabelle 3-1: Zur Enanimbildung verwendete Bedingungen

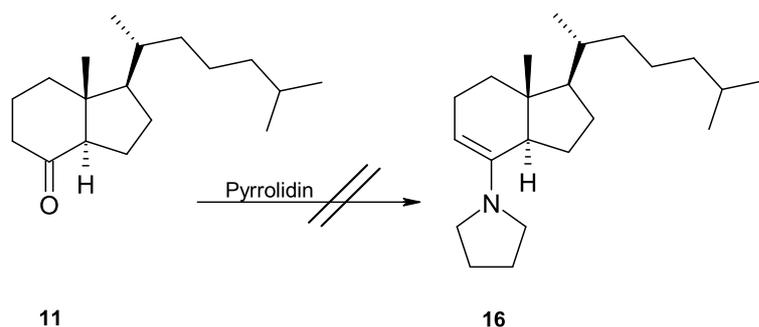


Abbildung 3-13: Enaminbildung gefolgt von einer Diels-Alder-Reaktion

Bei beiden Bedingungen konnte mittels Dünnschichtchromatographie und Massenspektrometrie keine Umsetzung zur Verbindung **16** detektiert werden.

Weg 3: Bei diesem Syntheseweg wurde versucht die β -Aminoketone **18** und **19** und den β -Aminoaldehyd **20** mit Grundmanns Keton (**11**) zu den entsprechenden Pyridinen **10**, **21** und **22** umzusetzen.

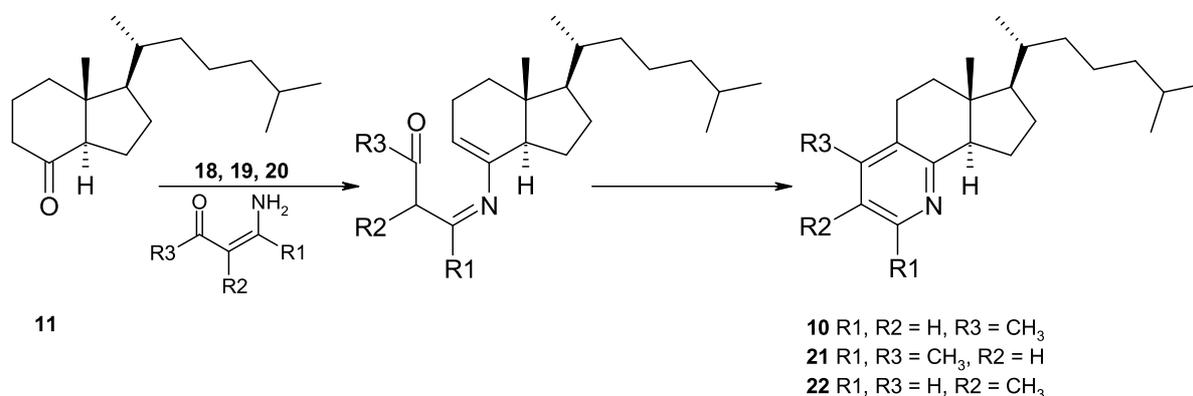


Abbildung 3-14: Reaktionsmechanismus der Bildung von Pyridinen aus Acroleinderivaten

Zur Synthese des Eduktes **18** wurden Aceton und Ethylformiat nach Literaturbedingungen zur bekannten Verbindung **17** umgesetzt^{90,91}. Anstelle von Natriumethanolat wurde Kalium-*tert.*-butanolat als Base eingesetzt. Die anschließende Umsetzung zum literaturbekannten 4-Amino-but-3-en-2-on (**18**) schlug wider Erwarten fehl.

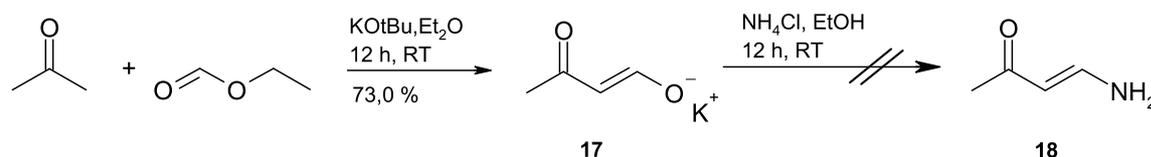


Abbildung 3-15: Synthese von Verbindung **17** und versuchte Umsetzung zu Amino-but-3-en-2-on (**18**)

Somit konnte auf diese Weise das *para*-substituierte Pyridin **10** nicht synthetisiert werden.

Das Edukt **19** wurde durch Aminolyse von 3-Ethoxymethacrolein nach Literaturbedingungen⁹² synthetisiert.

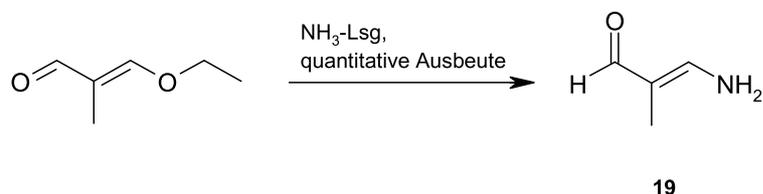


Abbildung 3-16: Bildung von 2-Methyl-3-aminoacrolein

Das Edukt 4-Amino-3-penten-2-on (**20**) konnte gekauft werden. Das Aminoacroleinderivat **19** und das β -Aminoketon **20** wurden unter Einwirkung von Mikrowellenstrahlung mit Grundmanns Keton (**11**) umgesetzt. Die Reaktionen wurden unter folgenden an die Literatur angelehnten Bedingungen durchgeführt.

Lösungsmittel	Hilfsstoff	Reaktionszeit	Produkt	Ausbeute
Eisessig	-	4 h	21	-
Eisessig	-	2 h	22	8.7 %
Triethylamin	Piperidiniumacetat	6 min	22	9.0 %

Tabelle 3-2: Reaktionsbedingungen Weg 3

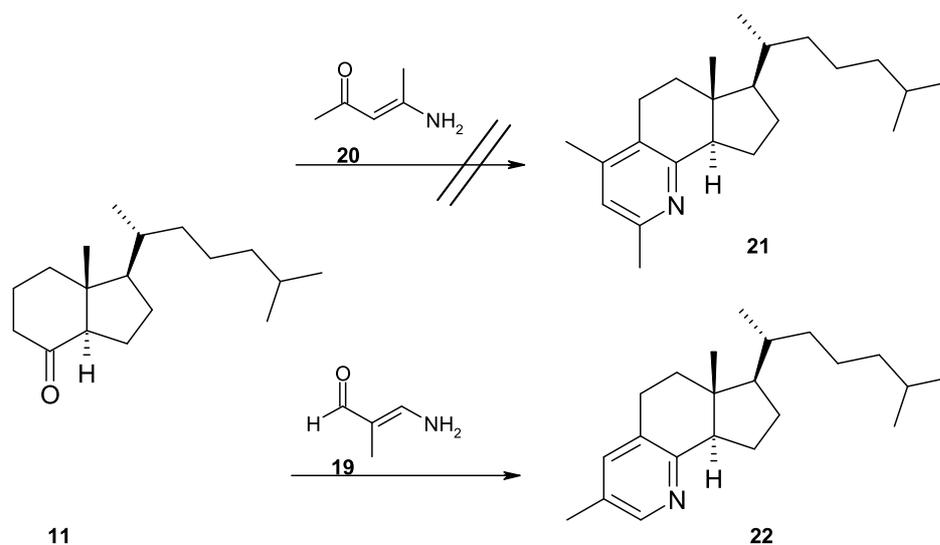


Abbildung 3-17: Über Weg 3 gebildetes Produkt 22

Es konnte erstmals das *meta*-substituierte Pyridin **22** synthetisiert werden. Es gelang auf diese Weise nicht eine Methylgruppe in *para*-Position (Pyridine **10** und **21**) einzuführen. Diese ist CH-acide und hätte über eine Reihe von Schritten den Aufbau eines A-Rings ermöglichen sollen.

Weg 4: Es wurde Grundmanns Keton (**11**) mit N,N-Dimethylhydrazin in Ethanol unter Mikrowellenbedingungen zu dem Hydrazone **23** kondensiert. Dieses wurde mit LDA zum kinetischen Enolat deprotoniert und mit 2-(2-Bromethyl)-1,3-dioxolan (BED) zu Verbindung **24** umgesetzt.

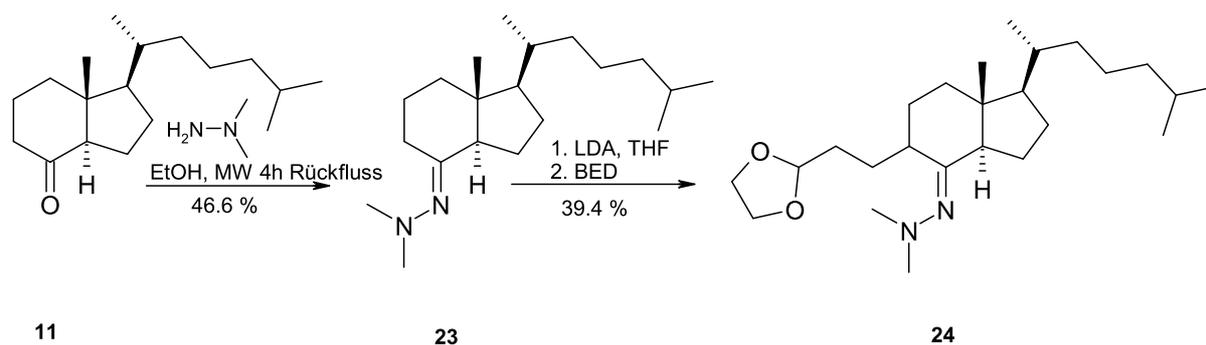


Abbildung 3-18: Weg 4: Darstellung von Verbindung 24

Verbindung **24** wurde in Essigsäure unter Mikrowellenbedingungen zu dem unsubstituierten Pyridin **9** umgesetzt. Durch die Säure wird das Acetal gespalten und

es kann ein nukleophiler Angriff des freien Elektronenpaares des Stickstoffs stattfinden. Unter Kondensation und Abspaltung von Dimethylamin entsteht das Produkt **9**.

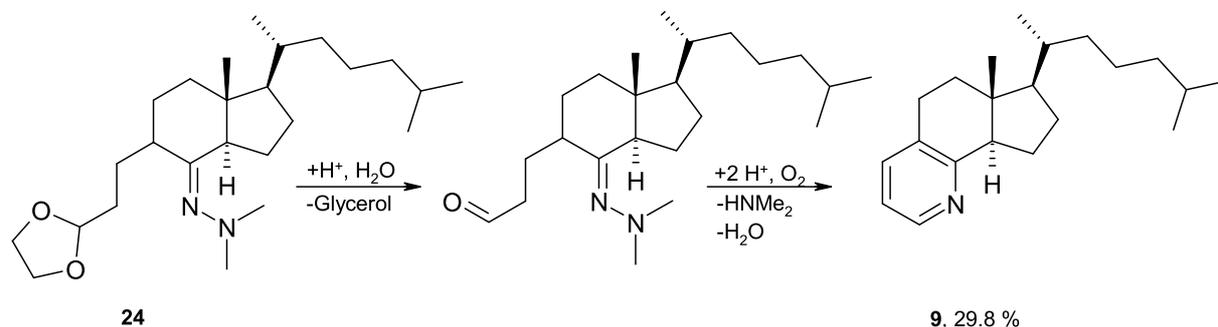


Abbildung 3-19: Bildung des Pyridins **9**

Auf diese Weise konnte erstmals das unsubstituierte Pyridin **9** hergestellt werden.

Weg 5: Grundmanns Keton (**11**) wurde mit O-Allylhydroxylamin (**25**, R = H) bzw. O-Crotylhydroxylamin (**26**, R = CH₃) in Ethanol in Anwesenheit von Na₂CO₃ zu den O-Allyloximen **28** und **29** umgesetzt.

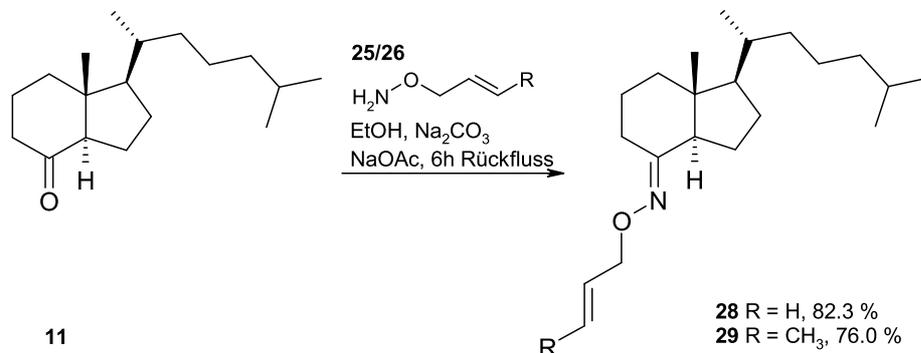


Abbildung 3-20: Synthetisierte O-Allyloxime **28** und **29**

O-Allylhydroxylamin (**25**) ist käuflich erwerblich. O-Crotylhydroxylamin (**26**) wurde über eine Gabriel-Synthese mit Abspaltung durch Hydrazin⁹³ synthetisiert. Crotylchlorid wurde in DMSO mit N-Hydroxyphthalimid in Anwesenheit von Kaliumcarbonat zu dem N-Crotyloxyphthalimid (**27**) umgesetzt. Durch Hydrazinolyse entsteht das literaturbekannte⁸⁷ Edukt **26**.

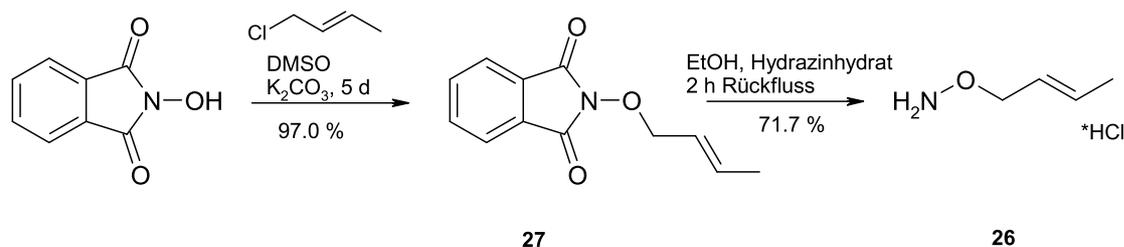


Abbildung 3-21: Bildung von O-Crotylhydroxylamin (26)

Es wurde unter verschiedenen Bedingungen versucht, das O-Allyloxim **28** zum Pyridin **9** umzusetzen:

Bedingungen	Lösungsmittel	Temperatur	Reaktionszeit	Ausbeute
1 (geschlossen ⁸⁸)	-	180 °C	70 h	-
2 (offen ⁹⁴)	H ₂ O/DMSO	100 °C	4 h	-
3 (offen)	Benzol	Rückfluss	50 h	-
4 (offen)	Naphthalin	Rückfluss	20 h	-
5 (geschlossen)	Benzol	200 °C	20 h	-
6 (MW, geschlossen)	-	200 °C	25 min	21.3 %
7 (MW, geschlossen)	-	220 °C	5 min	28.2 %
8 (MW, geschlossen)	-	150 °C	45 min	-
9 (MW, geschlossen)	-	150 °C	4 h	-
10 (MW, geschlossen)	-	220 °C	3 min	27.2 %
11 (MW, geschlossen)	-	220 °C	6 min	23.1 %
12 (MW, offen)	DMSO	Rückfluss	1 h	-

Tabelle 3-3: Reaktionsbedingungen zur Synthese des Pyridins **9**

Tabelle 3-3 zeigt, dass die Reaktion ausschließlich unter thermolytischen Bedingungen mit Mikrowelleneinstrahlung abläuft. Die beste Ausbeute (28.2 %) konnte mit den Bedingungen 7 erreicht werden. Es muss mindestens eine Temperatur von 200 °C erreicht werden, um die Reaktion zu ermöglichen. Die hohen Temperaturen unter Mikrowellenstrahlung führen zwar zur Bildung des gewünschten Pyridins **9**, aber auch zu einer nennenswerten Zersetzung des Edukts unter Bildung nicht identifizierbarer Nebenprodukte. Mechanistisch handelt es sich bei dieser

Reaktion laut Literatur⁸⁷ um eine [2,3]-sigmatrope Umlagerung, gefolgt von einer electrocyclischen Reaktion, die zur Bildung des Pyridinringes **9** führt.

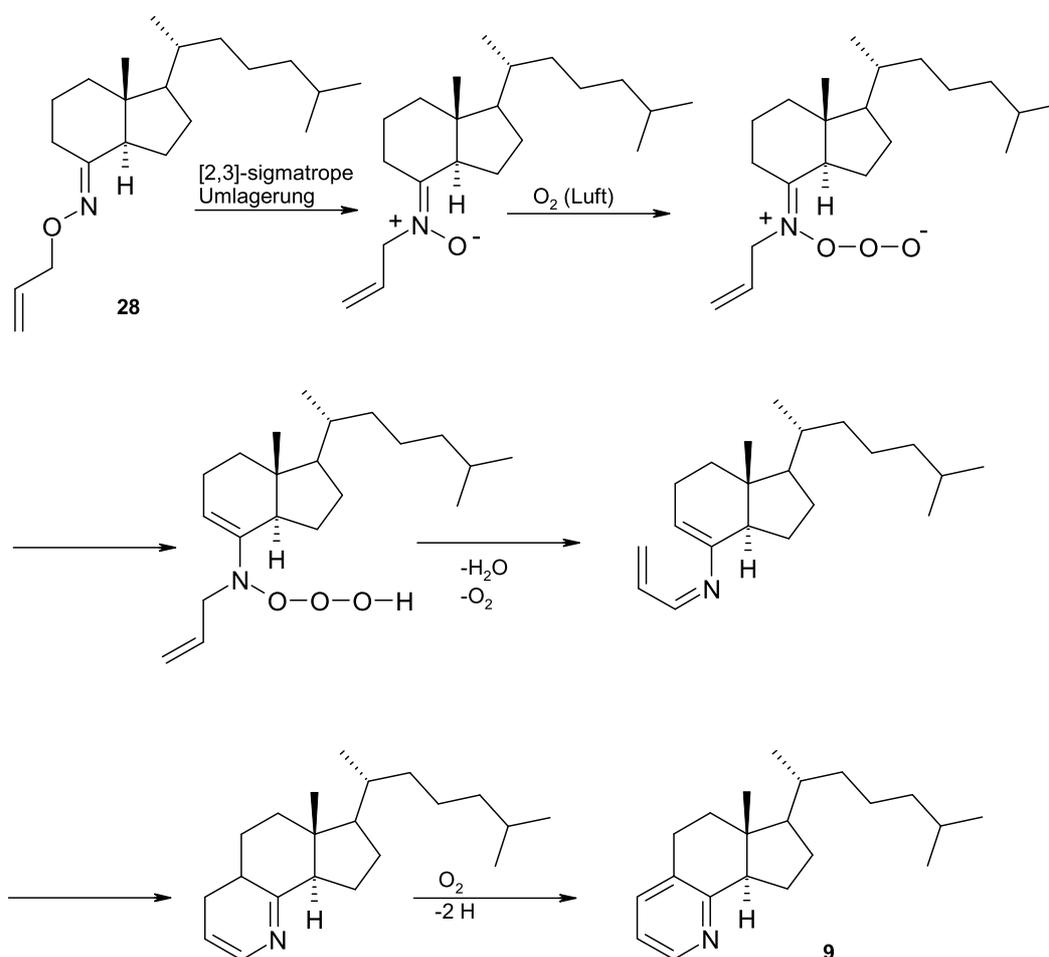


Abbildung 3-22: Bildung des Pyridins **9**

Ein analoger Ringschluss der Verbindung **29** sollte zu dem Pyridin **10** mit Methylgruppe in 4-Position führen. Durch die Auswertung der spektroskopischen Daten wurde entdeckt, dass wider Erwarten das *ortho*-methylierte Pyridin **15** entstanden ist. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des entstandenen Pyridins ist das charakteristische Signal des *ortho*-ständigen Protons des Pyridinrings bei etwa 8.59 ppm⁹⁵ (Verschiebungen für Pyridin) nicht vorhanden, dafür aber das Signal eines *para*-ständigen Protons bei 7.22 ppm (vgl. Literatur: 7.75 ppm) und eines *meta*-ständigen Protons bei 6.84 ppm (vgl. Literatur: 7.38 ppm). Es kann vermutet werden, dass die Methylgruppe im Edukt **26** in *pro-para*-Position ist, da im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum die chemische Verschiebung der Methylengruppe bei 4.46 ppm liegt. Würde es sich um eine terminale, olefinische CH_2 -Gruppe handeln, würde eine signifikante

Tieffeldverschiebung auftreten (vgl. Methinprotonen in Verbindung **26**: 5.88 bzw. 5.56 ppm). Anhand des Aufspaltungsmusters kann nicht argumentiert werden, da beide möglichen Verbindungen die gleiche Aufspaltung aufweisen (siehe Abb. 3-23).

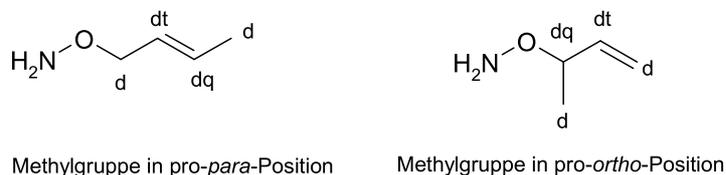


Abbildung 3-23: Mögliche Strukturen für Verbindung 26 mit ^1H -NMR-Aufspaltungen

Auch in den NMR-Daten der direkten Synthesevorstufe **29** erscheint die Methylgruppe wieder bei 4.45 ppm und die Signale der Methinprotonen finden sich im deutlich tieffeldverschoben Bereich bei 5.72 bzw. 5.66 ppm. Es kann davon ausgegangen werden, dass auch hier die Methylgruppe noch in der pro-*para*-Position ist, und dass erst während der Thermolyse eine in der Literatur beschriebene^{87,88} Allyl-Umlagerung stattfindet, so dass das Pyridin **15** mit der Methylgruppe in *ortho*-Position entstand.

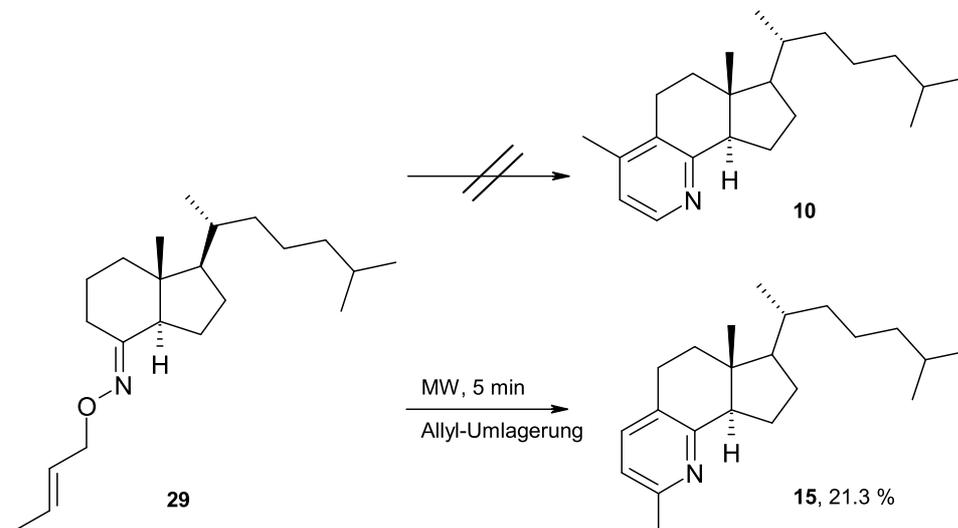


Abbildung 3-24: Bildung des Pyridins 15 aus dem O-Crotyloxim 29

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass über drei der fünf getesteten Wege anellierte Pyridine (**9**, **15**, **22**) synthetisiert werden konnten. Das unsubstituierte Pyridin **9** lässt sich über die Wege 4 und 5 darstellen. Das in *meta*-Position methylierte Pyridin **22** ist über Weg 3 zugänglich und das *ortho*-methylierte Pyridin **15**

konnte über Weg 5 erschlossen werden. Das *para*-methylierte Pyridin **10** konnte nicht dargestellt werden.

3.3.3 Versuche zur Synthese der Piperidine

Nach Bildung des Pyridinringes sollte der Pyridinstickstoff quarterniert⁹⁶ werden und das gebildete Pyridiniumsalz **30** partiell⁹⁷ und anschließend vollständig⁹⁸ hydriert werden bzw. der Pyridinring in **9** gleich in einem Schritt vollständig hydriert werden⁹⁹.

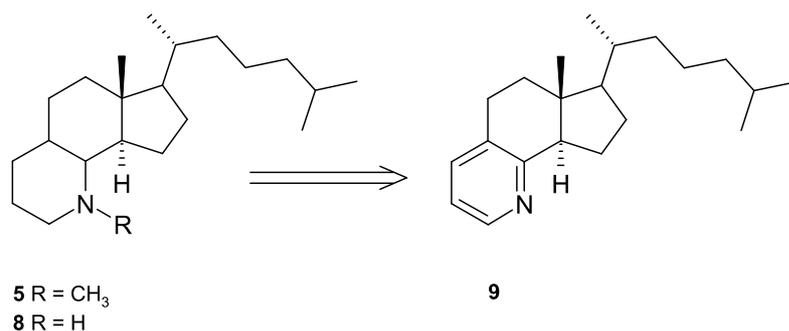


Abbildung 3-25: Retrosynthese der geplanten Reduktionen

Um das Pyridin **9** in das korrespondierende Tetrahydropyridin **31** umsetzen zu können, wurde zuerst das Pyridin **9** in Aceton mit Methyljodid zu dem Pyridiniumsalz **30** umgesetzt.

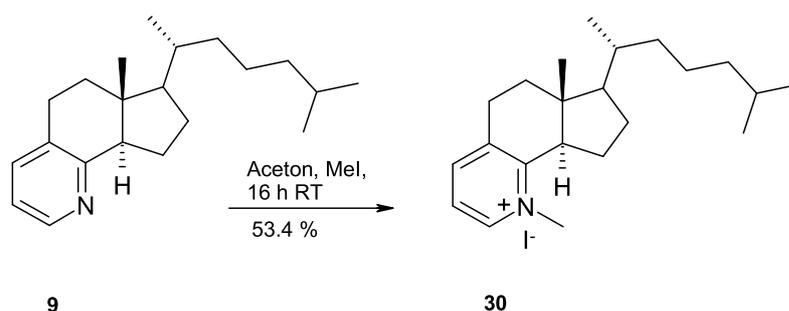


Abbildung 3-26: Darstellung des Pyridiniumsalzes **30**

Durch seine sich vom Pyridin unterscheidende Ladungsverteilung, wird ein Pyridiniumsalz durch Natriumborhydrid nicht vollständig reduziert, sondern zum Tetrahydropyridin umgesetzt¹⁰⁰. Initialisierend ist ein Hydridtransfer vom NaBH₄ auf einen ortho-Kohlenstoff des Pyridiniumrings (Iminium-Partialstruktur). Das gebildete Enaminsystem wird durch ein protisches Lösungsmittel (hier Ethanol) zu einem

Iminiumion protoniert. Abschließend wird erneut von NaBH_4 ein Hydridion addiert, es entsteht das Tetrahydropyridin mit einer Doppelbindung zwischen der höchstsubstituierten *meta*- und der *para*-Position.

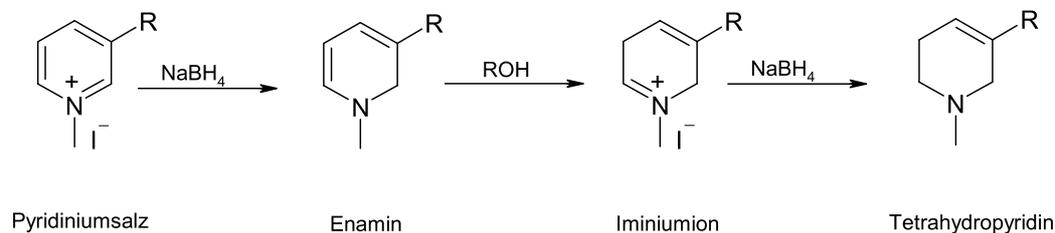


Abbildung 3-27: Allgemeiner Mechanismus der partiellen Reduktion eines Pyridiniumsalzes

Der zweite Reduktionsschritt wurde als katalytische Hydrierung in CH_2Cl_2 mit Palladium auf Aktivkohle versucht.

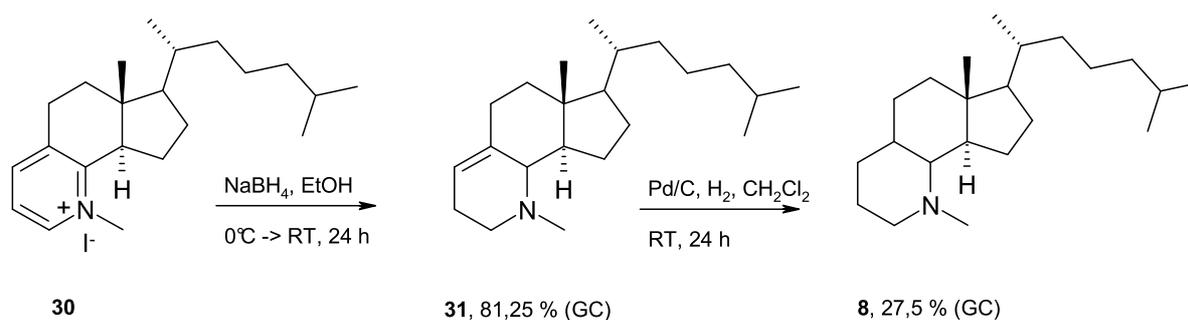


Abbildung 3-28: Reduktion der Verbindung 29 in zwei Schritten

Die Reduktion in zwei Schritten konnte mittels GC-MS nachgewiesen werden, die Produkte **31** und **8** konnten aber trotz zahlreicher Aufreinigungsversuche nicht in Reinform isoliert werden.

Zur alternativen vollständigen Hydrierung des Pyridinrings in **9** in einem Schritt wurden folgende Bedingungen getestet:

Katalysator	Lösungsmittel
Rh/ Al_2O_3	MeOH
Raney-Nickel	EtOH
Pd/C	CH_2Cl_2

Tabelle 3-4: Zur Hydrierung der Verbindung 9 getestete Bedingungen

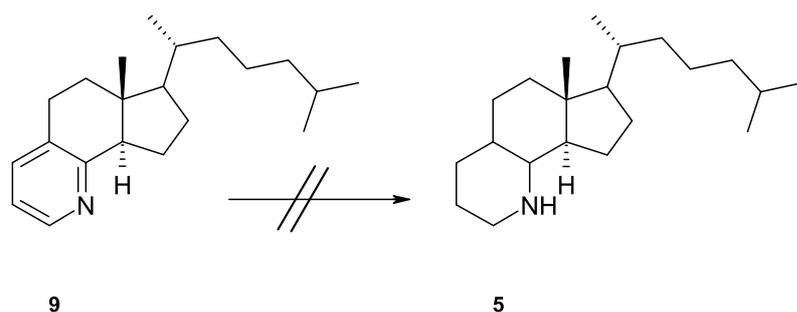


Abbildung 3-29: Versuch der Hydrierung des Pyridins **9**

Es konnte mittels DC keine Umsetzung zum gewünschten Produkt **5** detektiert werden. Die Versuche der Darstellung von Piperidinen wurden daher eingestellt.

3.4 Acetale, N,O-Acetale und Aminale

Da mittels der zuvor vorgestellten Möglichkeiten keine protonierbaren sp^3 -hybridisierten Stickstoffatome in die nach Sterolnomenklatur Positionen 7 oder 10 eingeführt werden konnten, sollte mittels Spiroverbindungen versucht werden protonierbare Stickstoffatome in Positionen einzuführen, die den Ringpositionen 4 und/oder 7 von Sterolen nahekommen. Es sollten Acetale mit basischen Seitenketten, N,O-Acetale und Aminale evtl. auch mit basischen Seitenketten dargestellt werden (siehe Abb. 1-30).

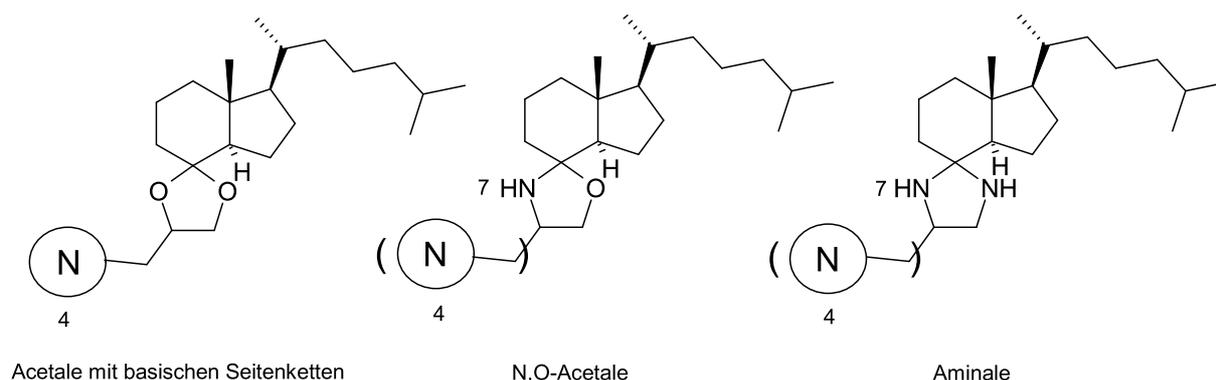


Abbildung 3-30: Allgemeine Strukturen der angestrebten Spiroverbindungen

3.4.1 Acetale

Nach dem Vorbild des Ketoconazols (siehe Abb. 1-28) sollten fünfgliedrige Acetale mit basischer Seitenkette ausgehend von Grundmanns Keton (**11**) synthetisiert

werden. Dazu wurden zuerst verschiedene Reaktionsbedingungen am Beispiel des unsubstituierten Dioxolans getestet.

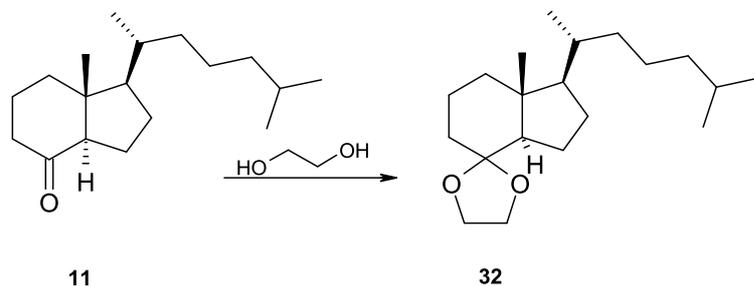


Abbildung 3-31: Bildung des Dioxolans 32

Bed.	Lösungs- mittel	Wasserentfernung durch	Katalysator (Menge)	Temperatur	Zeit	Ausbeute
1 ¹⁰¹	-	-	I ₂ (5 mol%)	RT	16 h	-
2 ¹⁰²	Benzol	Wasserabscheider	TsOH (0.3 eq)	Rückfluss	5 h	41.3 %
3	Acetonitril	MgSO ₄ / HC(OMe) ₃	Sc(OTf) ₃ (2 mol%)	RT	12 h	-
4	Acetonitril	MgSO ₄ / HC(OMe) ₃	Sc(OTf) ₃ (2 mol%)	Rückfluss	4 h	-
5	Acetonitril	HC(OMe) ₃ und Wasserabscheider	Sc(OTf) ₃ (1 mol%)	Rückfluss	4 h	45.5 %
6 ¹⁰³	CH ₂ Cl ₂	Wasserabscheider	Sc(OTf) ₃ (2 mol%)	Rückfluss	6 h	-
7	Acetonitril	MgSO ₄	Sc(OTf) ₃ (3 mol%)	Rückfluss (MW)	2 h	-
8	Acetonitril	HC(OMe) ₃	Sc(OTf) ₃ (6 mol%)	Rückfluss (MW)	2 h	56.7 %

Tabelle 3-5: Angewandte Methoden zur Synthese von Verbindung 32

Die besten Ausbeuten konnten mit den Bedingungen 8 erreicht werden, die in Anlehnung an die Literatur¹⁰⁴ entwickelt wurden. Als Katalysator wird die Lewisäure Scandiumtriflat verwendet. Lewisäuren wie BF₃·Et₂O fanden schon früher

Anwendung als Katalysatoren bei Acetalisierungen¹⁰⁵. Scandiumtriflat wurde 1995 vom Fukayawa und Hiyama¹⁰⁶ als effizienter Katalysator zur Darstellung chiraler Acetale beschrieben. Es ist neben Lutetiumtriflat der effizienteste Katalysator unter den Lanthaniod(III)triflaten. Der Vorteil von Lewisäure-katalysierten Acetalisierungen ist, dass die Reaktion unter milden, aprotischen Bedingungen abläuft.

Es wurde versucht die entwickelte Methode auf die Synthese von Acetalen mit basischen Seitenketten zu übertragen. Es konnte auf diesem Wege jedoch keines der gewünschten Acetale **33-37** dargestellt werden.

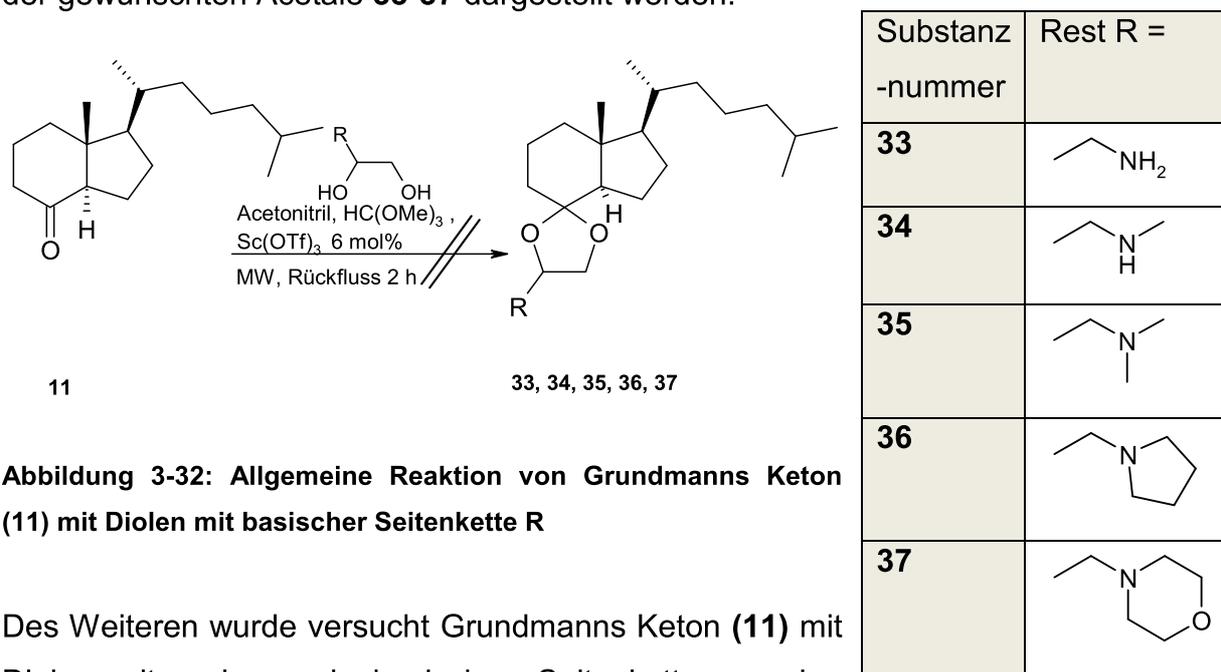


Abbildung 3-32: Allgemeine Reaktion von Grundmanns Keton (**11**) mit Diolen mit basischer Seitenkette R

Des Weiteren wurde versucht Grundmanns Keton (**11**) mit Diolen mit anderen als basischen Seitenketten zu den Acetalen **38-40** umzusetzen. Durch Umsetzung mit Glycerol konnte das Hydroxymethyldioxolan **39** in 93 % Ausbeute erhalten werden, die Acetalbildung mit Glycerinaldehyd gelang hingegen nicht.

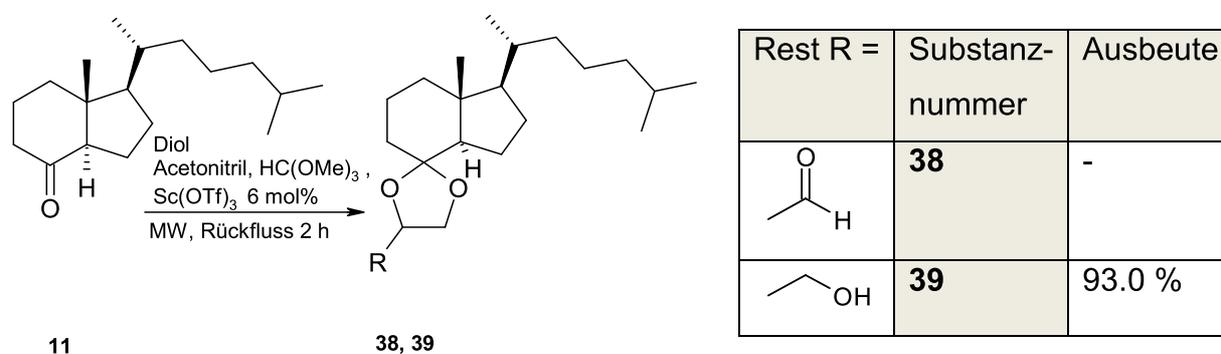


Abbildung 3-33: Versuche zur Umsetzung mit nicht basischen Diolen

Ebenso wenig gelang eine Umsetzung von **11** mit Milchsäure zum 4-Oxodioxolan **40**.

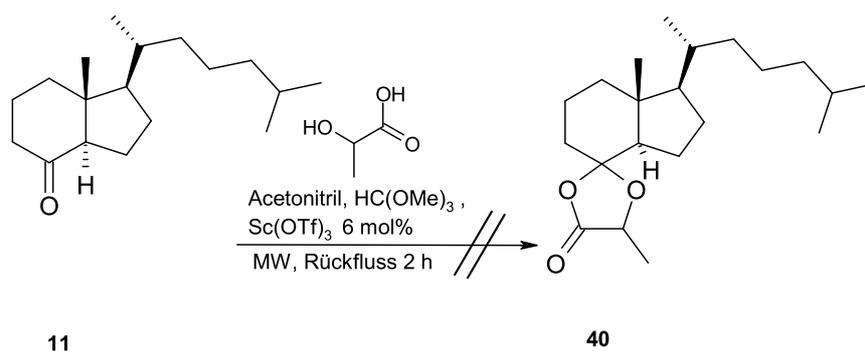


Abbildung 3-34: Versuch zur Umsetzung von **11** mit Milchsäure

Die neu in das Molekül eingeführte Aldehydgruppe der Verbindung **38** hätte dann mittels reduktiver Aminierung zu einem Amin umgesetzt werden sollen. Durch diese indirekte Vorgehensweise sollten die Probleme bei der direkten Bildung von basischen Acetalen umgangen werden.

Das Acetal **39** besitzt eine primäre Hydroxyfunktion. Diese sollte auf zwei Wegen zu einem Acetal mit basischer Seitenkette umgesetzt werden. Erstens durch Veresterung mit Säurechloriden von Aminocarbonsäuren. Die Veresterung wurde auf je zwei Weisen mit drei unterschiedlichen Säurechloriden versucht, erstens in trockenem Pyridin¹⁰⁷ bei Raumtemperatur und zweitens mit 1-Methylimidazol, *N,N,N',N'*-Tetramethylethylendiamin (TMEDA) und K_2CO_3 in Acetonitril¹⁰⁸ bei Raumtemperatur. Bei keiner der beiden Methoden entstand das gewünschte Produkt.

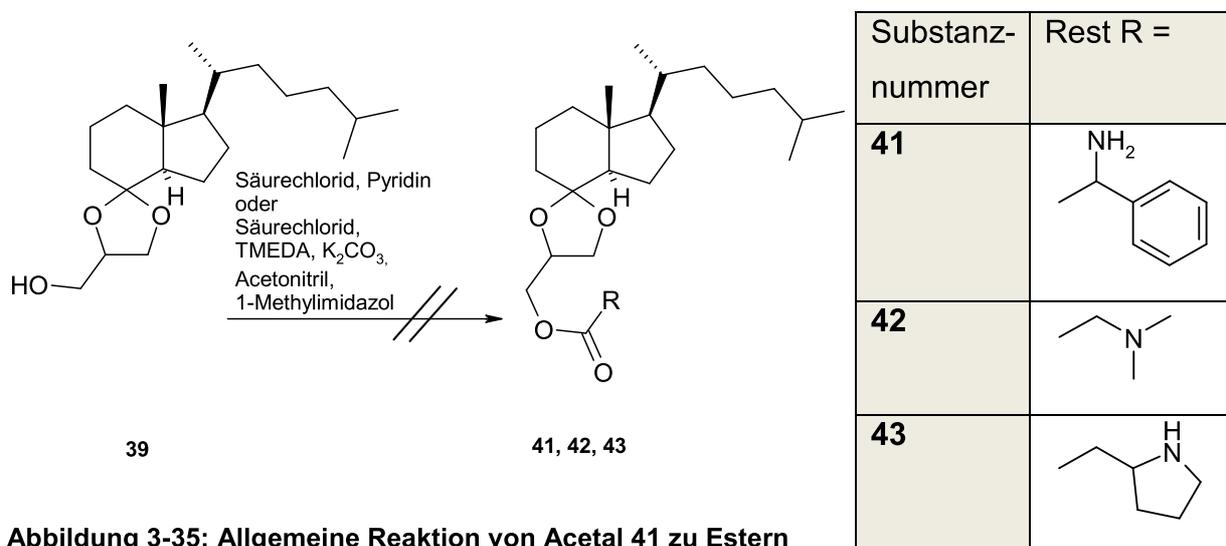


Abbildung 3-35: Allgemeine Reaktion von Acetal **41** zu Estern

Als zweite Möglichkeit zur Funktionalisierung des Acetals **39** wurde die Oxidation der Hydroxygruppe zum Aldehyd **38** und anschließende reduktive Aminierung versucht. Eine Collins-Reaktion¹⁰⁹ in CH_2Cl_2 mit Pyridiniumchlorochromat (PCC) schlug jedoch fehl.

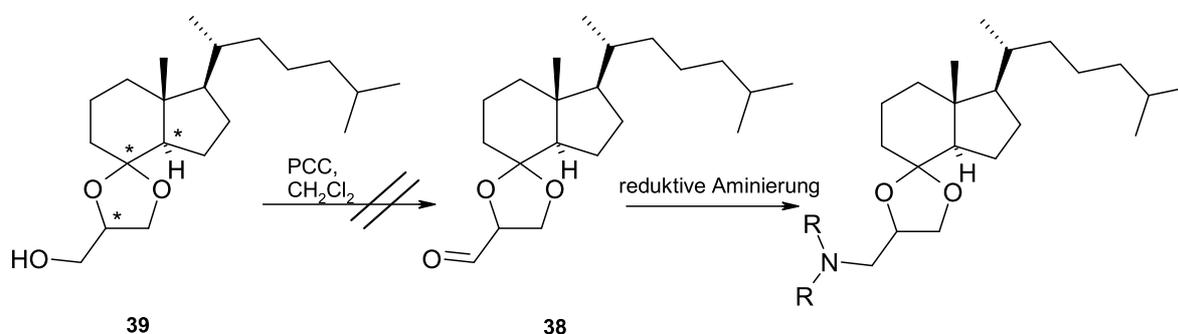


Abbildung 3-36: Versuchte Collins-Oxidation von Acetal **40**

Bei Auswertung des ^{13}C -NMR-Spektrums fiel auf, dass es bei dem Acetal **39** einen vielfachen Signalsatz gab, was auf Stereoisomere hindeutete. Das Molekül besitzt zwei neugebildete chirale Zentren und das Stereozentrum an C-3a', das zur Epimerisierung neigt¹¹⁰ (siehe Abbildung 3-36). Es sind also acht Stereoisomere (2^n) denkbar. Mittels GC-MS konnte nachgewiesen werden, dass ein komplexes Gemisch von bis zu sieben Stereoisomeren gebildet wurde. Aus diesem Grund wurden keine weiteren Experimente mit dem Acetal **39** durchgeführt.

Um die Bildung von weiteren Stereoisomeren zu vermeiden, wurde nun versucht sechsgliedrige Acetale (1,3-Dioxane), die eine höhere Symmetrie als Dioxolane aufweisen, darzustellen. Hierzu wurde Grundmanns Keton (**11**) nach der zuvor entwickelten Methode mit 2-Methylen-1,3-propandiol zum Acetal **44** umgesetzt, welches anschließend in CH_2Cl_2 einer Ozonolyse unterzogen wurde¹¹¹. Es entstand das Keton **45**. Dieses Produkt könnte theoretisch auch durch direkte Acetalisierung von **11** mit 1,3-Dihydroxyaceton dargestellt werden. 1,3-Dihydroxyaceton dimerisiert aber und ist nur als Dimer käuflich. In wässriger Lösung zerfällt das Dimer zwar zum Monomer¹¹², wässrige Bedingungen eignen sich aber nicht zur Acetalisierung. Aus diesem Grund musste der Umweg über die Verbindung **44** eingeschlagen werden.

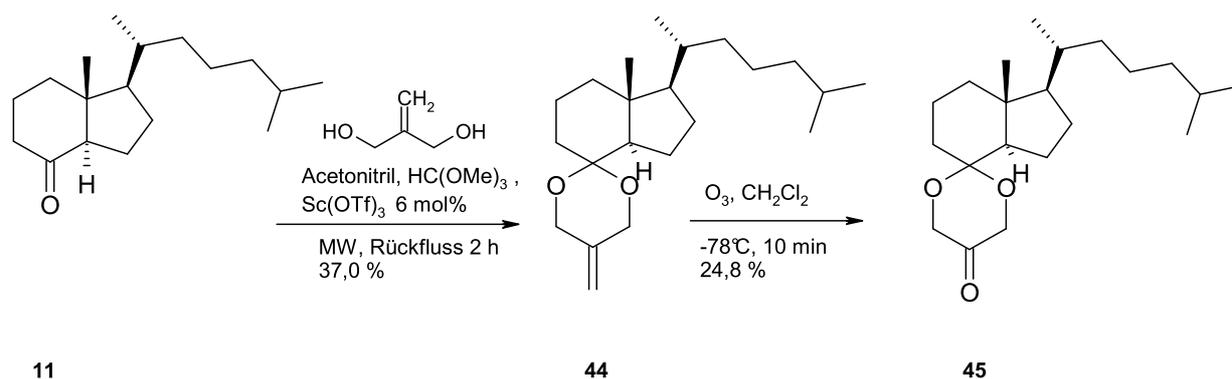


Abbildung 3-37: Darstellung der Verbindungen 44 und 45

Das Keton **45** sollte anschließend mittels reduktiver Aminierung zu sechsgliedrigen Acetalen mit basischen Seitenketten umgesetzt werden.

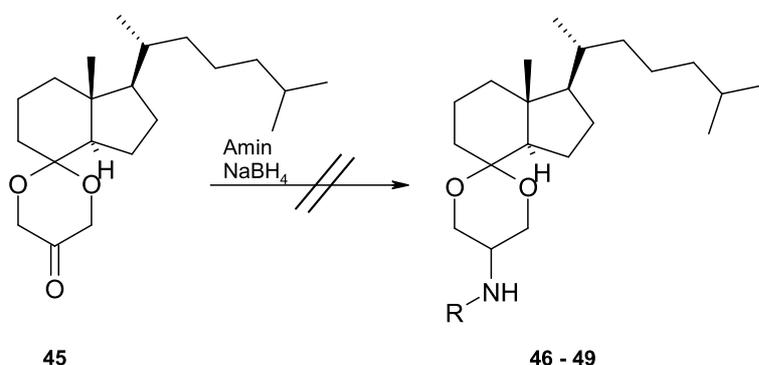


Abbildung 3-38: Versuche zur reduktiven Aminierung des Ketons 45

Da die Acetale sehr säurelabil sind, konnte keine der Standardmethoden, die Säurekatalyse erfordern, benutzt werden. Stattdessen wurde die reduktive Aminierung mit Molsieb¹¹³, ohne Hilfsstoff¹¹⁴ bzw. mit Magnesiumperchlorat¹¹⁵ als Katalysator versucht. Als Reduktionsmittel wurde NaBH₄ verwendet. Bei keiner der Umsetzungen konnte ein Produkt erhalten werden.

Angestrebtes Produkt	Amin	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Zusatz
46		Dioxan	110 °C	2 h	Mg(ClO ₄) ₂

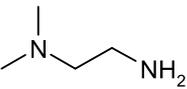
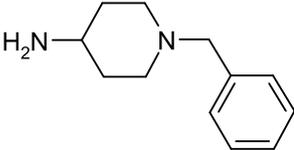
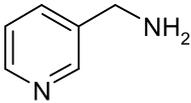
Angestrebtes Produkt	Amin	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Zusatz
46		iso-Propanol	RT	12 h	Molsieb 3 Å
47	NH ₄ OAc	iso-Propanol	RT	12 h	Molsieb 3 Å
48		MeOH	RT	48 h	-
49		MeOH	60 °C	12 h	-

Tabelle 3-6: Zur reduktiven Aminierung von Verbindung 45 verwendete Bedingungen

In einem weiteren Versuch wurde Grundmanns Keton (**11**) auch nach der zuvor entwickelten Methode unter Scandium(III)triflat-Katalyse mit 2-Amino-1,3-propandiol bzw. Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS) umgesetzt. TRIS ist eine käuflich erwerbliche Chemikalie. In einer Henry-Reaktion wird basenkatalysiert aus Nitromethan und Formaldehyd im Verhältnis 1:3 das Nitroderivat dargestellt und anschließend zu TRIS reduziert.

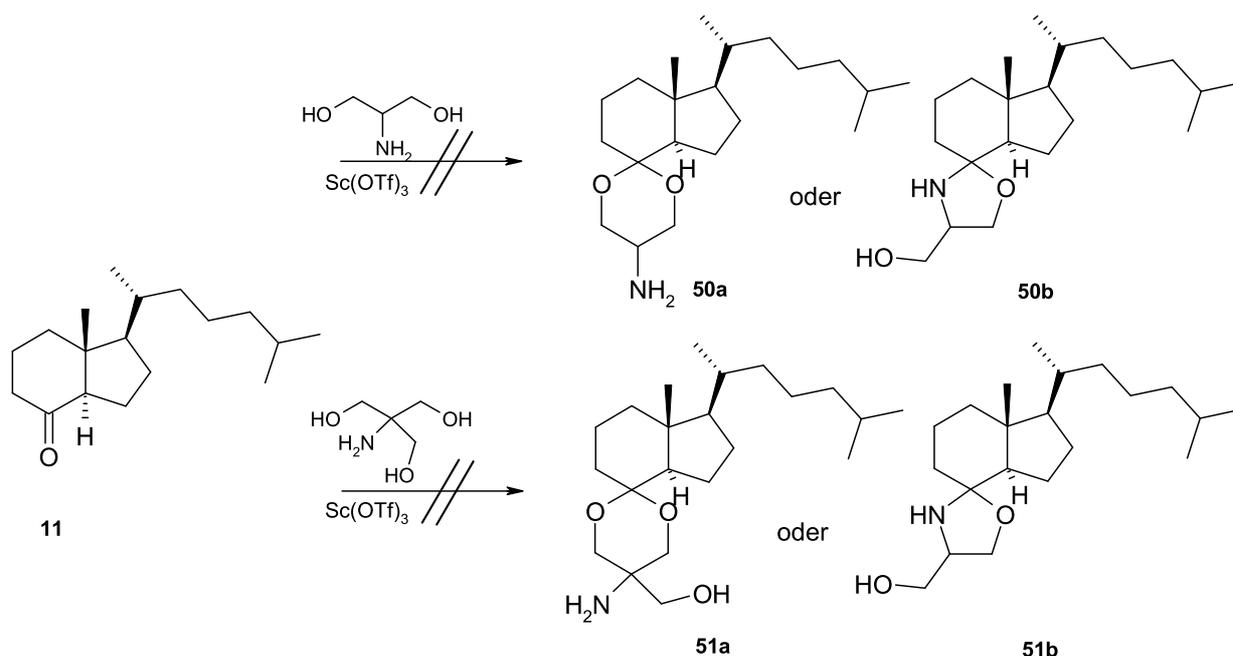


Abbildung 3-39: Versuche zur Synthese von aminosubstituierten 1,3-Dioxanen

Es konnte in beiden Fällen mittels DC keine Umsetzung detektiert werden. Weder die Sechsringacetale **50a/51a** noch die denkbaren isomeren N,O-Acetale **50b/51b** waren zu detektieren. Auch in der Literatur sind keine vergleichbaren Reaktionen beschrieben. Da die vorherigen Versuche mit den fünfgliedrigen Acetalen gezeigt hatten, dass sich andere Diole mit basischen Seitenketten ebenfalls nicht zu den Acetalen umsetzen lassen, lässt sich vermuten, dass das Misslingen der Versuche am Mechanismus der Acetalbildung und der basischen Eigenschaft der Substituenten liegt. Die Acetalbildung verläuft säurekatalysiert. Es ist denkbar, dass die benötigte Säure bevorzugt mit den Aminen reagiert und deshalb keine Acetalbildung mehr katalysiert wird. Um dies zu überprüfen wurde eine Acetalbildung mit einem Überschuss an Säure (getestet: para- Toluolsulfonsäure) versucht. Aber auch hier konnte mittels DC keine Umsetzung detektiert werden. Um möglicherweise störende basische Eigenschaften des Aminosubstituenten zu eliminieren wurde 2-Amino-1,3-propandiol nach Literatur¹¹⁶ mit Benzylchloroformiat Cbz-geschützt. Aber auch mit verminderter Basizität konnte unter Scandium(III)triflat-Katalyse keine Umsetzung zum Acetal **53** detektiert werden.

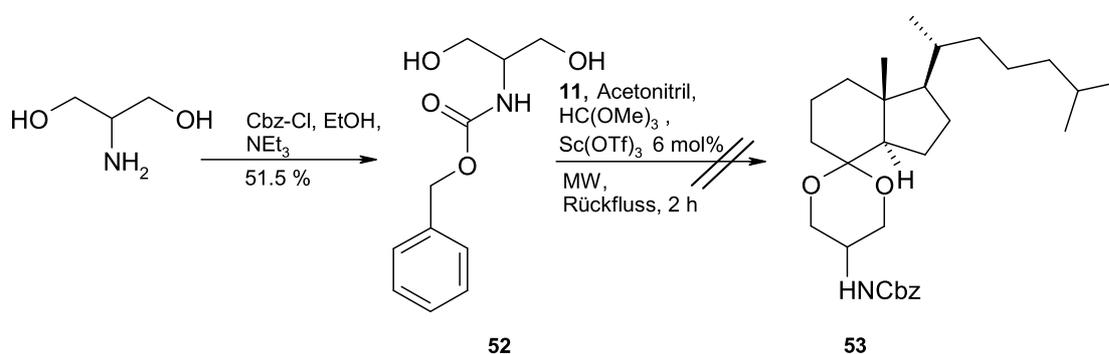


Abbildung 3-40: Einführung der Cbz-Schutzgruppe und Versuch zur Acetalbildung

Ein weiterer stickstoffhaltiger, nicht basischer Baustein für die Acetalbildung ist das käufliche und preisgünstige Tris(hydroxymethyl)nitromethan, ein TRIS-Derivat, das wie TRIS aus Nitromethan und Formaldehyd, nur ohne abschließenden Reduktionsschritt, hergestellt wird.

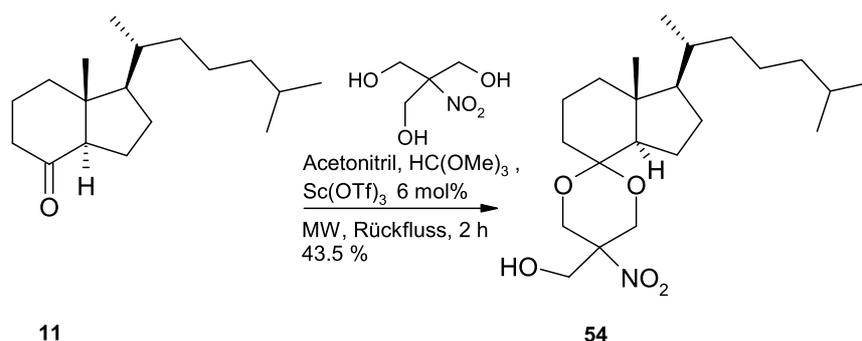


Abbildung 3-41: Umsetzung von Grundmanns Keton (11) zum Acetal 54

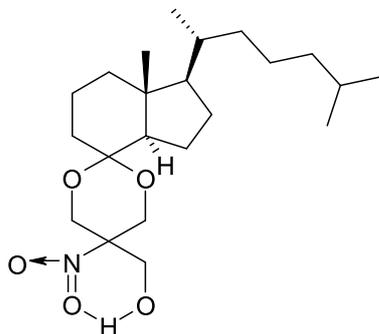
Zur Bildung des 5-Hydroxymethyl-5-nitro-1,3-dioxans **54** wurden neben der in dieser Arbeit etablierten Routine in Acetonitril unter Scandium(III)triflat-Katalyse drei weitere Methoden zur Acetalbildung getestet. So konnte neben Scandium(III)triflat Tetrabutylammonium-tribromid (NBu_4Br_3)¹¹⁷ als anderer, wesentlich günstigerer Katalysator zur Acetalbildung eingeführt werden. Dieser Katalysator erlaubt mildere Reaktionsbedingungen, also Raumtemperatur und erfordert kein Lösungsmittel. Die Ausbeute ist allerdings um etwa ein Fünftel niedriger als bei der etablierten Routine (R) mit Scandium(III)triflat und Trimethylorthoformiat in Acetonitril.

Bed.	Lösungs- mittel	Wasserentfernung durch	Katalysator	Temperatur	Zeit	Ausbeute
<u>R</u>	Acetonitril	HC(OMe)_3	Sc(OTf)_3	Rückfluss (MW)	2 h	43.5 %
1	-	HC(OEt)_3	NBu_4Br_3	RT	2 d	34.5 %
2	-	HC(OEt)_3	NBu_4Br_3	Rückfluss (MW)	2 h	-
3	Acetonitril	HC(OEt)_3	NBu_4Br_3	Rückfluss (MW)	2 h	24.5 %

Tabelle 3-7: Zur Darstellung von 5-Hydroxymethyl-5-nitro-1,3-dioxalan **54** verwendete Bedingungen

Die Acetalbildung von Ketonen mit Tris(hydroxymethyl)nitromethan ist literaturbekannt und die gebildeten Acetale weisen besondere Eigenschaften auf¹¹⁸. Es bildet sich eine Wasserstoffbrücke zwischen der Hydroxymethylgruppe und der

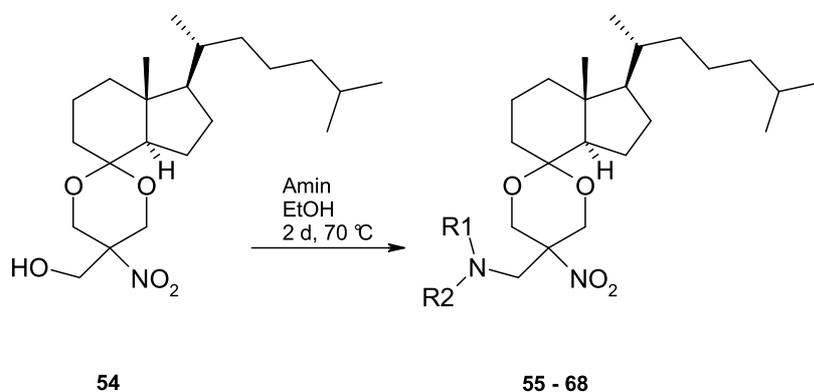
Nitrogruppe, die die Eigenschaften der Hydroxygruppe stark verändert. Es wurde postuliert, dass das Acetal in einer Struktur ohne freie Hydroxygruppe vorliegt.



54

Abbildung 3-42: Postulierte Wasserstoffbrücke beim 5-(Hydroxymethyl)-5-nitro-1,3-dioxan **54**

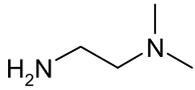
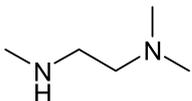
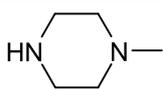
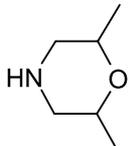
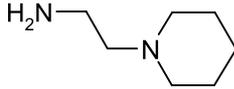
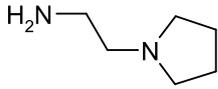
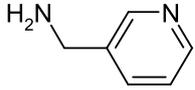
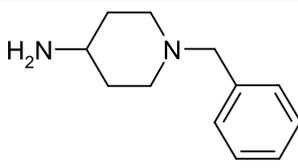
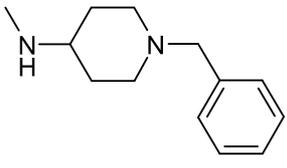
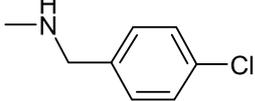
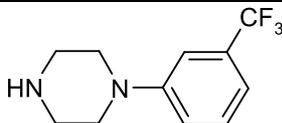
Diese Hypothese wird gestützt durch die Beobachtungen an analogen Verbindungen, so kann die Hydroxyfunktion nicht mit Dimethylsulfat methyliert oder mit Kaliumpermanganat im basischen Medium oder mit Wasserstoffperoxid oxidiert werden. Des Weiteren wurde publiziert, dass eine Umsetzung von Bis(hydroxymethyl)nitromethan zu Acetalen nicht möglich ist. Die Hydroxymethylgruppe kann im Acetal jedoch mit Alkalimetallbasen (z.B. NaOH oder KOH) unter Bildung eines 5-Nitro-1,3-dioxans entfernt werden¹¹⁹. Eine weitere Eigenschaft der Hydroxymethylgruppe ist, dass sie mit Aminen in der Hitze substituierbar ist. Auf diese Weise konnten ausgehend von **55** zahlreiche Amine synthetisiert werden (siehe Tabelle 3-7).



54

55 - 68

Abbildung 3-43: Allgemeine Reaktion des Acetals **54** zu Aminen **55 - 68**

Amin R1-NH-R2	Substanznummer	Ausbeute
H_2NCH_3	55	31.5 %
$\text{HN}(\text{CH}_3)_2$	56	23.0 %
	57	21.0 %
	58	27.4 %
	59	38.8 %
	60	27.8 %
	61	21.4 %
	62	26.1 %
	63	51.7 %
	64	26.2 %
	65	25.9 %
	66	32.3 %
	67	21.2 %

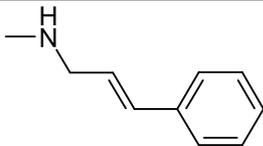
Amin R1-NH-R2	Substanznummer	Ausbeute
	68	28.9 %

Tabelle 3-8: Übersicht der synthetisierten Amine

Da zuerst ausschließlich Verbindungen mit einer tertiären distalen Aminogruppe, die der Position C-4/C-5 der Sterole nahe kommt, dargestellt wurden, sollten in Hinsicht auf die Untersuchung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (siehe Abschnitt [4.5](#)) weitere Amine mit primären oder sekundären distalen Aminogruppen dargestellt werden. Trotz intensiver Bemühungen konnten keines dieser Derivate dargestellt werden.

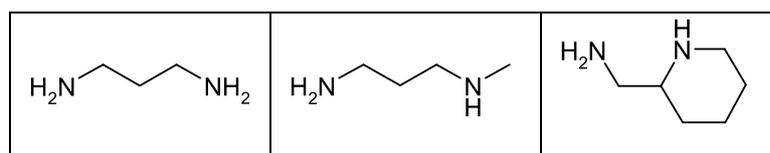


Tabelle 3-9: Übersicht der nicht umsetzbaren Amine

Des Weiteren sollten zwei der dargestellten Amine N-methyliert werden. Dazu wurden zwei verschiedene Methoden versucht.

Substanznummer	Lösungs- mittel	Zusatz	Methyl- Donator	Temperatur	Zeit
64(→65)	MeOH	Eisessig NaBH ₄	Formaldehyd	RT	18 h
61(→69)	-	K ₂ CO ₃ 18-Krone-6	Me ₂ CO ₃	100 °C (MW)	20 min

Tabelle 3-10: Zur N-Methylierung verwendete Bedingungen und Substanzen

Bei den ersten Bedingungen (reduktive N-Methylierung)¹²⁰ kam es zu einer Zersetzung des Eduktes **64** zum 5-Nitro-5-hydroxymethyl-1,3-dioxalan **54**. Die zweiten Bedingungen (direkte N-Methylierung)¹²¹ führten zu einer kompletten Zersetzung des Eduktes.

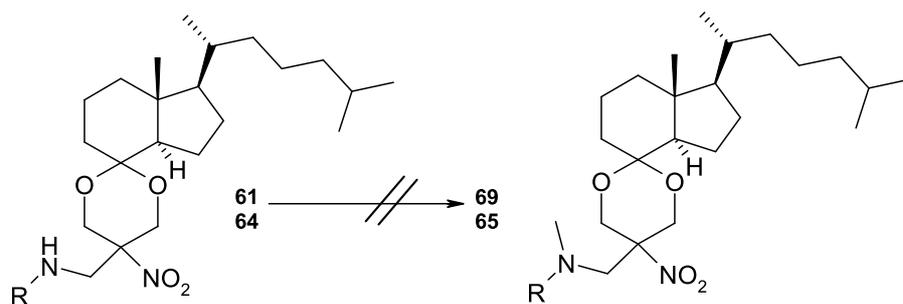


Abbildung 3-44: Versuche zur N-Methylierung der Verbindungen 61 und 64

Die Versuche zur N-Methylierung wurden daher erfolglos eingestellt. Die Verbindung **65** konnte aber durch direkte Umsetzung mit dem entsprechenden sekundären Amin (siehe Tabelle 3-8) dargestellt werden.

Ferner sollte bei den 5-Aminomethyl-5-nitrodioxanen auch die Nitrogruppe zu einer primären Aminogruppe reduziert werden. Diese Reduktion wurde an verschiedenen Verbindungen unter verschiedenen Bedingungen getestet.

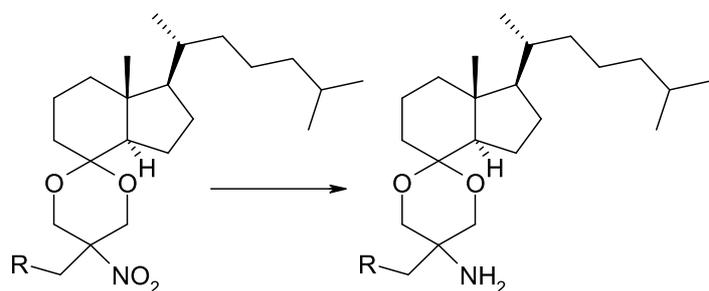


Abbildung 3-45: Reduktion der Nitrogruppe

Substanznummer des Edukts	Katalysator	Lösungsmittel	H ₂ -Donator/ Reduktionsmittel	Ausbeute
54 (→ 51a)	Raney-Nickel	EtOH	Hydrazin*H ₂ O	24.3 %
58	-	EtOH	NaBH ₄	-
64	-	EtOH	NaBH ₄	-
64	Raney-Nickel	EtOH	Hydrazin*H ₂ O	-
66	Raney-Nickel	EtOH	Hydrazin*H ₂ O	-

Substanznummer des Edukts	Katalysator	Lösungsmittel	H ₂ -Donator/ Reduktionsmittel	Ausbeute
66	Pd/C	MeOH	Ammoniumformiat	-
66	-	EtOH	NaBH ₄	-
68	-	EtOH	NaBH ₄	-

Tabelle 3-11: Übersicht über die Versuche zur Hydrierung der Nitrogruppe

Bei der Synthesevorstufe, dem Nitroalkohol **54**, gelang die Reduktion in mäßiger Ausbeute mit Raney-Nickel und Hydrazinhydrat als Wasserstoffquelle¹²². Auf diese Weise konnte das 5-Amino-5-hydroxymethyl-1,3-dioxan **51a** doch noch erhalten werden (vgl. Abb. 3-38). Die Reduktionsversuche an den Nitroaminen **58**, **64**, **66** und **68** verliefen mit Raney-Nickel, Palladium/Kohle/Ammoniumformiat¹²³ und Natriumborhydrid allesamt ergebnislos.

Um Stickstoffatome in räumliche Nähe der C-4-Position von Sterolen zu platzieren wurden ferner verschiedene Ester dargestellt. Dazu wurde das Acetal **54** mit entsprechenden Säurechloriden in Ethanol/Pyridin¹⁰⁷ umgesetzt.

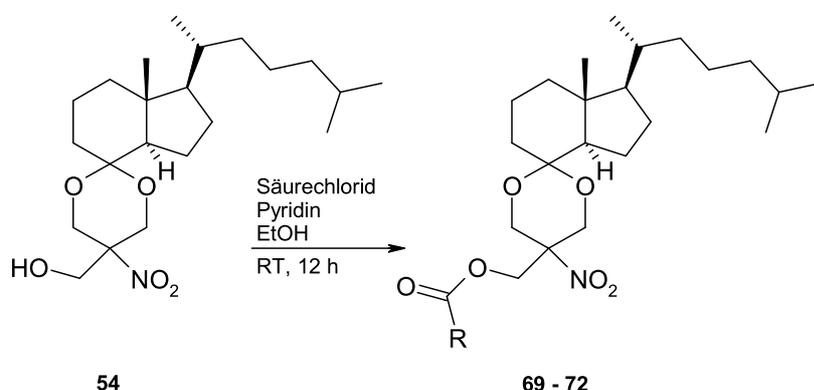


Abbildung 3-46: Veresterung des Hydroxymethyl-Acetals 54

Zum Testen der Bedingungen wurde das Acetal **54** mit Benzoylchlorid (\rightarrow Verbindung **69**) umgesetzt. Zur Einführung einer basischen Stickstofffunktion in der Nähe der C-4-Position bei Sterolen wurde das Acetal mit Nicotinoylchlorid (\rightarrow Verbindung **70**) und Phenylglycinchlorid umgesetzt (\rightarrow Verbindung **71**). Als die letztere Umsetzung fehlschlug, wurde versucht die Verbindung **71** durch eine Aktivesterkopplung mit DCC/DMAP mit Phenylglycin darzustellen. Auch dieser Versuch war erfolglos. Da die

Morpholinpartialstruktur ein gängiges Motiv bei antimykotischen Wirkstoffen ist, wurde das Acetal **54** auch mit 4-Morpholincarbonylchlorid zu Verbindung **72** umgesetzt, allerdings weist das Produkt **72** als Carbaminsäureester keine basische funktionelle Gruppe auf.

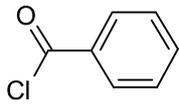
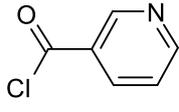
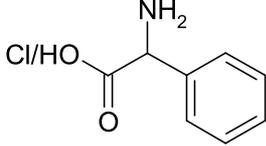
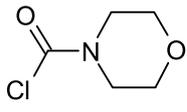
Säurechlorid/ Aminosäure	Substanznummer	Ausbeute
	69	35.1 %
	70	17.1 %
	71	-
	72	39.8 %

Tabelle 3-12: Zur Veresterung verwendete Säurechloride

3.4.1.1 Stereochemie der Acetale

Durch die Acetalbildung entsteht an C-5 des Dioxanrings ein neues Stereozentrum. Die Substituenten an C-5 können sich zudem entweder axial oder äquatorial am Dioxanring ausrichten. Aus sterischen Gründen richten sich die größten Substituenten für gewöhnlich äquatorial aus. So sollten die Aminosubstituenten in den Verbindungen **56** bis **69** in der äquatorialen Position angeordnet sein. Diese Hypothese wurde am Beispiel der Verbindung **62** mittels NOE-Spektroskopie überprüft.

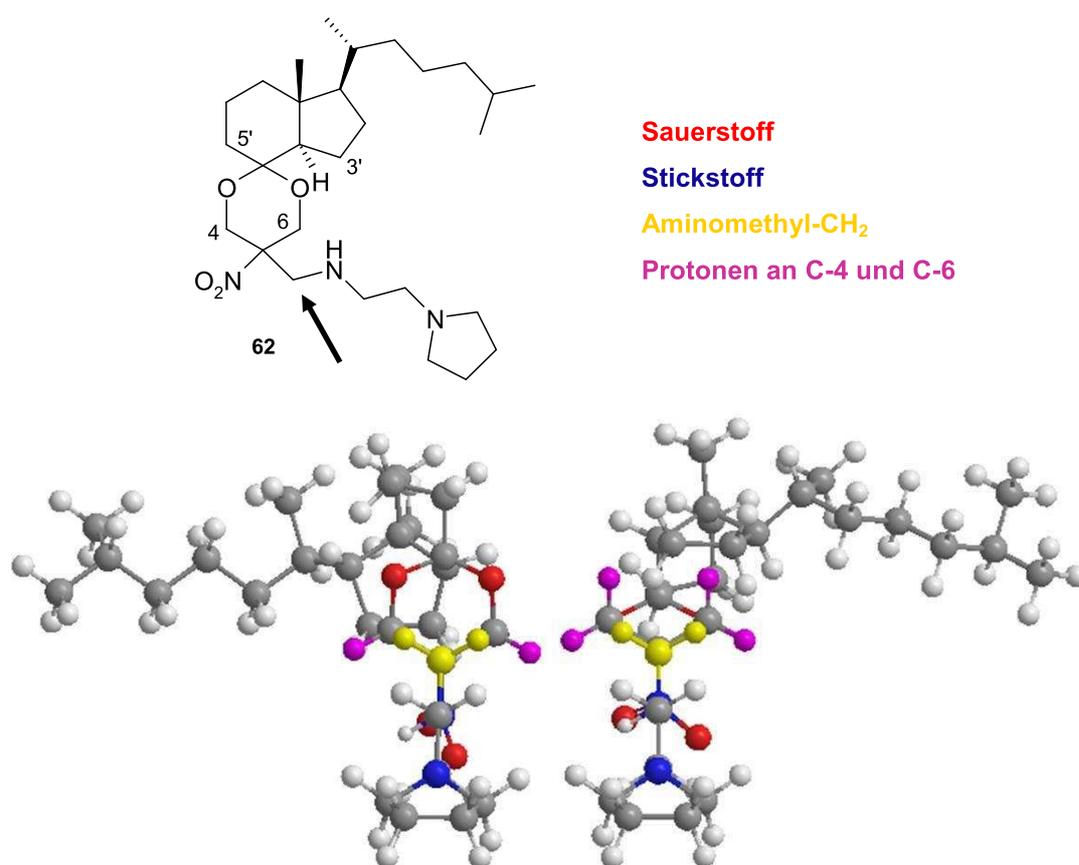


Abbildung 3-47: Verbindung 62 und 3D-Struktur der möglichen Stereoisomere (angefertigt mit ChemDraw Ultra 10), der Pfeil kennzeichnet die Blickrichtung auf das Aminomethyl-CH₂

In Abb. 3-47 sind links das Isomer mit dem Aminosubstituenten in axialer Position und rechts das Isomer mit Aminosubstituenten in äquatorialer Position zu sehen. Es ist erkennbar, dass sollte es sich um das axiale Isomer handeln, die Aminomethylprotonen nur einen NOE mit den äquatorialen Protonen an C-4 und C-6 des Dioxans aufweisen können, während sie beim äquatorialen Isomer sowohl mit den axialen als auch mit den äquatorialen Protonen des Dioxanrings interagieren

können. Im NOE-Experiment wurde auf die Methylenprotonen der Aminomethylgruppe bei 3.05 ppm (negatives Signal) eingestrahlt, der NO-Effekt wird durch ein positives Signal angezeigt (siehe Abb. 3-47).

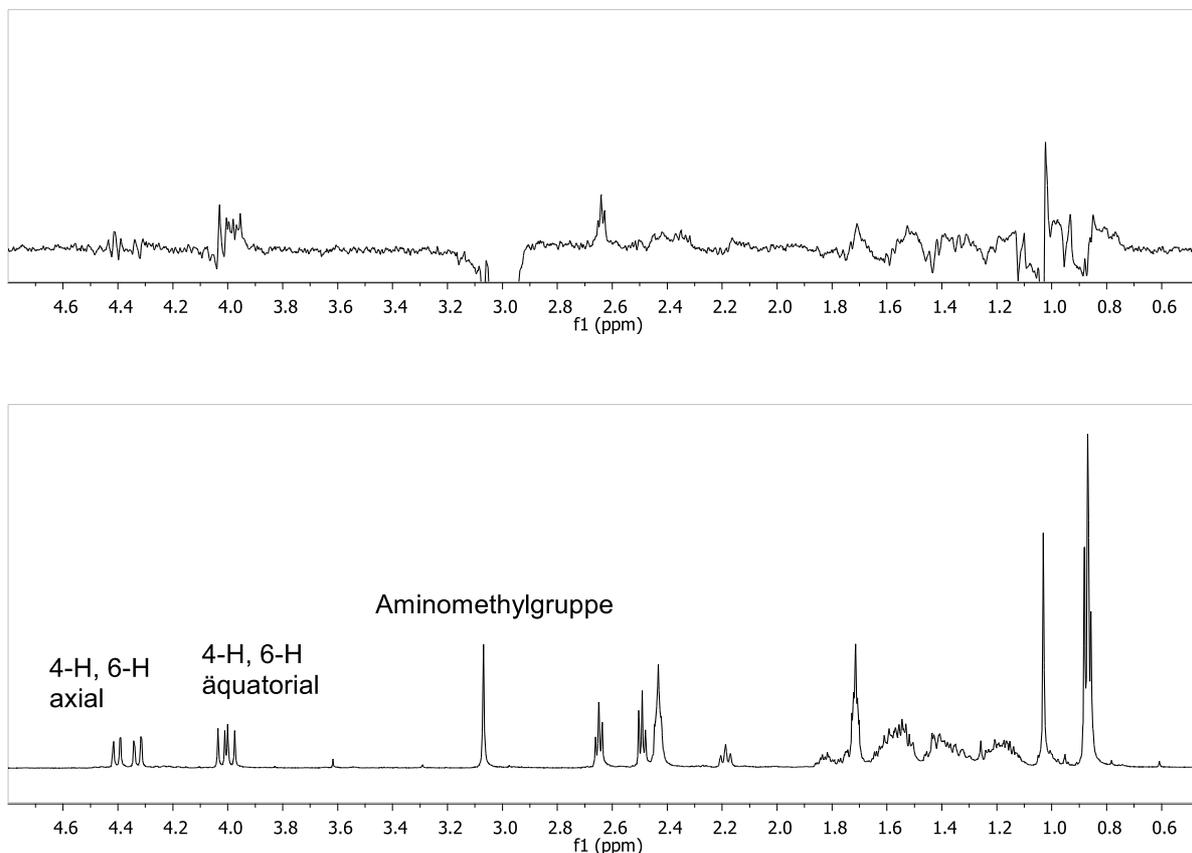


Abbildung 3-48: Vergleich NOE- und ^1H NMR-Spektren der Verbindung 63

Im NOE-Spektrum ist klar eine Kopplung zwischen Aminomethylprotonen und den äquatorialen Protonen des Dioxans zu erkennen. Dies bedeutet, dass das in Abb. 1-46 links gezeigte Isomer mit dem Aminosubstituenten in axialer Position die korrekte Struktur ist. Somit ist zwar die Konformation des Acetals geklärt, aber noch nicht die absolute Konfiguration an C-5. Es sind zwei Konfigurationen des Acetals denkbar, in denen der Aminomethylsubstituent eine axiale Position einnimmt. Beide denkbaren Epimere bezüglich C-5 können eine Sesselkonformation einnehmen, in der der Aminomethylrest axial steht. In einer der Sesselkonformationen würden die axialen Acetalprotonen mit den 3'-Protonen des Perhydroinden-Grundkörpers sterisch interagieren, in der anderen mit den 5'-Protonen des Grundgerüsts. Diese Protonen können mittels NMR-Spektroskopie nicht differenziert werden. Somit konnte die absolute Konfiguration an C-5 nicht aufgeklärt werden.

3.4.2 Versuche zur Synthese von N,O-Acetalen und Aminen

Obwohl die Versuche zur Synthese von Acetalen mit basischen Seitenketten zeigten, dass keine Acetalbildung mit protonierbaren Stickstoffen im Molekül nachgewiesen werden kann, wurde versucht Grundmanns Keton (**11**) zu N,O-Acetalen bzw. Aminen umzusetzen.

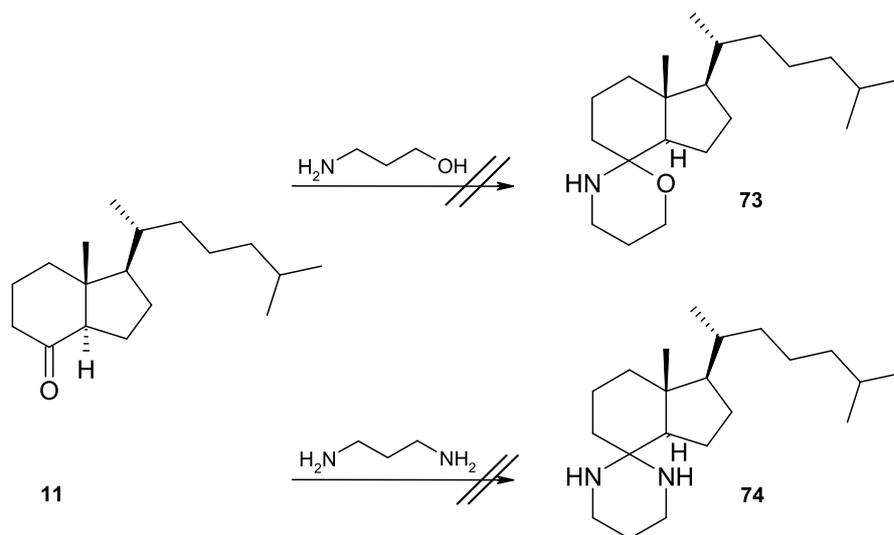


Abbildung 3-49: Geplante N,O-Acetale bzw. Amine

Es wurde zuerst die unter [3.4.1](#) erarbeitete Routine für Acetale mit Scandiumtriflat und Trimethylorthoformiat in Acetonitril verwendet, als das fehlschlug wurden folgende Bedingungen getestet: Grundmanns Keton (**11**) sollte in Dichlormethan mit Aminopropanol unter Zugabe von Kaliumcarbonat¹²⁴ zu Verbindung **73** umgesetzt werden und Verbindung **11** sollte mit 1,3-Diaminopropan in Ethanol unter Zugabe von Bismutchlorid¹²⁵ zu Verbindung **74** umgesetzt werden.

Produkt	Lösungsmittel	Zusatz	Temperatur	Zeit
73	CH_2Cl_2	K_2CO_3 (2 eq)	RT	48 h
74	EtOH	BiCl_3 (0.1 eq)	RT	12 h

Tabelle 3-13: Zur Bildung von N,O-Acetalen bzw. Aminen getestete Bedingungen

Auch mit diesen Bedingungen konnte keine der geplanten Verbindungen realisiert werden. Die Versuche wurden ohne Erfolg eingestellt.

3.5 Tetraline und Indole

Da Grundmanns Keton (**11**) ein teures Edukt ist, sollte versucht werden mit günstigeren Ausgangsmaterialien ähnliche Verbindungen zu synthetisieren wie das Amin **64**, das im Cholesterolsynthese-Assay eine Hemmung der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase zeigte (siehe Abschnitt [4.4](#)). Die Wahl fiel auf gut zugängliche bicyclische Verbindungen, die das Perhydroinden-Strukturelement von Grundmanns Keton (**11**) imitieren sollten. Die Spiroacetalstruktur von Verbindung **64** sollte beibehalten werden, so dass die neuen Zielverbindungen die α -Tetralonderivate **77**, **80** und **84** und das Indolderivat **91** waren. Letzteres sollte ausgehend von Dihydroresorcin und Brombrenztraubensäureethylester dargestellt werden. Um auch die lipophile Seitenkette von Grundmanns Keton (**11**) zu imitieren, sollten an C-6 des α -Tetralons bzw. am Stickstoff des Indolbausteins geeignete lipophile Reste angebracht werden.

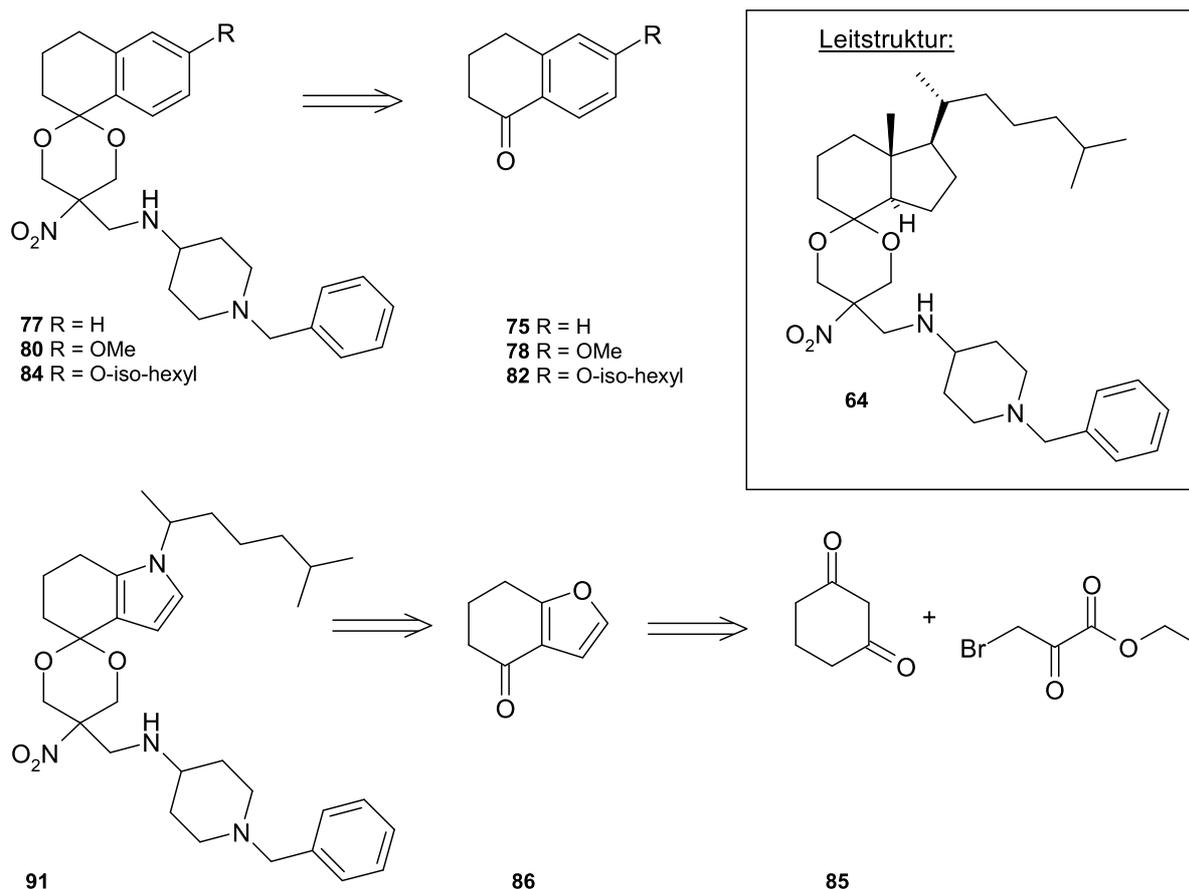


Abbildung 3-50: α -Tetralonderivate (**77**, **80** und **84**), Indolderivat **91** und die Leitstruktur **64**

3.5.1 Tetraline

Zuerst sollte das unsubstituierte α -Tetralon (**75**) über das Acetal **76** zum entsprechenden Amin **77** umgesetzt werden.

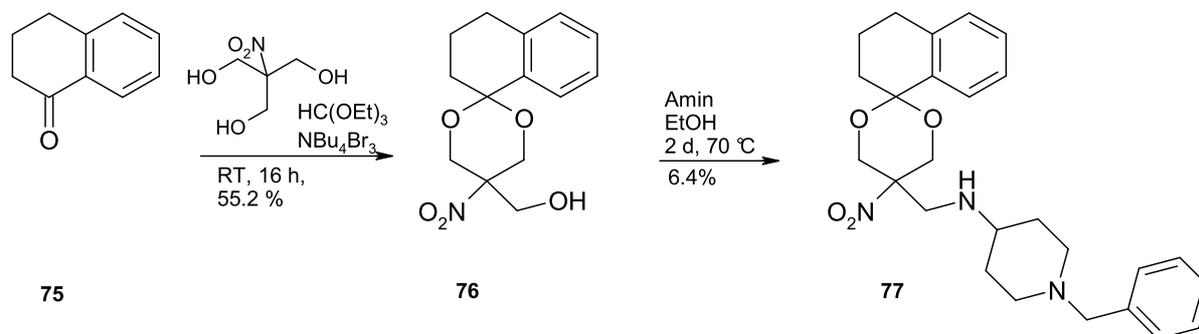


Abbildung 3-51: Reaktion von α -Tetralon (**75**) zum 5-Hydroxymethyl-5-nitro-1,3-dioxan **76** und Weiterreaktion zum Amin **77**

Zur Darstellung des 5-Hydroxymethyl-5-nitro-1,3-dioxans **76** wurden verschiedene Bedingungen getestet.

Bed.	Lösungsmittel	Wasserentfernung durch	Katalysator	Temperatur	Zeit	Ausbeute
1	Acetonitril	HC(OMe) ₃	<i>p</i> -TsOH	Rückfluss (MW)	2 h	4.4 %
2	Toluol	HC(OMe) ₃	<i>p</i> -TsOH	Rückfluss (MW)	2 h	-
3	Toluol	Wasserabscheider	<i>p</i> -TsOH	Rückfluss	5 h	-
4	-	HC(OMe) ₃	NBu ₄ Br ₃	120 °C (MW)	1 h	-
5 ¹¹⁶	EtOH	HC(OMe) ₃	NBu ₄ Br ₃	RT	16 h	-
6 (<u>R</u>)	Acetonitril	HC(OMe) ₃	ScOTf ₃	Rückfluss (MW)	2 h	13.2 %
7 ¹¹⁶	-	HC(OEt) ₃	NBu ₄ Br ₃	RT	16 h	55.2 %
8	Acetonitril	HC(OEt) ₃	NBu ₄ Br ₃	RT	16 h	42.5 %

Tabelle 3-14: Zur Acetalisierung von α -Tetralon versuchte Bedingungen

Im Fall der Tetralone stellten sich die Bedingungen 7 (siehe Tabelle 3-14) als die besten heraus. Nach Zugabe von 10 %iger- Na_2CO_3 -Lösung fällt das Produkt als brauner Feststoff aus. Alle Tetralonacetale wurden nach dieser Vorschrift dargestellt. Bei Anwendung der Routinemethode der Acetalisierung mit Scandiumtriflat und Trimethylorthoformiat in Acetonitril (Bed. 6) konnte lediglich eine Ausbeute von 13.2 % erreicht werden.

Zur Darstellung desamins **77** wurde Verbindung **76** mit 4-Amino-1-benzylpiperidin in Ethanol bei 70 °C zwei Tage lang umgesetzt. Das Produkt konnte durch säulenchromatographische Aufreinigung als weißer Feststoff erhalten werden.

Ausgehend von 6-Methoxytetralon (**78**) wurde in gleicher Weise über das Acetal **79** das entsprechende Amin **80** dargestellt.

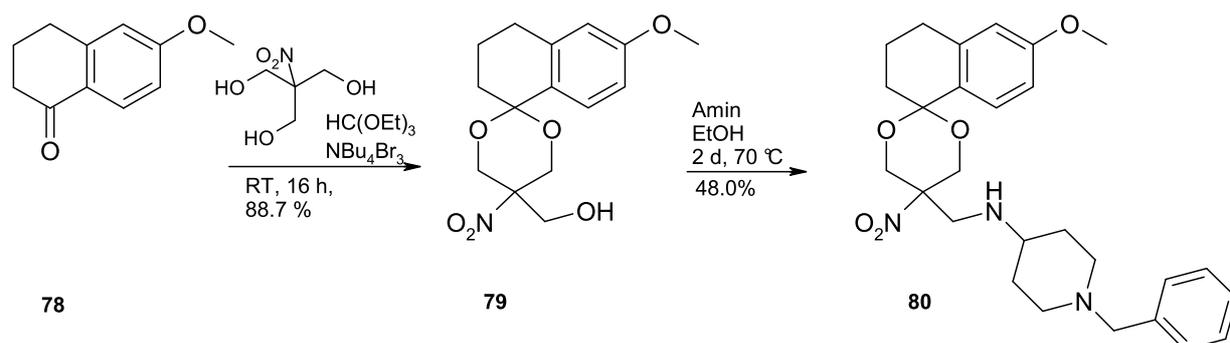
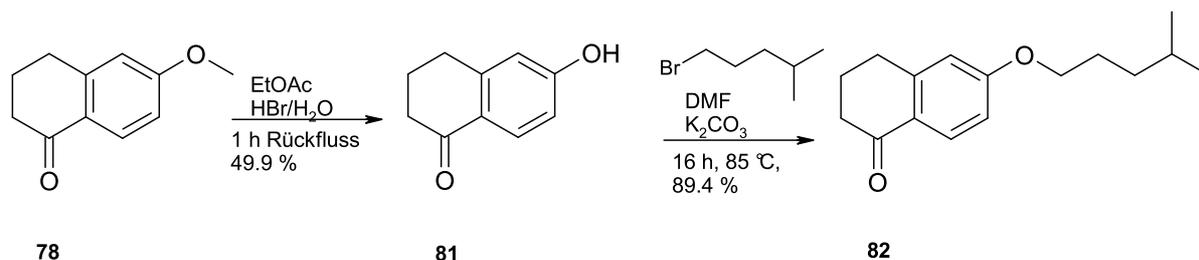
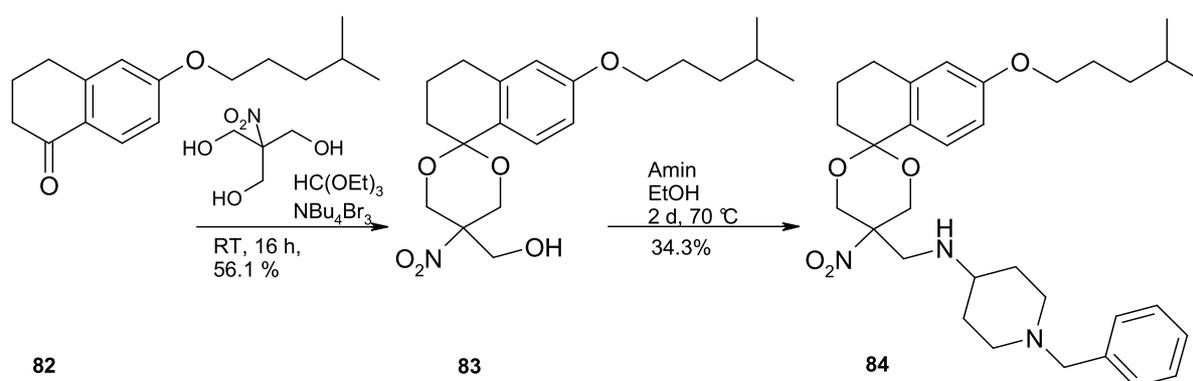


Abbildung 3-52: Darstellung desamins **80** ausgehend von 6-Methoxytetralon (**78**) über das Acetal **79**

Das Acetal **79** fällt bei Zugabe von 10 %iger- Na_2CO_3 -Lösung als rosafarbener Feststoff aus und das Amin **80** konnte durch Umfällen mit iso-Hexan aus CH_2Cl_2 als weißer Feststoff erhalten werden. Als letzte Verbindung der Tetralinreihe sollte eine Verbindung mit einer längeren Alkylkette, die der von Grundmanns Keton (**11**) ähnelt, dargestellt werden. Dazu wurde ausgehend von 6-Methoxytetralon (**78**) eine iso-Hexylseitenkette eingeführt. Im ersten Schritt wurde der Ether in einer 1:1 Mischung aus Essigsäureethylester (EtOAc) und HBr (48 % in H_2O) gespalten¹²⁶. Das literaturbekannte Produkt **81** ist ein braun metallisch glänzender Feststoff, der in einer Williamson-Ether-Synthese¹²⁷ mit 1-Brom-4-methylpentan in DMF in Anwesenheit von K_2CO_3 zu 6-Isohexyloxy- α -tetralon (**82**) umgesetzt wurde.

Abbildung 3-53: Darstellung von 6-Isohexyloxy- α -tetralon (82)

Das Acetal **83** wurde unter den erarbeiteten Bedingungen hergestellt. Es konnte wiederum als weißer Feststoff erhalten werden. Die Umsetzung zum Amin **84** erfolgte durch Erhitzen mit 4-Amino-1-benzylpiperidin in Ethanol.

Abbildung 3-54: Darstellung des Acetals **83** und des Amins **84**

3.5.2 Indole

Um eine größere Annäherung an die Struktur von Grundmanns Keton (**11**) als bei den Tetralonderivaten zu ermöglichen, sollte das entsprechende Indol-Analoge des Amins **64** dargestellt werden. Der Indolgrundkörper ähnelt dem Perhydroinden-Grundkörper von Verbindung **11** stärker als das Tetralin. Ferner kann man die lipophile Seitenkette durch Anbringen an den Indolstickstoff noch genauer in eine räumliche Position bringen, die der in den Steroiden entspricht (vgl. Abbildung 3-50).

Zuerst wurde Dihydroresorcin (**85**) mit Brombrenztraubensäureethylester in Methanol in Anwesenheit von KOH in einer Stetter-Cyclokondensation zu 6,7-Dihydro-4(5H)-benzofuranon (**86**) umgesetzt¹²⁸. Das Benzofuranon **86** wurde in einer Mikrowellen-unterstützten Reaktion in Ethanol: Wasser (1:5) mit 2-Amino-6-methylheptan zu der

Verbindung **87** umgesetzt¹²⁹. Hierbei erfolgt eine Ringtransformation des Furans zum Pyrrolring, einhergehend mit einer Decarboxylierung.

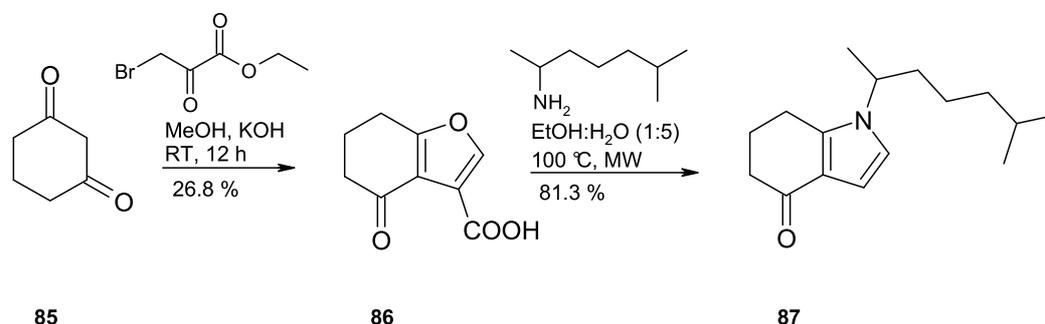


Abbildung 3-55: Reaktion von Dihydroresorcin (85) zum Benzofuran 86 und Reaktion zum Indol 87

Das Indol **87** sollte unter den für die Tetralone erarbeiteten Bedingungen (siehe Abschnitt [3.5.1](#)) zum 5-Hydroxymethyl-5-nitro-1,3-dioxan **88** umgesetzt werden. Es konnte keine Umsetzung beobachtet werden, es konnte lediglich das Edukt zurück gewonnen werden. Auch eine Erhöhung der Katalysatormenge von 1 mol% auf 1.2 Äquivalente war nicht zielführend.

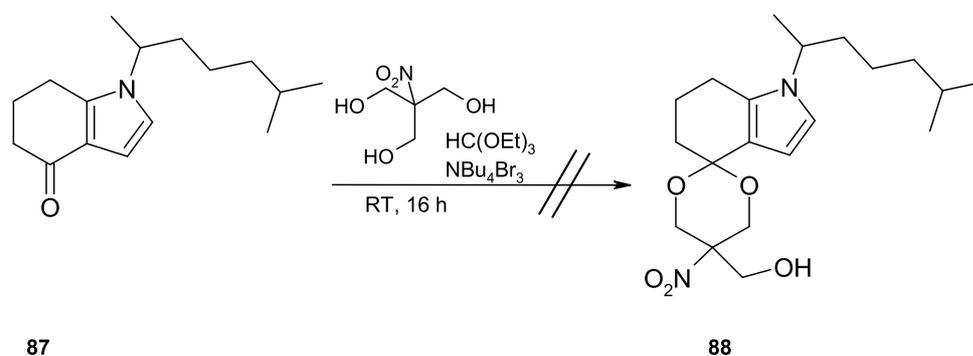


Abbildung 3-56: Versuch der Darstellung des Acetals 88

Aus diesem Grund sollte das Benzofuranon **86** zuerst zu Verbindung **89**¹²⁸ decarboxyliert werden, dieses dann unter den Standardbedingungen zu Verbindung **90** acetalisiert und anschließend das gewonnene Acetal **90** zum Indol **88** umgesetzt werden.

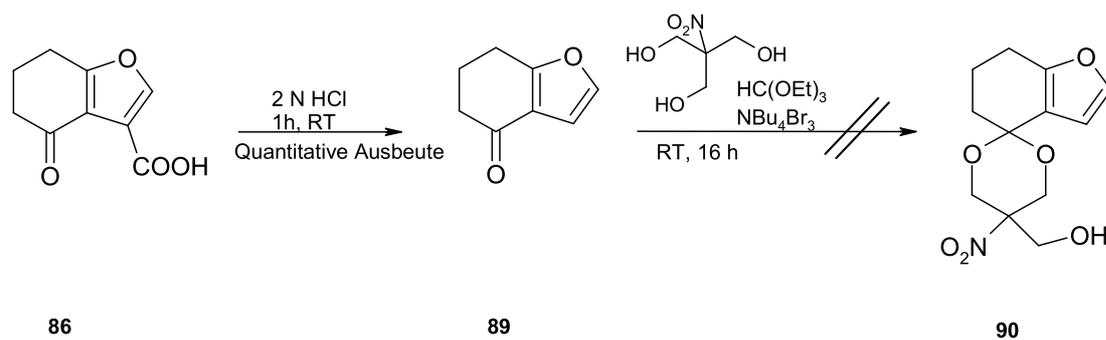


Abbildung 3-57: Zweiter Versuch zur Acetalisierung

Auch dieser Versuch (Verbindung **89** zu Verbindung **90**) blieb erfolglos und die Versuche zur Darstellung der Indole wurden daher eingestellt.

4 Biologische Testung

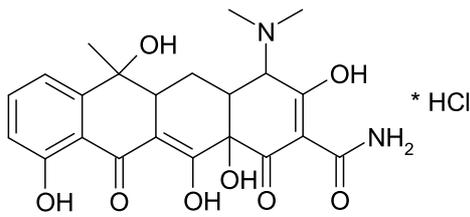
4.1 Agar-Diffusionstest

Die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Verbindungen wurden an verschiedenen Modellkeimen auf antibakterielle und antimykotische Wirkung getestet.

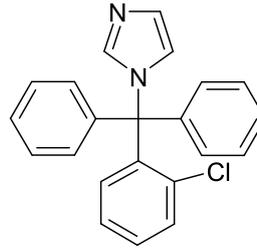
Mikroorganismus	DSMZ-Nummer	Beschreibung
<i>Escherichia coli</i>	426	gramnegatives Bakterium
<i>Pseudomonas antimicrobia</i>	8361	gramnegatives Bakterium
<i>Staphylococcus equorum</i>	20675	grampositives Bakterium
<i>Streptococcus entericus</i>	14446	grampositives Bakterium
<i>Yarrowia lipolytica</i>	1345	Hefe
<i>Candida glabrata</i>	11226	Hefe
<i>Hyphopichia burtonii</i>	70663	Dermatophyt
<i>Aspergillus niger</i>	1988	Schimmelpilz

Tabelle 4-1: Im Agar-Diffusionstest verwendete Mikroorganismen

Da der Diffusion in dem wasserhaltigen Nähragar eine entscheidende Rolle bei der Durchführung des Tests zukommt, können aus dem gemessenen Hemmhofdurchmesser nur begrenzt quantitative Aussagen abgeleitet werden. Daher lässt sich aus den erhaltenen Ergebnissen lediglich ableiten, ob die getesteten Substanzen überhaupt eine antimikrobielle Aktivität aufweisen. Im Agar-Diffusionstest positiv getestete Verbindungen wurden im Ergosterolbiosynthese-Assay weiter untersucht (siehe [6.4.3](#)). Als Referenzsubstanzen wurden die potenten Verbindungen Tetracyclin-HCl (Antibiotikum) und Clotrimazol (Antimykotikum, vgl. Abschnitt [1.1.4.1](#)) verwendet.



Tetracyclin-HCl



Clotrimazol

Abbildung 4-1: Referenzsubstanzen im Agar-Diffusionstest

Die genaue Durchführung des Agar-Diffusionstests wird im Experimentellen Teil (siehe Abschnitt [6.4.1](#)) beschrieben.

4.1.1 Testergebnisse

In der folgenden Tabelle sind die ermittelten Hemmhofdurchmesser in Millimeter aufgelistet. Man unterscheidet zwischen Wachstumshemmung (WH) und Totalhemmung (TH). Die Abkürzung „k.T.“ steht für keine Testung.

Substanz- (nummer)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas antimicrobia</i>	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Streptococcus entericus</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Hyphopichia burtonii</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Referenzsubstanzen								
Tetracyclin - HCl	30	30	40	24	k.T.	k.T.	k.T.	k.T.
Clotrimazol	k.T.	k.T.	k.T.	k.T.	15 (TH) 35 (WH)	15 (TH)	16 (TH) 25 (WH)	15 (TH) 25 (WH)
Pyrazine und Pyridine								
2	15	12	20	28	17	15	8	12 (TH) 18 (WH)

Substanz- (nummer)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas antimicrobia</i>	<i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Streptococcus entericus</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Hyphopichia burtonii</i>	<i>Aspergillus niger</i>
29	10	-	-	20	-	14	-	-
30	12	16	32	30	37	30	10	35
Acetale								
39	-	-	-	18	-	-	-	-
45	-	8	-	10	-	8	-	9
57	-	-	-	-	8 (WH)	8	-	-
Tetralone								
80	-	-	-	-	-	7	-	-
83	-	-	-	-	-	7	-	-
84	-	-	-	-	-	7	-	-
Indole								
87	-	-	-	7	-	-	-	-

Tabelle 4-2: Im Agar-Diffusionstest aktive Verbindungen

Nur wenige, der im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Verbindungen, weisen eine Aktivität im Agar-Diffusionstest auf. Einzig die Verbindungen **2** und **30** weisen eine signifikante Aktivität auf.

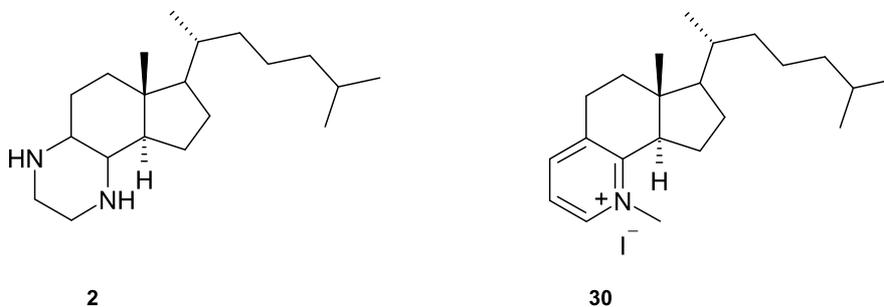


Abbildung 4-2: Strukturen der im Agar-Diffusionstest aktiven Substanzen

Das Diamin **2** wurde als Rohprodukt getestet, da es nicht gelang es komplett aufzureinigen. Die Verbindungen **2** und **29** wurden weiteren Untersuchungen im Ergosterolbiosynthese-Essay unterzogen (siehe Abschnitt [4.2](#)).

4.2 Test auf Inhibition der Ergosterolbiosynthese

Das im Arbeitskreis Bracher von Müller¹³⁰ entwickelte Testsystem zur Identifizierung inhibierter Enzyme der Ergosterolbiosynthese basiert auf der Akkumulation von Sterolen durch die Inhibition eines bestimmten Enzyms. Dieses spezifische Sterolmuster wird mit anderen Sterolmustern bekannter Inhibitoren verglichen. So ist ein Rückschluss auf das von der getesteten Substanz gehemmte Enzym möglich. Zur Testung werden die schnellwachsenden Keime *Yarrowia lipolytica*, *Candida glabrata* und *Saccharomyces cerevisiae* verwendet. Die zu testenden Substanzen werden mit den Keimen inkubiert und nach Aufschluss der Zellen die Sterolfraction mittels GC-MS analysiert. Die genaue Durchführung ist in Abschnitt [6.4.3](#) beschrieben. Bei beiden Verbindungen **2** und **30** konnte keine Enzyminhibition festgestellt werden.

4.3 MTT-Test

Die cytotoxische Aktivität, der im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierten Verbindungen, wurde mittels des MTT-Tests¹³¹ bestimmt. Das blass gelbe Tetrazoliumsalz 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT), wird in lebenden Zellen von den Mitochondrien, Peroxisomen und speziellen Oxidoreduktasen zu dem tiefblauen Formazan reduziert.

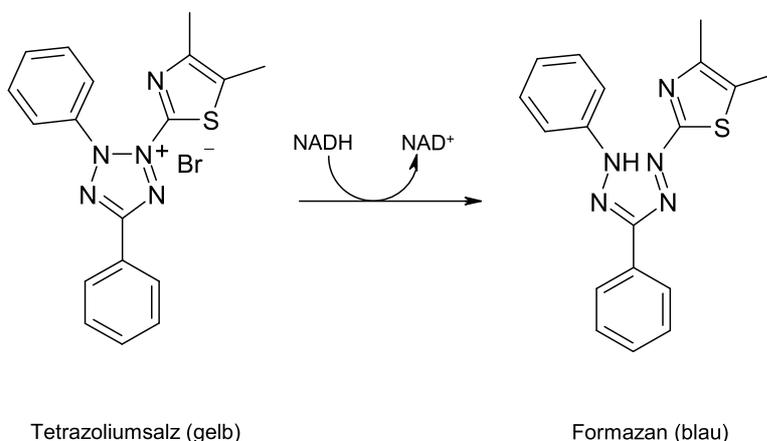
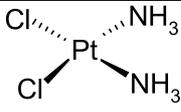
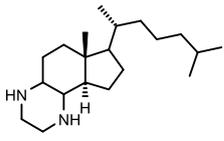
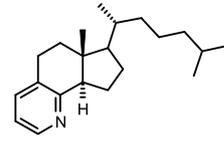
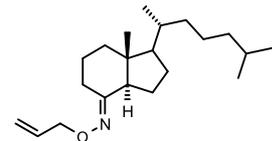
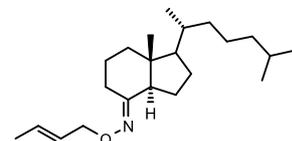
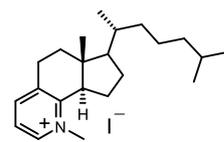


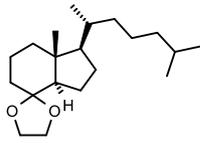
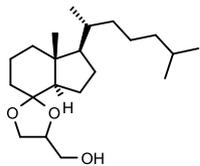
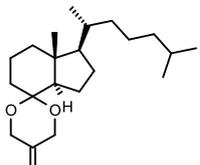
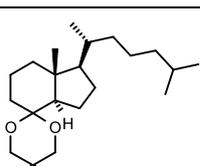
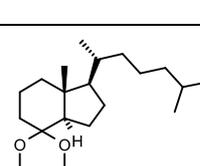
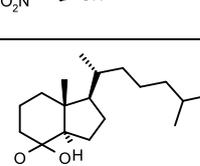
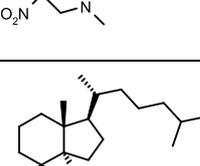
Abbildung 4-3: Reduktion des Tetrazoliumsalzes zu Formazan durch NADH

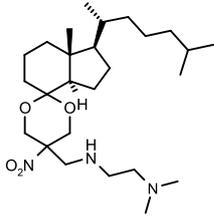
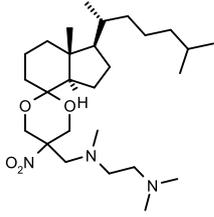
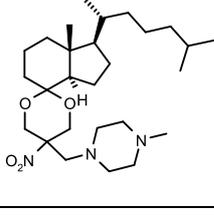
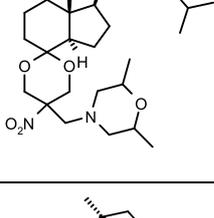
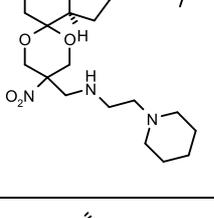
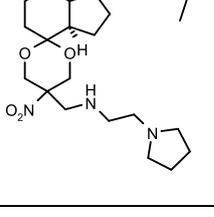
Der Grad der Umsetzung kann mittels photometrischer Analyse bestimmt werden und dient als direktes Maß für die Zellviabilität. Die genaue Durchführung wird im Abschnitt [6.4.2](#) beschrieben.

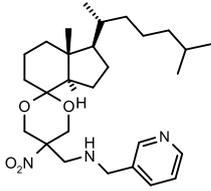
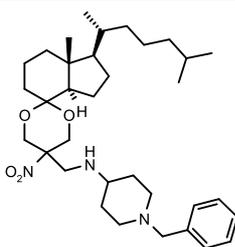
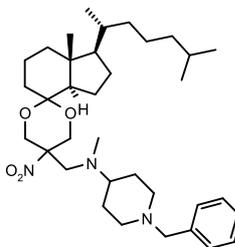
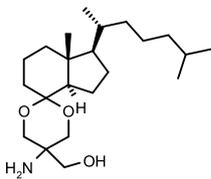
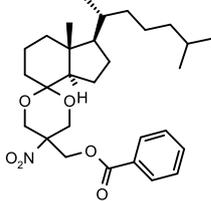
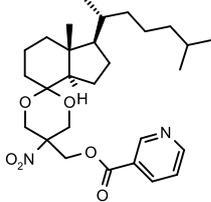
4.3.1 Testergebnisse

Der MTT-Test wurde an humanen Leukemiezellen der Zelllinie HL-60 durchgeführt, als Positivkontrolle dient Cisplatin. Der angegebene IC₅₀-Wert ist die Konzentration des Inhibitors, bei der die halbmaximale Inhibition der Zellfunktionen beobachtet wird.

Substanz- (nummer)	Strukturformel	IC ₅₀ (µM)
Cisplatin		5 ¹³²
Pyridine, NO-Allyl-Oxime, Piperidine		
2		16
9		17
28		51
29		13
30		0.77

Substanz- nummer	Strukturformel	IC ₅₀ (μM)
Acetale		
32		23
39		23
44		22
45		19
54		24
55		18
56		23

Substanz- nummer	Strukturformel	IC ₅₀ (µM)
Acetale		
57		16
58		26
59		11
60		8
61		22
62		17

Substanz- nummer	Strukturformel	IC ₅₀ (µM)
Acetale		
63		14
64		13
65		30
Reduzierte Acetale		
51a		24
Ester		
69		28
70		46

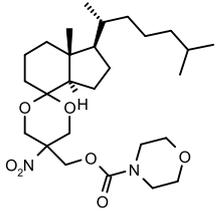
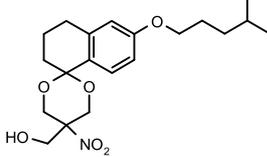
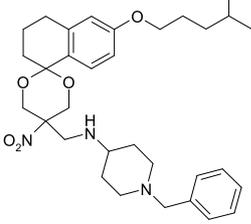
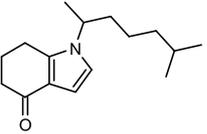
Substanznummer	Strukturformel	IC ₅₀ (µM)
Ester		
72		20
Tetraline		
83		50
84		>50
Indole		
87		29

Tabelle 4-3: Übersicht der im MTT-Test aktiven Substanzen

In Tabelle 4-3 sind alle Substanzen aufgeführt, die im MTT-Test eine Aktivität zeigten. Alle anderen im Rahmen der vorliegenden Arbeit dargestellten Verbindungen weisen keine Aktivität auf. Bei Betrachtung der Daten des MTT-Tests fällt Verbindung **30** wie schon im Agar-Diffusionstest, hier durch signifikante Cytotoxizität¹³⁰ (<5 µM), auf. Die Acetale weisen eine moderate bis geringe Cytotoxizität (10 - 50 µM) auf, was in Hinsicht auf eine potentielle Verwendung als Arzneistoff jenseits der Tumorthherapie als positiv zu werten ist. Die Tetraline und Indole weisen nur in jeweils einem Fall, Verbindung **83** und **87**, überhaupt eine, wenn auch geringe Cytotoxizität auf. Da jedoch durch die Wahl des Aminosubstituenten (vgl. Verbindung **64**) eine Enzyminhibition erwartet wurde, wurden alle synthetisierten

Verbindungen im Cholesterolsynthese-Assay (siehe Abschnitt [4.4](#)) weiter auf Aktivität untersucht.

4.4 Test auf Inhibition der Cholesterolsynthese

Dieses im Arbeitskreis Bracher von *Giera*¹³³ entwickelte Testsystem ist ein Ganzzell-Assay, welcher an HL 60-Zellen durchgeführt wird. Zur Bestimmung ob und welches Enzym des Postsqualen-Abschnitts der Cholesterolsynthese durch eine Substanz inhibiert wird, werden die HL 60-Zellen mit der zu testenden Substanz inkubiert. Nach Zellaufschluss, Extraktion der Sterole und Aufreinigung werden die Sterole derivatisiert und mittels GC-MS analysiert. Die genaue Durchführung wird im Abschnitt [6.4.4](#) beschrieben. Bei den Verbindungen **57**, **61**, **64**, **65** und **84** konnte eine Akkumulation von Zymostenol nachgewiesen werden, das bedeutet, dass diese Verbindungen Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase (siehe Abschnitt [1.1.3.4](#)) sind. Bei den Verbindungen **62** und **80** konnte eine Multienzymhemmung nachgewiesen werden.

4.4.1 Aktivitätsbestimmung der Testsubstanzen

Zur Quantifizierung des Effekts auf die Gesamt-Cholesterolsynthese muss das während der Inkubation mit der Testsubstanz neu gebildete Cholesterol von dem in der Zelle bereits vorhandenen „Matrixcholesterol“ unterschieden werden. Hierzu hat sich im AK Bracher die Methode der 2-¹³C-Acetat-Markierung¹³⁴ des Cholesterols bewährt. Es werden die Zellen zusammen mit der Testsubstanz und 2-¹³C-Acetat inkubiert, während der Testzeit wird in sämtliches neu gebildetes Cholesterol das isotopenmarkierte Acetat eingebaut. Anschließend wird die „Mass Isotop Analysis“-Methode angewendet, bei der die Isotopenverteilung in Massenspektren analysiert wird. Man erhält zwei Parameter, die Anreicherung des Precursors und den Gehalt des neu gebildeten Cholesterols. Aus diesen Parametern kann durch nicht-lineare Regression eine genaue Aussage über die Cholesterolsyntheserate getroffen werden¹³⁵. Die Berechnung der prozentualen Inhibition und genaue Durchführung ist in Abschnitt [6.4.5](#) erklärt. Aus einer Auftragung der prozentualen Inhibition bei verschiedenen Konzentrationen gegen den Logarithmus der Konzentration kann der IC₅₀-Wert für die Cholesterolsynthese extrapoliert werden. Es wurde für die als selektive Inhibitoren identifizierten Verbindungen **64**, **65** und **84** die Aktivität mittels des beschriebenen Verfahrens bestimmt.

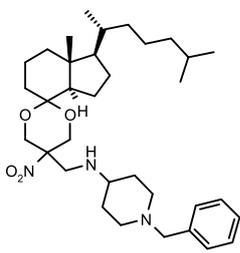
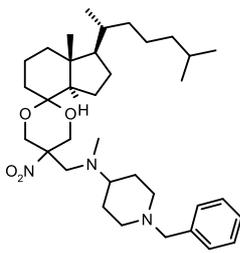
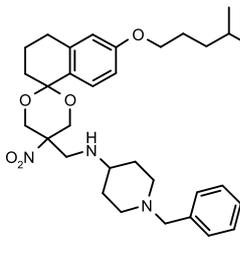
Substanz	Strukturformel	IC ₅₀ (μ M)	%-Inhibition bei c = 1 μ M \pm RSD in %	%-Inhibition bei c = 10 μ M \pm RSD in %	%-Inhibition bei c = 50 μ M \pm RSD in %
64		1.7	43.9 \pm 0.31	97.4 \pm 11.1	95.8 \pm 23.4
65		4.7	4.0 \pm 0.41	81.7 \pm 12.7	94.6 \pm 30.2
84		4.5	0.6 \pm 0.06	92.9 \pm 20.9	95.3 \pm 41.5

Tabelle 4-4: Testergebnisse der Quantifizierung der Hemmung der Cholesterol-Neusynthese durch die dargestellten Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase, mit relativer Standardabweichung RSD

4.5 Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

Die sowohl im Agar-Diffusionstest, als auch im MTT-Test als sehr aktiv aufgefallene Verbindung **30** zeigt keine Enzymhemmung, weder im Ergosterol- noch im Cholesterolsynthese-Assay. Die Aktivität scheint durch eine, auf ihrer tensidischen Struktur (siehe Abb. 4-2) beruhenden, Grenzflächenaktivität bedingt zu sein.

Nur bei den Acetalen **57**, **61**, **64**, **65** und **84** konnte eine spezifische Hemmung der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase nachgewiesen werden. Sie alle enthalten zwei protonierbare Stickstoffatome, eins oder zwei davon tertiär, die zwei oder drei Methylengruppen voneinander entfernt sind. Sie bestehen aus einem Bicyclus, von dem mindestens ein Ring sechsgliedrig ist und enthalten eine sechs

Kohlenstoffatome lange Alkylkette. Um eine Enzyminhibition zu erreichen, stellen sich folgende Voraussetzungen an die Struktur des Moleküls: erstens zwei protonierbare Stickstoffe, die in der Acetal-Seitenkette liegen. Verbindungen, die nur ein Stickstoffatom enthalten (**55**, **56** und **68**) weisen zwar eine schwache cytotoxische Aktivität im MTT-Test auf, aber keine Enzymhemmung im Cholesterolsynthese-Assay. Somit scheint der tertiäre Stickstoff der Ethylendiamin-Kette (Verbindungen **57** und **61**) bzw. der tertiäre, distale Stickstoff der 1,3-Diaminopropan-Kette (Verbindungen **64**, **65** und **84**) die Aktivität hervorzurufen. Der Vergleich mit U18666A, einem unspezifischen Inhibitor der $\Delta^{8,7}$ -Isomerase zeigt, dass sich Aminogruppe von U18666A und die distale Aminogruppe der Verbindung **64** in sehr ähnlicher Position befinden.

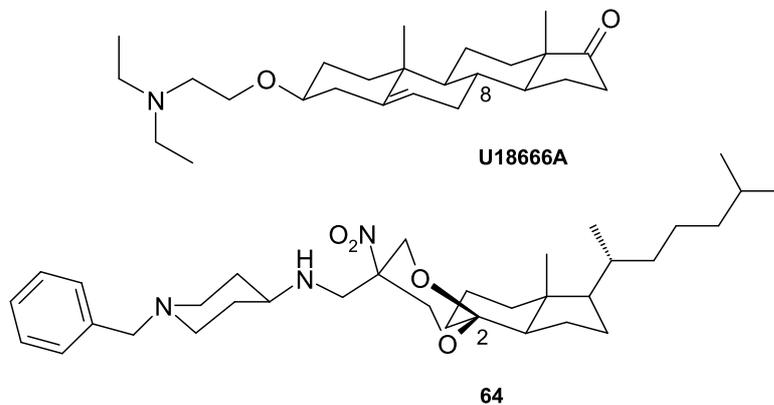


Abbildung 4-4: Vergleich U18666A und Verbindung 64

Der Atomabstand zwischen C-8 und dem Stickstoffatom in U18666A beträgt 9.86 Å, der zwischen C-2 und dem tertiären Stickstoff in Verbindung **64** beträgt 9.38 Å. Der Wirkmechanismus von U18666A ist nicht exakt geklärt¹³⁶, somit kann mittels der Strukturanalogie nicht auf ein Wirkprinzip geschlossen werden. Die zweite Strukturanforderung ist eine Alkylkette, die durch die Grundkörper Grundmanns Keton (**11**) oder 6-Isohexyloxytetralon (**82**) eingeführt wird. Diese scheint essenziell für die Enzymhemmung zu sein, denn die Tetralinderivate **77** und **80** ohne diese Alkylkette zeigen keine spezifische Enzyminhibition. Der unspezifische Inhibitor U18666A weist keine entsprechende lipophile Kette auf.

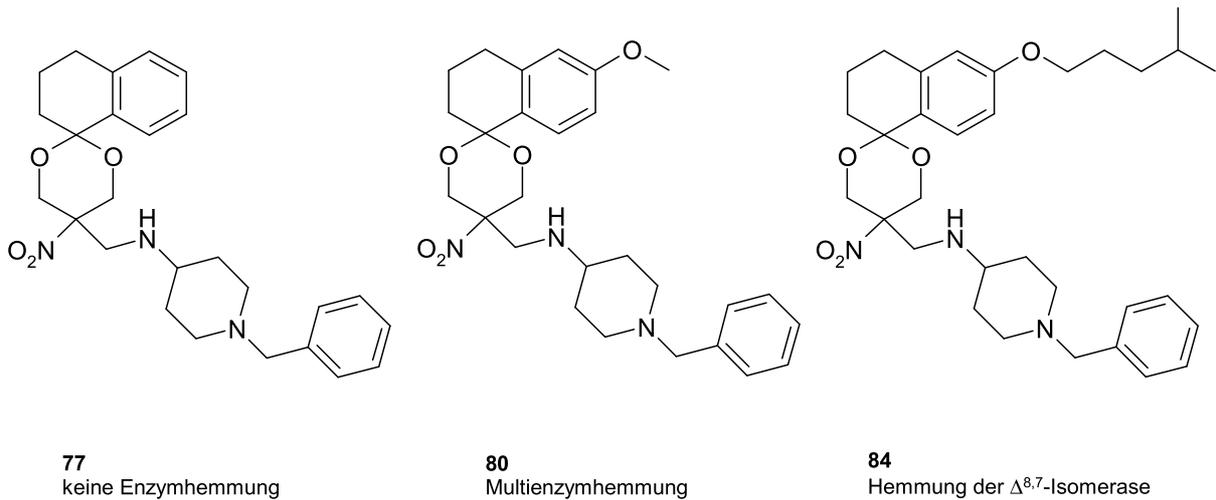


Abbildung 4-5: Gegenüberstellung der dargestellten Tetraline 77, 80 und 84

Die einzigen Ausnahmen, die beide Anforderungen erfüllen und trotzdem keine Inhibitoren der $\Delta^{8,7}$ -Isomerase sind, sind Verbindung **62** und **58** und die fluorhaltige Verbindung **67**. Bemerkenswert ist, dass die Variation des terminalen Sechsrings in Verbindung **61** in einen fünfgliedrigen Ring (Verbindung **62**) zum Spezifitätsverlust führt. Die im MTT-Test gemessenen IC_{50} -Werte unterscheiden sich im Rahmen der Messgenauigkeit kaum. Dennoch ist Verbindung **61** ein Inhibitor der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase, Verbindung **62** weist hingegen lediglich eine Multienzymhemmung auf. Ein möglicher Grund ist, dass eine gewisse Flexibilität an der entscheidenden Position nötig ist, die durch die Möglichkeit der Sessel/Boot-Konformations-Änderung im Sechsring erreicht werden kann, nicht aber im relativ rigiden Fünfring.

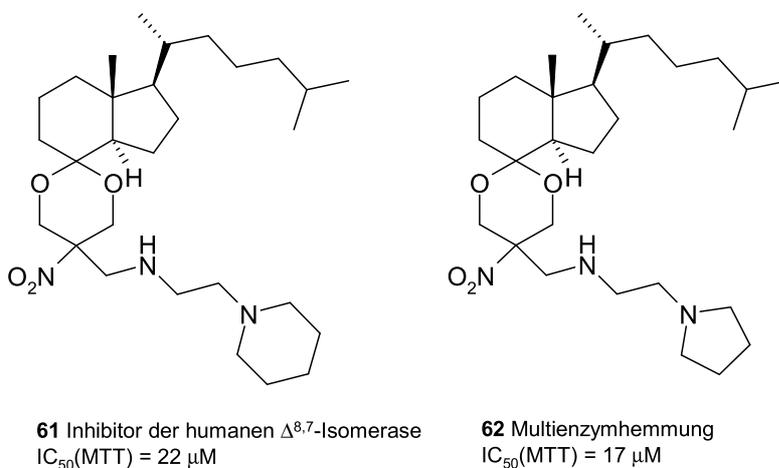
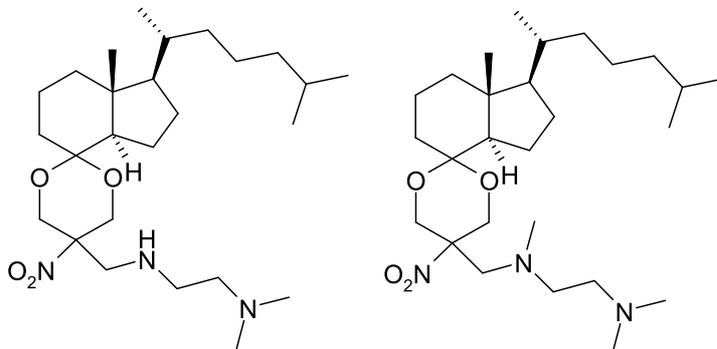


Abbildung 4-6: Vergleich der Verbindungen 61 und 62

Im direkten Vergleich der Verbindungen **57** und **58** wird der IC_{50} -Wert (MTT) durch die N-Methylierung fast verdoppelt. Für die N-methylierte Verbindung **58** konnte im Cholesterolsynthese-Assay keine Enzyminhibition festgestellt werden.



57 Inhibitor der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase IC_{50} (MTT) = 16 μ M
58 keine Enzyminhibition IC_{50} (MTT) = 26 μ M

Abbildung 4-7: Strukturen der Verbindungen 57 und 58 im direkten Vergleich

Beim Vergleich der Verbindungen **64** und **65** lässt sich zunächst dieselbe Tendenz beobachten, auch hier verdoppelt sich der IC_{50} -Wert (MTT) bei N-Methylierung. Beide Verbindungen sind aber Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase. Die IC_{50} -Werte, bezogen auf die gesamte Cholesterolsynthese, unterscheiden sich nur um den Faktor 2.8. Im Rahmen der Messungenauigkeit bei biologischen Systemen sind diese IC_{50} -Werte in derselben Größenordnung. Verbindung **84** weist im MTT-Test eine Cytotoxizität $>50 \mu$ M auf, konnte im Cholesterolsynthese-Assay aber als Inhibitor der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase ($IC_{50} = 4.7 \mu$ M) identifiziert werden. Von den von Grundmanns Keton abgeleiteten Inhibitoren **64** und **65** unterscheidet sich dieses Tetralinderivat vor allem durch seine fehlende Cytotoxizität.

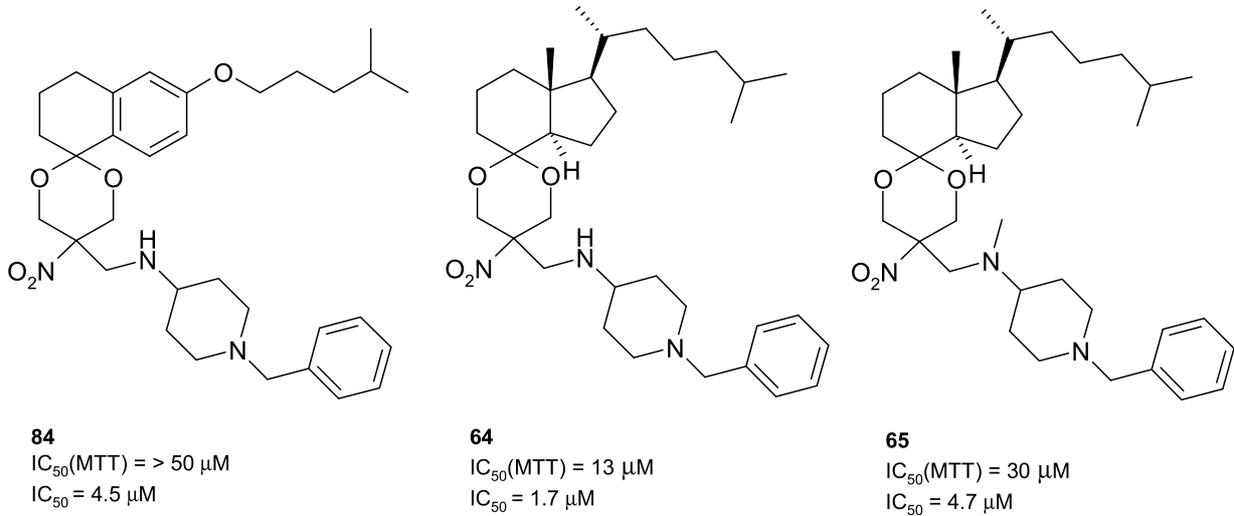


Abbildung 4-8: Strukturen der Verbindungen 84, 64 und 65 im direkten Vergleich

Somit konnte mit dem Tetralonacetal **84** aus dem günstigen, achiralen 6-Methoxy-1-tetralon (**78**) in vier Reaktionsschritten ein nahezu ebenso potenter Inhibitor der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase dargestellt werden wie die Verbindung **64**, die ausgehend von dem wesentlich teureren und chiralen Grundmanns Keton (**11**) gewonnen wurde.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit konnten mit dem Ziel, neue Inhibitoren der Ergosterol- bzw. Cholesterolsynthese zu entwickeln, zwei neuartige Substanzklassen ausgehend von Grundmanns Keton (**11**) dargestellt werden, die Pyridine **9**, **15**, **22** und **30** (siehe Abschnitt [3.3](#)) und die Acetale **44**, **45** und **54**, welches weiter zu den Aminen **55-68** und den Estern **69-72** umgesetzt wurde (siehe Abschnitt [3.4.1](#)).

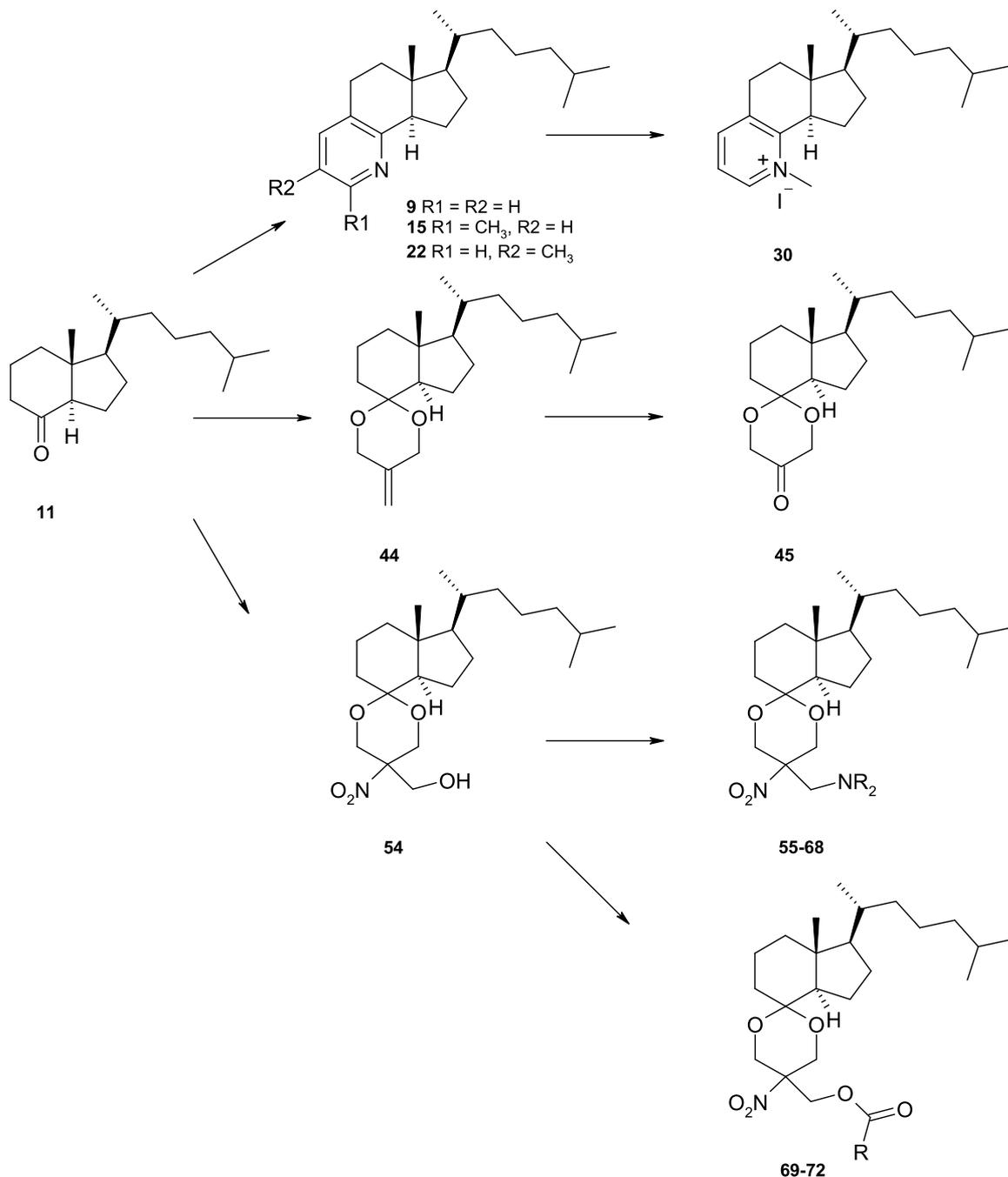


Abbildung 5-1: Übersicht der ausgehend von Grundmanns Keton (**11**) synthetisierten Verbindungsklassen

Zur Anellierung der Pyridine wurden drei unterschiedliche Methoden erfolgreich angewandt.

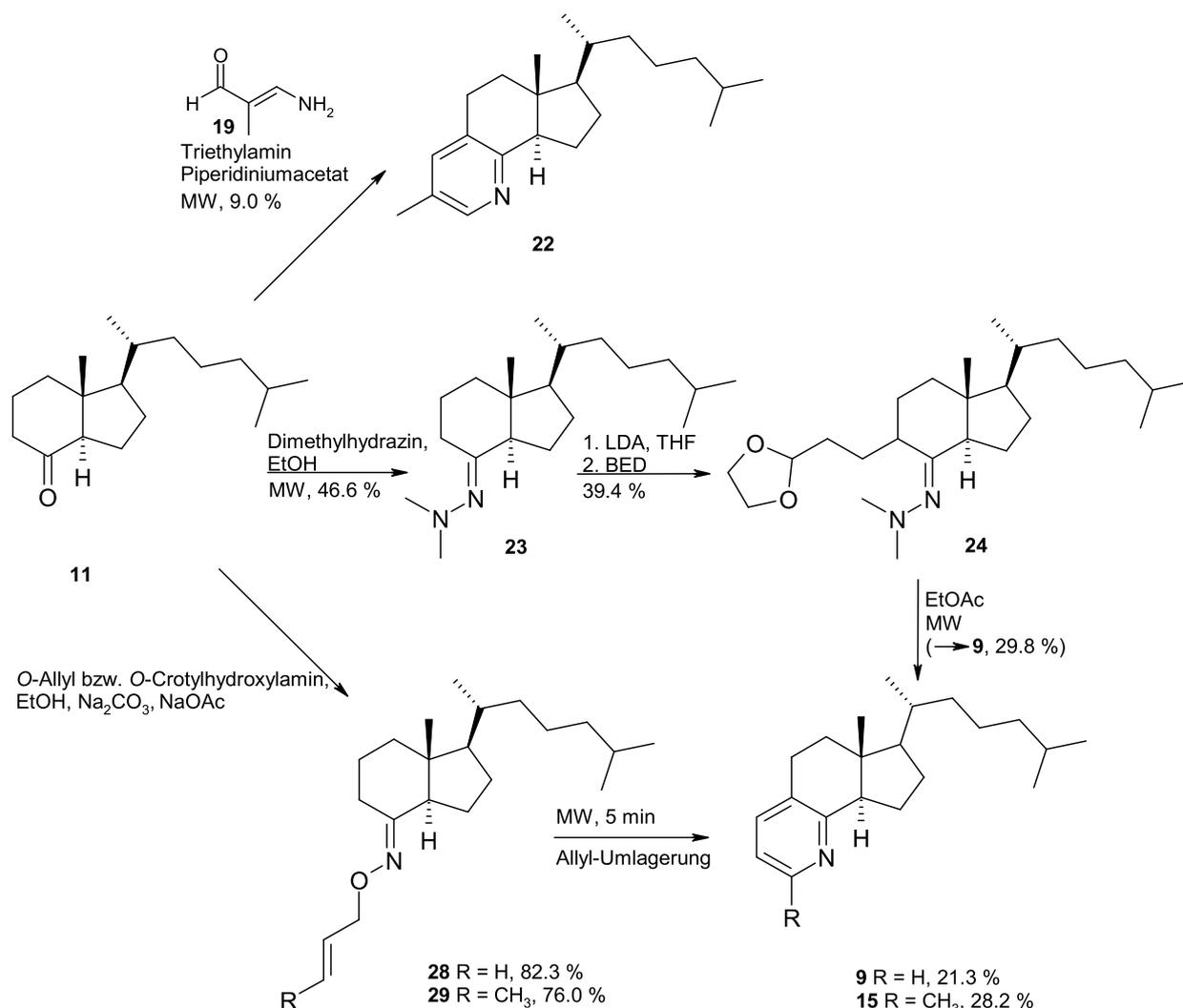


Abbildung 5-2: Übersicht der zur Pyridinsynthese verfolgten Synthesestrategien

Es wurde Grundmanns Keton (**11**) mit dem Aminoacroleinderivat **19** in einer Mikrowellen-unterstützten Synthese in Triethylamin und Piperidiniumacetat zum Pyridin **22** umgesetzt (siehe Abschnitt [3.3.2](#), Weg 3). Des Weiteren wurde Verbindung **11** mit *N,N*-Dimethylhydrazin in Ethanol unter Mikrowellenstrahlung zum Hydrazone **23** umgesetzt, welches dann mit LDA in THF deprotoniert und mit 2-(2-Bromethyl)-1,3-dioxolan (BED) weiter zur Verbindung **24** umgesetzt wurde. Verbindung **24** konnte in einem weiteren Mikrowellen-unterstützten Reaktionsschritt zum Pyridin **9** umgesetzt werden (siehe Abschnitt [3.3.2](#), Weg 4). Ferner wurde Grundmanns Keton (**11**) mit *O*-Allyl- bzw. *O*-Crotylhydroxylamin zu den Allyloximen **28** bzw. **29** umgesetzt, welche in einer Mikrowellen-unterstützten Thermolyse zu den

Pyridinen **9** bzw. **15** umgesetzt werden konnten. Diese Methode (Abbildung 5-2: unten, siehe Abschnitt [3.3.2](#), Weg 5) wurde neu entwickelt und stellt bei Grundmanns Keton (**11**) als Grundkörper die beste Methode zur Anellierung von Pyridinringen dar. Bemerkenswert ist, dass durch die Thermolyse der Verbindung **29** nicht das erwartete *para*-substituierte Pyridin **10** erhalten wurde, sondern durch eine Allyl-Umlagerung das *ortho*-substituierte Pyridin **15** entstand. Bei den Versuchen zur Reduktion des Pyridinringes, sowohl durch die schrittweise, partielle Reduktion mit NaBH₄ und dann Pd/C, als auch durch die vollständige Reduktion mit Rh/Al₂O₃, Raney-Nickel oder Pd/C konnte kein Produkt erhalten werden. Mit der methylierten Pyridinium-Verbindung **30** (siehe Abbildung 5-1) konnte eine sowohl im MTT- als auch im Agar-Diffusionstest äußerst potente Substanz hergestellt werden, die aber leider keine Enzymhemmung aufweist, also wahrscheinlich auf Grund ihrer tensidischen Struktur eine Grenzflächenaktivität aufweist.

Da mittels der zuvor vorgestellten Möglichkeiten keine protonierbaren sp³-hybridisierten Stickstoffatome in die nach Sterolnomenklatur Positionen 7 oder 10 eingeführt werden konnten, sollte mittels Spiroverbindungen versucht werden dieses Ziel zu erreichen. Hierzu wurden Acetale mit basischen Seitenketten dargestellt. Zur Darstellung der Acetale aus Grundmanns Keton (**11**) wurde eine ebenfalls Mikrowellen-unterstützte Routine in Acetonitril mit Scandium(III)triflat als Katalysator entwickelt (siehe Abschnitt [3.4.1](#)). Zuerst wurde versucht auf direktem Wege Grundmanns Keton (**11**) mit diversen Aminodiolen zu fünfgliedrigen Acetalen mit basischen Seitenketten umzusetzen, diese Bemühungen schlugen allesamt fehl. Als einzige fünfgliedrige Acetale konnten das unsubstituierte Acetal **32** und das Hydroxymethyl-Acetal **39** dargestellt werden. Letzteres sollte mittels Oxidation zum Aldehyd und anschließender reduktiver Aminierung zu den gewünschten Acetalen mit basischen Seitenketten umgesetzt werden.

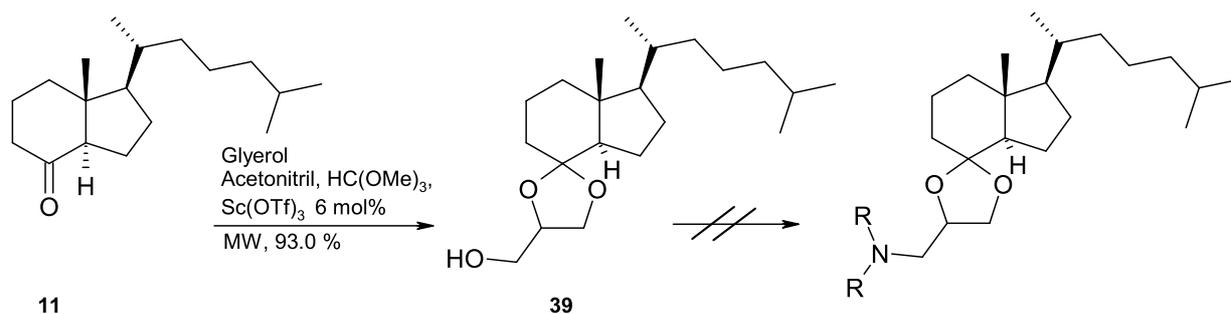


Abbildung 5-3: Darstellung des Spiroacetals **39** und geplante Weiterreaktion

Da aber eine Dess-Martin-Oxidation nicht gelang und mittels GC-MS-Analytik ein komplexes Stereoisomerengemisch der Verbindung **39** detektiert werden konnte, wurden diese Versuche eingestellt und mit Acetalen höherer Symmetrie weiter gearbeitet. Hierzu wurde Grundmanns Keton (**11**) mit 2-Methylen-1,3-propandiol nach der erarbeiteten Methode zu Verbindung **44** umgesetzt. Diese wurde mittels Ozonolyse in Dichlormethan zur Verbindung **45** umgesetzt.

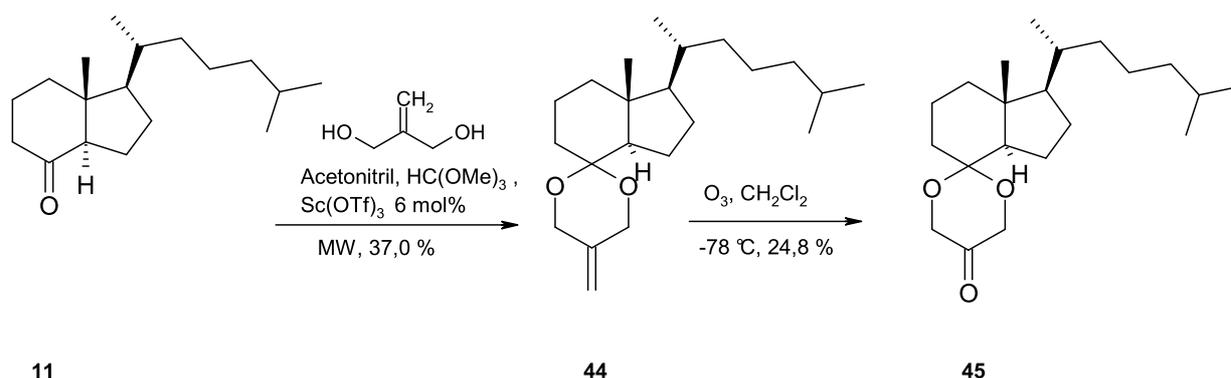


Abbildung 5-4: Darstellung der Verbindungen 44 und 45

Aus dem Keton **45** sollten mittels reduktiver Aminierung die gewünschten Acetale mit basischen Seitenketten dargestellt werden. Da die Acetale sehr säurelabil sind, konnte keine der Standardmethoden, die Säurekatalyse erfordern, benutzt werden. Stattdessen wurde die reduktive Aminierung mit Molsieb, ohne Hilfsstoff oder mit Magnesiumperchlorat als Katalysator versucht. Als Reduktionsmittel wurde NaBH_4 verwendet. Bei keiner der Umsetzungen konnte ein Produkt erhalten werden.

Auch die Acetalbildung von Verbindung **11** mit Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS) und 2-Amino-1,3-propandiol scheiterte. Es wird vermutet, dass das Misslingen der Versuche am Mechanismus der Acetalbildung und der basischen Eigenschaft der Substituenten liegt. Die Acetalbildung verläuft säurekatalysiert. Es ist denkbar, dass die benötigte Säure bevorzugt mit den Aminen reagiert und deshalb keine Acetalbildung stattfinden kann. Um möglicherweise störende basische Eigenschaften des Aminosubstituenten zu eliminieren wurde 2-Amino-1,3-propandiol mit Benzylchloroformiat Cbz-geschützt. Aber auch mit verminderter Basizität konnte unter Scandium(III)triflat Katalyse keine Umsetzung zum Acetal **53** detektiert werden.

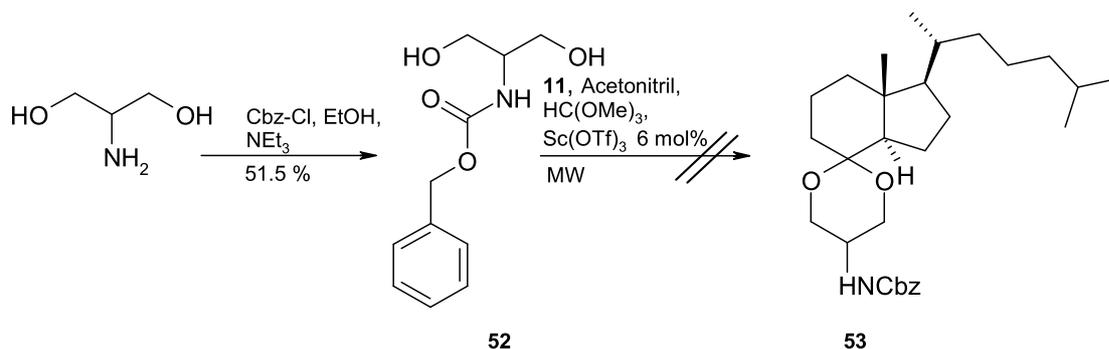


Abbildung 5-5: Einführung der Cbz-Schutzgruppe und Versuch zur Acetalbildung

Schließlich wurde Tris(hydroxymethyl)nitromethan, ein stickstoffhaltiger, nicht basischer Baustein für die Acetalbildung, nach der erarbeiteten Methode mit Grundmanns Keton (**11**) zum 5-Hydroxymethyl-5-nitro-1,3-dioxan **54** umgesetzt. Zur Bildung der Verbindung **54** konnte Tetrabutylammonium-tribromid (NBu₄Br₃) als anderer, wesentlich günstigeren Katalysator zur Acetalbildung eingeführt werden. Dieser Katalysator erlaubt mildere Reaktionsbedingungen, also Raumtemperatur und erfordert kein Lösungsmittel. Die Ausbeute ist allerdings um etwa ein Fünftel niedriger als bei der etablierten Routine mit Scandium(III)triflat und Trimethylorthoformiat in Acetonitril. Durch direkte Substitution der Hydroxygruppe des Dioxans **54** mit primären und sekundären Aminen konnten zahlreiche Amine dargestellt werden, von denen alle, bis auf die halogenhaltigen Verbindungen **66** und **67** und Verbindung **68**, eine moderate cytotoxische Aktivität im MTT-Test (siehe Abschnitt 4.3.1), aber keinerlei Aktivität im Agar-Diffusionstest aufweisen (siehe Abschnitt 4.1.1).

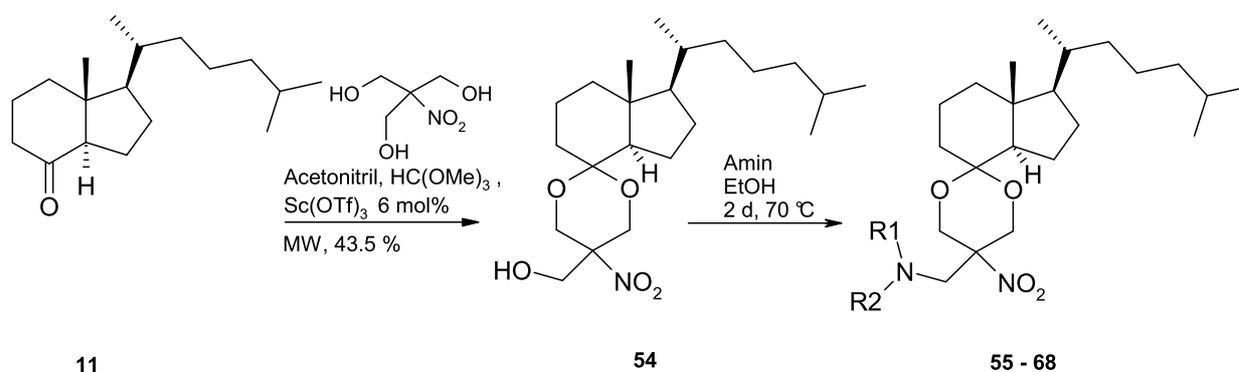


Abbildung 5-6: Darstellung des 5-Hydroxy-5-nitro-dioxans **54** und der Amine **55-68**

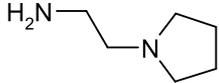
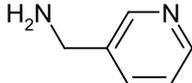
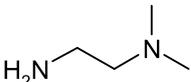
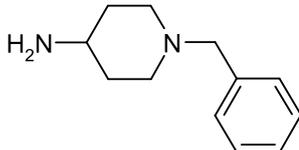
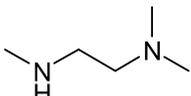
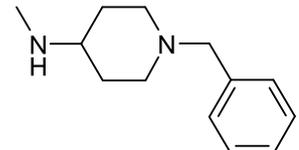
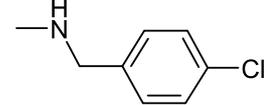
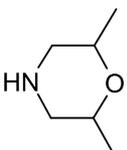
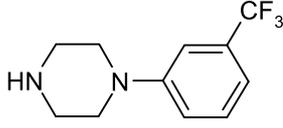
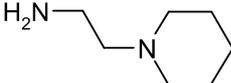
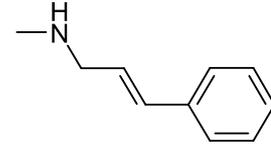
Amin R1-NH-R2	Substanz -nummer	Ausbeute	Amin R1-NH-R2	Substanz -nummer	Ausbeute
H_2NCH_3	55	31.5 %		62	26.1 %
$\text{HN}(\text{CH}_3)_2$	56	23.0 %		63	51.7 %
	57	21.0 %		64	26.2 %
	58	27.4 %		65	25.9 %
	59	38.8 %		66	32.3 %
	60	27.8 %		67	21.2 %
	61	21.4 %		68	28.9 %

Tabelle 5-1: Im Rahmen der vorliegenden Arbeit dargestellten Amine

Versuche zur Einführung von Diaminen, bei denen die distale Aminofunktion ein primäres oder sekundäres Amin ist, schlugen fehl. Ferner sollte bei den 5-Aminomethyl-5-nitrodioxanen auch die Nitrogruppe zu einer primären Aminogruppe reduziert werden. Diese Reduktion wurde an verschiedenen Verbindungen unter verschiedenen Bedingungen getestet. Bei der Synthesezwischenstufe, dem Nitroalkohol **54**, gelang dies in mäßiger Ausbeute mit Raney-Nickel und

Hydrazinhydrat als Wasserstoffquelle. Auf diese Weise konnte das 5-Amino-5-hydroxymethyl-1,3-dioxan **51a** erhalten werden.

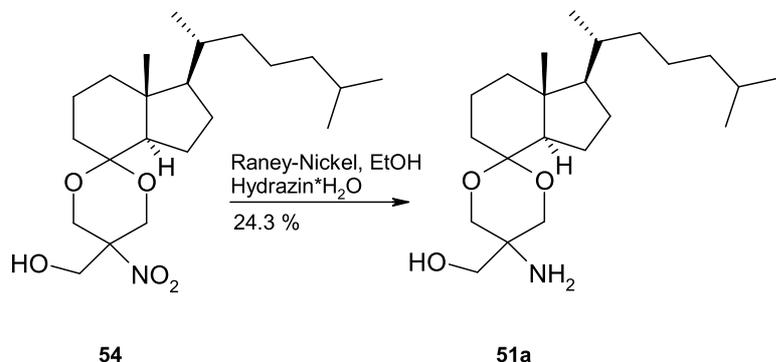


Abbildung 5-7: Reduktion der Verbindung **54** zu **51a**

Die Reduktionsversuche an diversen 5-Aminomethyl-5-nitroacetalen verliefen mit Raney-Nickel, Palladium/Kohle/Ammoniumformiat und Natriumborhydrid allesamt ergebnislos.

Die Verbindungen **57**, **61**, **64** und **65** konnten mittels des im AK Bracher entwickelten Cholesterolsynthese-Assays als spezifische Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase identifiziert werden. Da keine der Verbindungen im Agar-Diffusionstest eine Aktivität zeigte, wurden sie nicht im Ergosterolsynthese-Assay getestet. Alle aktiven Verbindungen enthalten zwei protonierbare Stickstoffatome, eins oder zwei davon tertiär, die zwei oder drei Methylengruppen voneinander entfernt sind (siehe Abb.5-8).

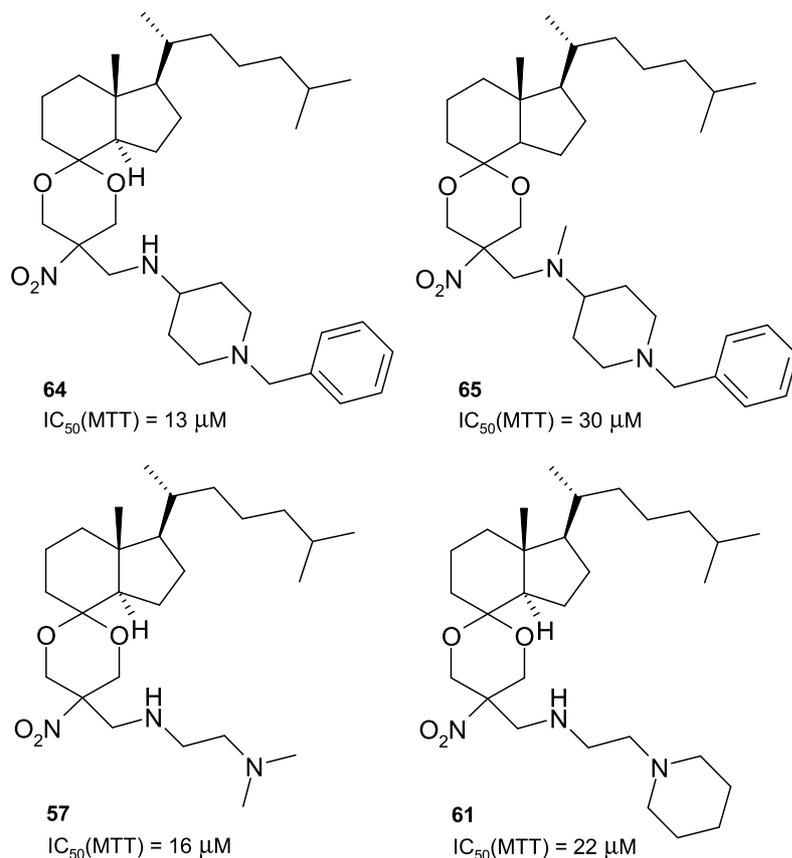
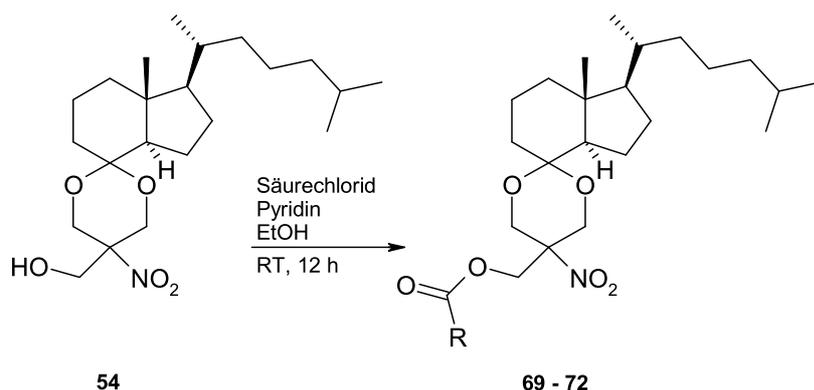


Abbildung 5-8: Im Rahmen der vorliegenden Arbeit von Grundmanns Keton (11) abgeleiteten spezifischen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase-Inhibitoren

Um eine Enzyminhibition zu erreichen muss das Molekül zwei protonierbare Stickstoffe, die in der Acetal-Seitenkette liegen, aufweisen. Verbindungen, die nur eine Aminogruppe enthalten (**55**, **56** und **68**) weisen zwar eine cytotoxische Aktivität im MTT-Test auf, aber keine Enzymhemmung im Cholesterolsynthese-Assay. Somit scheint der tertiäre Stickstoff der Ethylendiamin-Kette (Verbindungen **57** und **61**) bzw. der 1,3-Diaminopropan-Kette (Verbindungen **64**, **65** und **84**) für die Aktivität essenziell zu sein.

Um Stickstoffatome in räumliche Nähe der C-4-Position von Sterolen zu platzieren wurden ferner verschiedene Ester dargestellt. Dazu wurde das Acetal **54** mit Säurechloriden in Ethanol/Pyridin umgesetzt.

Abbildung 5-9: Veresterung des Acetals **54**

Zum Testen der Bedingungen wurde das Acetal **54** mit Benzoylchlorid (\rightarrow Verbindung **69**) umgesetzt. Zur Einführung einer basischen Stickstofffunktion in der Nähe der C-4-Position bei Sterolen wurde das Acetal mit Nicotinoylchlorid (\rightarrow Verbindung **70**) umgesetzt. Da die Morpholinpartialstruktur ein gängiges Motiv bei antimykotischen Wirkstoffen ist, wurde das Acetal **54** auch mit 4-Morpholincarbonylchlorid zu Verbindung **72** umgesetzt, allerdings weist **72** als Carbaminsäureester keine basische funktionelle Gruppe auf. Keine dieser Verbindungen weist eine Aktivität im Agar-Diffusions- oder MTT-Test auf.

Säurechlorid	Substanznummer	Ausbeute
	69	35.1 %
	70	17.1 %
	72	39.8 %

Tabelle 5-2: Zur Veresterung verwendete Säurechloride

Da Grundmanns Keton (**11**) ein sehr teures, durch Ozonolyse von Vitamin D₃ gewonnenes Edukt ist, sollte versucht werden mit günstigeren Ausgangsmaterialien ähnliche Verbindungen zu synthetisieren wie das Amin **64**, das im Cholesterolbiosynthese-Assay eine Hemmung der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase zeigte (siehe Abschnitt [4.4](#)). Die Wahl fiel auf gut zugängliche α -Tetralonderivate, die das

Perhydroinden-Strukturelement von Grundmanns Keton (**11**) imitieren sollten. Die Spiroacetalstruktur von Verbindung **64** wurde beibehalten. Um auch die lipophile Seitenkette von Grundmanns Keton (**11**) nachzustellen wurde an C-6 des Tetralon eine iso-Hexyloxyseitenkette eingeführt. Dazu wurde im ersten Schritt die Etherfunktion von **78** gespalten und dann das Phenol **81** in einer Williamson-Ether-Synthese mit 1-Brom-4-methylpentan zu 6-Isohexyloxy- α -tetralon (**82**) umgesetzt.

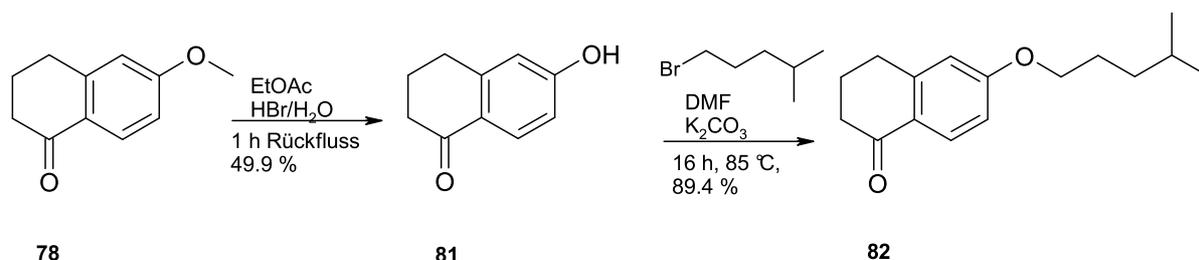


Abbildung 5-10: Darstellung von 6-Isohexyloxy- α -tetralon (**82**)

Es wurden verschiedene Methoden zur Acetalisierung der Tetralone mit Tris(hydroxymethyl)nitromethan getestet. Die besten Ausbeuten konnten durch eine Umsetzung ohne Lösungsmittel mit Triethyloorthoformiat und Tetrabutylammoniumtribromid (NBu₄Br₃) als Katalysator erzielt werden.

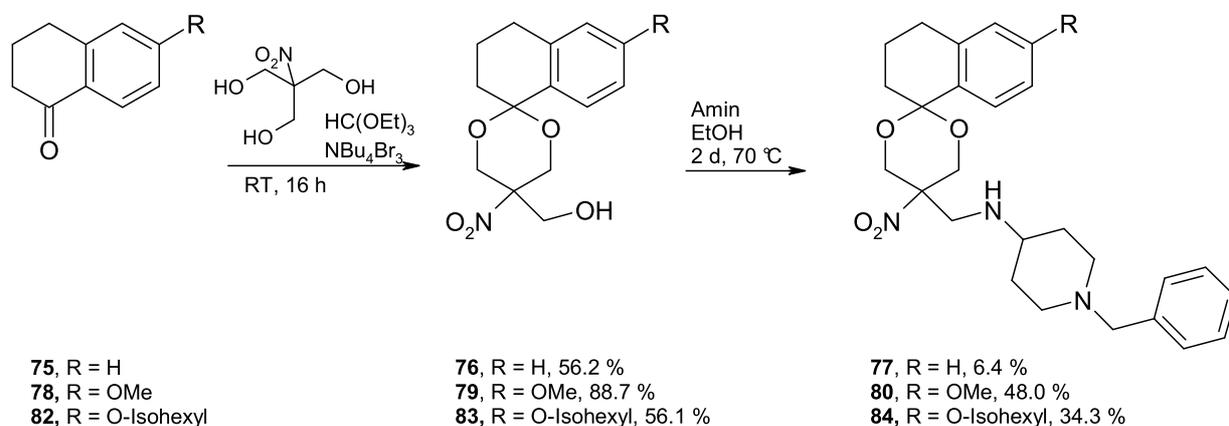


Abbildung 5-11: Übersicht der dargestellten Tetraline

Das am Aromaten unsubstituierte Tetralin **77** weist keine Enzymhemmung auf, das Methoxy-substituierte Tetralin **80** weist eine Multienzymhemmung auf und das Isohexyloxy-substituierte Tetralin **84** konnte als Inhibitor der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase identifiziert werden.

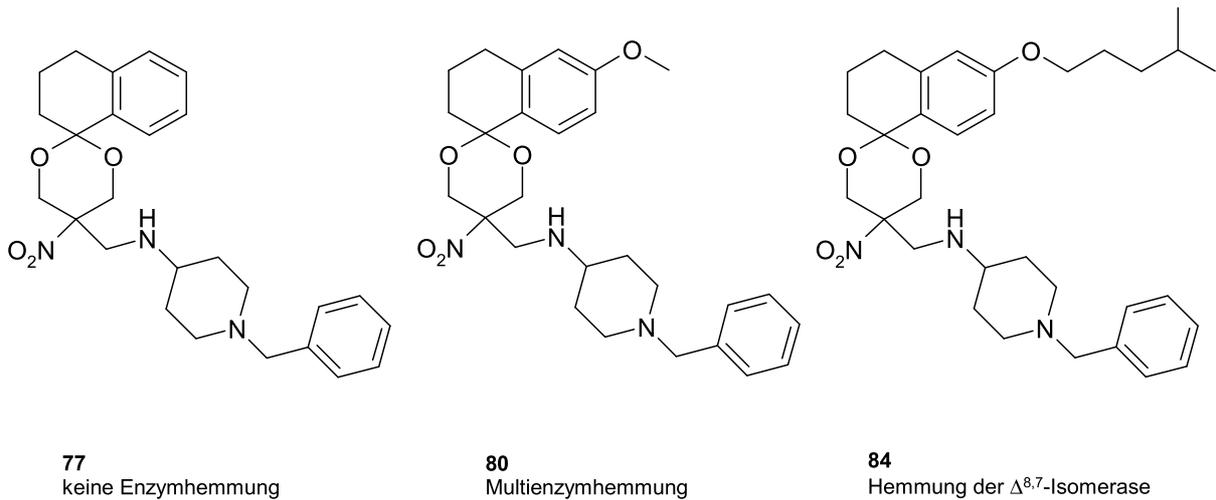


Abbildung 5-12: Gegenüberstellung der Tetraline 77, 80 und 84

An diesem Beispiel konnte bestätigt werden, dass ein Äquivalent für die aliphatische Seitenkette bei Sterolen essenziell für die Aktivität der dargestellten Verbindungen ist. Desweiteren konnte ausgehend von einer wesentlich günstigeren, achiralen Vorstufe ein spezifischer Inhibitor der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase synthetisiert werden, der im Vergleich mit der vom teureren, chiralen von Grundmanns Keton (**11**) abgeleiteten Leitstruktur **64** und deren N-methyliertem Derivat **65**, eine vergleichbare Inhibition der Cholesterolsynthese bewirkt. Die inhibitorische Aktivität ist also unabhängig von der chiralen Information. Ein weiterer Vorteil von **84** gegenüber den komplexeren Analoga wie **64** und **65** ist seine fehlende Cytotoxizität.

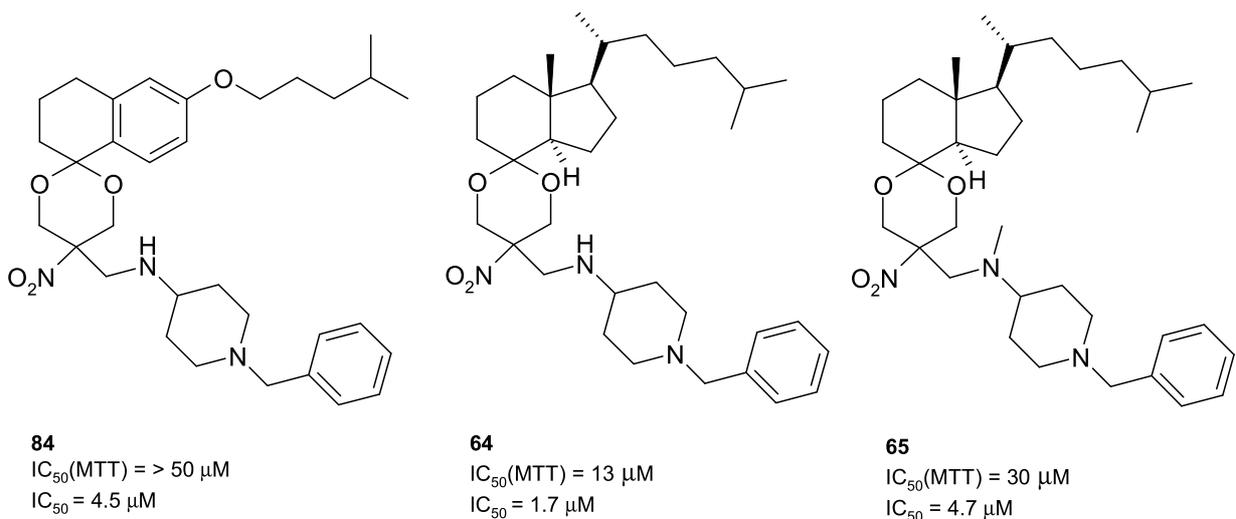


Abbildung 5-13: Strukturen der Verbindungen 84, 64 und 65 im direkten Vergleich

Die in Abb. 5-13 genannten IC₅₀-Werte beziehen sich auf die Hemmung der Cholesterol-Neusynthese in einem Ganzzell-Assay.

Die Darstellung einer zu **84** analogen Verbindung mit Indolgrundkörper konnte nicht realisiert werden.

Da viele Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase auch σ -Rezeptor-Liganden sind (siehe Abschnitt [1.1.3.4](#)), wurden zwei der im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Inhibitoren der humanen $\Delta^{8,7}$ -Isomerase (Verbindungen **64** und **84**) zur Testung auf σ -Rezeptor-Liganden Aktivität zu Prof. Wunsch an die Universität Münster geschickt. Die Ergebnisse liegen bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht vor.

6 Experimenteller Teil

6.1 Geräte und Parameter

6.1.1 Schmelzpunkte

Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mittels eines Büchi B-540 Apparats (Büchi, Flawil, Schweiz). Die Werte wurden nicht korrigiert.

6.1.2 IR-Spektroskopie

IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer FT-IR Paragon 1000 (Perkin-Elmer, Waltham, USA) oder einem Jasco FT/IR-410 (Jasco, Easton, USA) aufgenommen. Feststoffe wurden als KBr-Presslinge und Öle als Film zwischen zwei NaCl-Fenstern vermessen.

6.1.3 Massenspektrometrie

CI und EI: Hewlett Packard 5989 A Mass Spectrometer. EI bei 70 eV und CI mit Methan als Reaktandgas (Jeol, Tokio, Japan)

HR-MS: Jeol GC mate II System (Jeol, Tokio, Japan)

6.1.4 GC-MS

Die GC-MS-Analytik erfolgte mit dem System Varian GC 3800 (Varian, Darmstadt, Deutschland) gekoppelt mit dem MS-Detektor Ion trap Saturn (Varian, Darmstadt, Deutschland). Zur Reaktionskontrolle wurde das System Shimadzu GC 17-A mit Shimadzu GCMS OP-5000 (Shimadzu, Kyoto, Japan) verwendet.

6.1.5 NMR-Spektroskopie

Die Spektren wurden mit dem Spektrometer Jeol AS 400 ($^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, $^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz aufgenommen) (Jeol, Peabody, USA). Dieses Kernresonanz-Spektrometer kam auch bei DEPT-, HH-COSY-, HMBC- und CH-COSY-Spektren zum Einsatz. Die angegebenen Zahlenwerte beziehen sich auf die δ -Skala mit TMS als internen Standard. Die chemischen Verschiebungen (δ) sind in ppm und die Kopplungskonstanten in Hz angegeben. Als Lösungsmittel wurden CD_2Cl_2 , CDCl_3 , DMSO-d_6 verwendet.

6.1.6 Chromatographische Verfahren

Für die säulenchromatographische Aufreinigung der Rohprodukte wurde Kieselgel 60 der Korngröße 0.040-0.063 mm der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) als Adsorbens verwendet. Die verwendeten Elutionssysteme sind in der Synthesevorschrift der einzelnen Verbindungen angegeben, es handelt sich bei den angegebenen Mischungsverhältnissen um Volumenanteile.

Für die analytische Dünnschichtchromatographie wurden DC-Polyester-Fertigfolien Polygram[®] SIL G/UV₂₅₄ (0.2 mm Kieselgel, Format 40x80 mm) (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) verwendet. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht bei einer Wellenlänge $\lambda = 254$ nm und/oder mittels Verwendung von Cersulfat/Ammoniummolybdat Lösung und Hitze.

Für die präperative DC wurden DC Kieselgel 60 F₂₅₄ (0.6 mm Kieselgel, Format 20x20 cm) der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) verwendet. Hier erfolgte die Detektion ausschließlich mittels UV-Strahlung der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm.

6.1.7 Mikrowellensynthesen

Mikrowellensynthesen wurden mit dem single-mode Mikrowellenreaktor Discovery (CEM, Matthews, USA) durchgeführt. Die verwendeten Bedingungen sind in der jeweiligen Synthesevorschrift angegeben.

6.1.8 Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden an einem Elementar Vario EL (Elementar, Hanau, Deutschland) durchgeführt.

6.1.9 Polarimetrie

Verwendung fand ein Perkin Elmer Polarimeter 241 MC (Perkin Elmer, Waltham, USA).

6.1.10 Ozonolyse

Zur Ozonolyse wurde ein Ozonova Typ OG700-10WC (Jeske Ozontechnik, Rudersberg, Deutschland) verwendet. Die Parameter der Ozonolyse finden sich bei den jeweiligen Synthesevorschriften.

6.1.11 Software

- Microsoft Office 2003 (Microsoft, Redmond, USA)
- MestRENOVA 5.1.1. (Mestrelab Research, Santiago de Compostela, Spanien)
- ChemDraw Ultra 10.0 (CambridgeSoft, Cambridge, UK) MDL
- ISIS™/Draw (MDL Information Systems, San Diego, USA)
- Dynex Revelation Version 4.06

6.1.12 Trocknung der Lösungsmittel

Wenn angegeben wurden CH_2Cl_2 über K_2CO_3 zum Rückfluss erhitzt und destilliert und THF über Natrium zum Rückfluss erhitzt und destilliert.

6.1.13 Sterilbank

Zur biologischen Testung wurde ein Laminar Air Flow (Heraeus/Kendro, Berlin, Deutschland) verwendet.

6.1.14 UV – Spektrophotometer

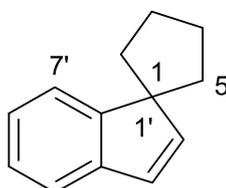
Verwendet wurde ein Dynex MRX II (Dynex Technologies GmbH, Denkendorf, Deutschland).

6.1.15 Zentrifuge

Verwendung fand in der biologischen Testung eine Eppendorf 5415 D (Eppendorf, Hamburg, Deutschland).

6.2 Nomenklatur der Spiroverbindungen

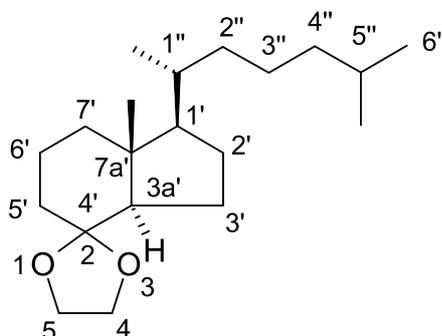
Die Nomenklatur und Nummerierung der dargestellten Spiroverbindungen erfolgte nach der IUPAC-Regel „SP-4: Monospiroverbindungen mit unterschiedlichen Komponenten, von denen mindestens eine polycyclisch ist“¹³⁷. Nach dieser Regel werden die Namen der Komponenten in alphabetischer Reihenfolge in eckige Klammern eingeschlossen und das Präfix „Spiro“ vorangestellt. Die Position des Spiroatoms wird durch die entsprechenden Lokanten bezeichnet, die durch ein Komma voneinander getrennt, zwischen den Namen der beiden Komponenten eingefügt werden.



Spiro[cyclopentan-1,1'-inden]

Abbildung 6-1: Spironomenklatur am Beispiel Spiro[cyclopentan-1,1'-inden]

Die Konfiguration der Stereozentren wird in runden Klammern an den Anfang des Namens gesetzt, gefolgt von den Substituenten des Spirosystems in alphabetischer Reihenfolge, so dass sich für das Dioxolan **33** folgender Name und Nummerierung ergibt:

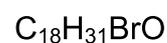
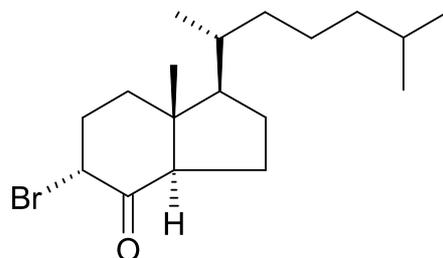


(1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxolan-2,4'-octahydroinden]

Abbildung 6-2: Spironomenklatur am Beispiel des Dioxolans 33

6.3 Synthesevorschriften

6.3.1 (1*R*,3*aR*,5*R*,7*aR*,1'*R*)-5-Brom-7*a*-methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-on (3)



1.29 g (3.81 mmol) des Silylenolethers **13** werden in 15 ml THF gelöst. Bei 0 °C wird eine Lösung von 0.900 g (4.98 mmol, 1.3 eq) NBS und 63 mg (0.762 mmol, 0.2 eq) Natriumacetat in 30 ml THF/Wasser (1:1) langsam zugetropft. Das Gemisch wird auf RT erwärmt und über Nacht gerührt. Das organische Lösungsmittel wird destillativ entfernt und die wässrige Phase dreimal mit je 50 ml Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet. Das Filtrat wird zur Trockene eingengt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (95:5) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

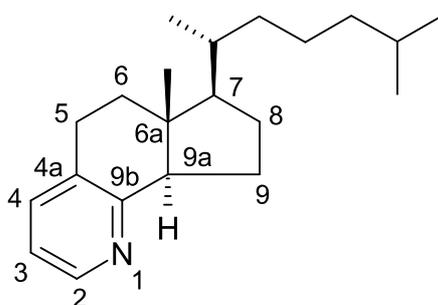
Ausbeute: 737 mg (2.15 mmol, 56.4 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 4.25 (dd, 1H, $J = 4.6 \text{ Hz}, 1.7 \text{ Hz}$, 5-H), 3.36 (dd, 1H, $J = 11.7 \text{ Hz}, 7.4 \text{ Hz}$, 3a-H), 2.42 (ddt, 1H, $J = 16.3 \text{ Hz}, 12.5 \text{ Hz}, 5.1 \text{ Hz}$, 6-H), 2.23–2.16 (m, 1H, 6-H), 2.02–1.85 (m, 3H, 2-H, 7-H), 1.70 (dtd, 1H, $J = 13.1 \text{ Hz}, 11.7 \text{ Hz}, 6.3 \text{ Hz}$, 3-H), 1.60–1.44 (m, 3H, 1-H, 3-H, 5'-H), 1.40–1.24 (m, 4H, 2-H, 1'-H, 2'-H), 1.18–0.97 (m, 4H, 3'-H, 4'-H), 0.92 (d, 3H, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 1'- CH_3), 0.85 (d, 3H, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 6'-H), 0.83 (d, 3H, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 5'- CH_3), 0.60 (s, 3H, 7a- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 205.31 (C-4), 56.48 (C-1), 55.67 (C-3a), 50.97 (C-5), 50.39 (C-7a), 39.48 (C-3), 35.99 (C-3'), 35.56 (C-2'), 34.42 (C-7), 32.98 (C-6), 28.08 (C-5'), 27.40 (C-2), 23.79 (C-1'), 22.88 (C-6'), 22.62 (C-5'- CH_3), 18.97 (C-1'- CH_3), 18.81 (C-4'), 12.34 (C-7a- CH_3)

MS (CI): m/z (%) = 343 (42, M⁺+1), 221 (100)

6.3.2 (6a*R*,7*R*,9a*R*,1'*R*)-6a-Methyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6a,9a-tetrahydro-5H-cyclopenta[*h*]chinolin (9)



C₂₁H₃₃N

M = 299.50 g/mol

Vorschrift 1: 0.86 g (2.7 mmol) des O-Allyloxims von Grundmanns Keton **28** werden thermolytisch ohne Lösungsmittel unter Mikrowellenbedingungen im geschlossenen System umgesetzt.

Mikrowellenparameter: P = 300 W
T = 290 °C
t = 5 min
p = max. 8 bar

Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 0.23 g (0.76 mmol, 28.2 %)

Vorschrift 2: 848 mg (2.05 mmol) des α -substituierten Dimethylhydrazons **24** werden in 5 ml Essigsäure gelöst und 3 h unter Mikrowellenstrahlung (P = 300 W) zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wird mit gesättigter Na₂CO₃-Lösung neutralisiert und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 182 mg (0.61 mmol, 29.8 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 8.36 (d, 1H, J = 4.8 Hz, 2-H), 7.31 (d, 1H, J = 7.6 Hz, 4-H), 6.95 (dd, 1H, J = 7.6 Hz, 4.7 Hz, 3-H), 2.79 (dd, 1H, J = 8.5 Hz, 8.5 Hz, 8-H), 2.67-2.65 (m, 2H, 5-H), 2.29-2.22 (m, 1H, 11-H), 1.79-1.73 (m, 2H, 9-H), 1.49-1.32 (m, 8H, 6-H, 10-H, 2'-H, 3'-H), 1.16-1.07 (m, 4H, 1'-H, 4'-H, 5'-H), 1.01 (s, 3H, 7-CH₃), 0.94 (d, 3H, J = 6.5 Hz, 1'-CH₃), 0.84 (d, 3H, J = 6.6 Hz, 6'-H), 0.82 (d, 3H, J = 6.6 Hz, 5'-CH₃)

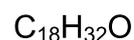
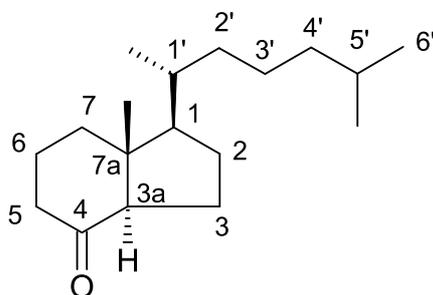
¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 161.44 (C-8a), 147.26 (C-2), 135.48 (C-4), 131.67 (C-4a), 120.49 (C-3), 54.90 (C-8), 53.27 (C-11), 42.52 (C-7), 39.56 (C-2'), 35.71 (C-6), 35.35 (C-3'), 33.83 (C-1'), 31.73 (C-10), 28.88 (C-9), 28.06 (C-5'), 25.97 (C-5), 24.44 (C-4'), 23.40 (C-6a-CH₃), 22.89 (C-6'), 22.64 (C-5'-CH₃), 19.72 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 300 (100, M⁺+1), 159 (12)

HR-MS (EI):

m/z (berechnet)	299.2613
m/z (gefunden)	299.2608
Abweichung in %	-0.002

6.3.3 (1*R*,3*aR*,7*aR*,1'*R*)-7*a*-Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-on (Grundmanns Keton (11))



5.00 g (13.0 mmol) Vitamin D₃ werden in 100 ml Methanol gelöst. Die Lösung wird auf -35 °C abgekühlt und unter Rühren 30 min lang Ozon eingeleitet (Gasfluss: 60 l/h). Anschließend wird die Lösung mit 50 ml Wasser versetzt und das Methanol destillativ entfernt. Die restliche Lösung wird dreimal mit je 50 ml Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (98:2) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

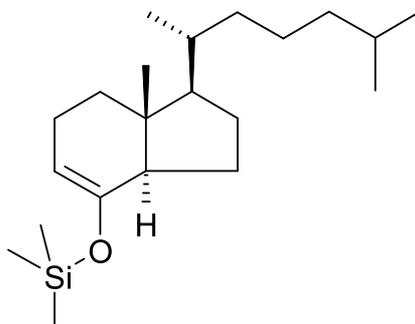
Ausbeute: 3.35 g (12.6 mmol, 97 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 2.31-2.20 (m, 3H, 5-H, 3-H), 2.13-2.07 (m, 1H, 3*a*-H), 1.77-1.71 (m, 3H, 2-H, 3-H), 1.71-1.65 (m, 2H, 7-H), 1.56-1.43 (m, 2H, 6-H), 1.37-1.22 (m, 5H, 3'-H, 2'-H, 1'-H), 1.12-1.02 (m, 3H, 5'-H, 4'-H), 0.99 (s, 3H, 7*a*-CH₃), 0.97-0.92 (m, 1H, 1-H), 0.85 (d, 3H, J = 6.6 Hz, 1'-CH₃), 0.81 (d, 3H, J = 5.3 Hz, 5'-CH₃), 0.80 (d, 3H, J = 5.3 Hz, 6'-H)

¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 213.73 (C-4), 61.46 (C-3*a*), 50.44 (C-1), 48.77 (C-7*a*), 40.27 (C-5), 39.47 (C-6), 36.44 (C-7), 35.84 (C-3), 34.41 (C-1'), 28.03 (C-5'), 27.78 (C-2), 24.23 (C-2'), 23.10 (C-7*a*-CH₃), 22.87 (C-5'-CH₃), 22.60 (C-6'), 21.35 (C-3'), 20.87 (C-4'), 19.17 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 265 (74, M⁺+1), 247 (100)

6.3.4 (1*R*,3*aR*,7*aR*,1'*R*)-7*a*-Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-2,3,3*a*,6,7,7*a*-hexahydro-1*H*-inden-4-yloxy-trimethylsilan (13)



0.70 ml (7.04 mmol, 1.5 eq) Diisopropylamin werden in 45 ml frisch destilliertem THF bei -20 °C unter Stickstoffatmosphäre gelöst und mit 3.9 ml (6.1 mmol, 1.3 eq, 1.6 M Lösung in Hexan) n-Butyllithium-Lösung versetzt. Die Lösung wird 20 min gerührt, dann auf -78 °C abgekühlt. 1.24 g (4.69 mmol) Grundmanns Keton (**11**) in 85 ml wasserfreiem THF wird langsam hinzu getropft, es wird weitere 2 h gerührt. Anschließend werden zu der Lösung 8.8 ml (6.57 mmol, 1.4 eq) TMS-Cl hinzu gegeben. Die entstandene Lösung lässt man auf RT erwärmen und rührt weitere 12 h. Das Lösungsmittel wird destillativ entfernt und der Rückstand in Diethylether aufgenommen. Die Suspension wird filtriert und das Filtrat über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (99:1) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

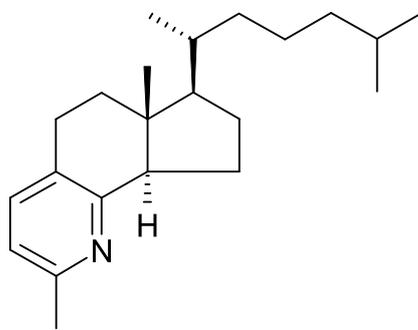
Ausbeute: 1.29 g (3.81 mmol, 81.2 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 3.75 (dd, 1H, *J* = 3.3 Hz, 1.6 Hz, 5-H), 2.70–2.51 (m, 3H, 3*a*-H, 6-H), 2.45–2.30 (m, 2H, 3-H), 2.12–2.04 (m, 1H, 1-H), 2.03–1.94 (m, 1H, 1'-H), 1.92–1.72 (m, 7H, 2-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 1.70–1.55 (m, 4H, 2'-H, 7-H), 1.41 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz, 1'-CH₃), 1.34 (d, 3H, *J* = 5.3 Hz, 5'-CH₃), 1.33 (d, 3H, *J* = 5.3 Hz, 6'-H), 1.21 (s, 3H, 7*a*-CH₃), 0.60 (s, 9H, (Si(CH₃)₃))

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 153.76 (C-4), 103.42 (C-5), 57.33 (C-1), 54.23 (C-3a), 46.01 (C-7a), 41.82 (C-6), 38.63 (C-3), 38.56 (C-3'), 38.47 (C-7), 30.57 (C-2'), 30.31 (C-5'), 26.13 (C-1'), 25.36 (C-2), 24.35 (C-6'), 24.29 (C-5'-CH₃), 24.10 (C-1'-CH₃), 20.38 (C-7a-CH₃), 12.87 (C-4'), 1.51 (Si(CH₃)₃)

MS (CI): m/z (%) = 337 (40, $\text{M}^+ + 1$), 247 (100)

6.3.5 (6a*R*,7*R*,9a*R*,1'*R*)-2,6a-Dimethyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6a,9a-tetrahydro-5H-cyclopenta[*h*]chinolin (15)



$\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}$

$M = 313.53 \text{ g/mol}$

0.86 g (2.7 mmol) des *O*-Crotyloxims von Grundmanns Keton **29** werden ohne Lösungsmittel thermolytisch unter Mikrowellenbedingungen im geschlossenen System umgesetzt.

Mikrowellenparameter: $P = 300 \text{ W}$

$T = 290 \text{ }^\circ\text{C}$

$t = 5 \text{ min}$

$p = \text{max. } 8 \text{ bar}$

Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 0.24 g (0.75 mmol, 21.3 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 7.22 (d, 1H, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 4-H), 6.84 (d, 1H, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 3-H), 2.78 (t, 1H, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 9a-H), 2.65-2.62 (m, 2H, 5-H), 2.47 (s, 3H, 2-CH₃), 2.30-2.23 (m, 1H, 7-H), 1.83-1.73 (m, 2H, 9-H), 1.49-1.35 (m, 8H, 6-H, 8-H,

2'-H, 3'-H), 1.17-1.07 (m, 4H, 1'-H, 4'-H, 5'-H), 1.01 (s, 3H, 6a-CH₃), 0.95 (d, 3H, J = 6.4 Hz, 1'-CH₃), 0.86 (d, 3H, J = 6.6 Hz, 6'-H), 0.84 (d, 3H, J = 6.6 Hz, 5'-CH₃)

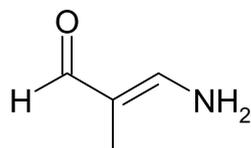
¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 160.57 (C-9b), 155.51 (C-2), 136.25 (C-4), 128.19 (C-4a), 120.14 (C-3), 55.09 (C-9a), 53.23 (C-7), 42.45 (C-6a), 39.58 (C-2'), 35.63 (C-6), 35.51 (C-3'), 33.86 (C-1'), 32.34 (C-8) 28.71 (C-9), 28.08 (C-5'), 25.54 (C-5), 24.53 (C-4'), 24.35 (C-2-CH₃), 23.41 (C-6a-CH₃), 22.90 (C-6'), 22.64 (C-5'-CH₃), 19.80 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 314 (100, M⁺+1), 160 (16)

HR-MS (EI):

m/z (berechnet)	313.2769
m/z (gefunden)	313.2800
Abweichung in %	0.001

6.3.6 2-Methyl-3-aminoacrolein (19)



C₄H₇N

M = 85.11 g/mol

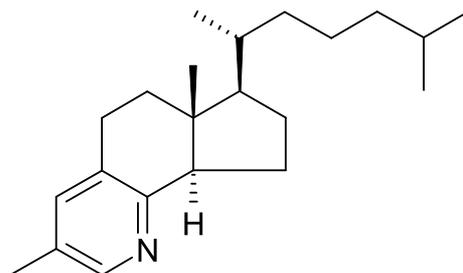
0.10 ml (0.84 mmol) 3-Ethoxymethacrolein werden in 1.00 ml konzentrierter Ammoniaklösung 12 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird destillativ entfernt. Es entstehen gelbe Kristalle, die aus Ethylacetat umkristallisiert werden. Der Feststoff wird ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

Rohausbeute: 72 mg (0.85 mmol, quantitativ)

¹H-NMR (400 MHz, in D₂O): δ (ppm) = 8.57 (s, 1H, 1-H), 7.36 (s, 1H, 3-H), 1.60 (s, 3H, 2-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, in D₂O): δ (ppm) = 189.58 (C-1), 160.56 (C-3), 108.86 (C-2), 3.69 (C-2-CH₃)

6.3.7 (6a*R*,7*R*,9a*R*,1'*R*)-3,6a-Dimethyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6a,9a-tetrahydro-5H-cyclopenta[*h*]chinolin (**22**)



C₂₂H₃₅N

M = 313.53 g/mol

Vorschrift 1: 100 mg Grundmanns Keton (**11**) (0.38 mmol), 32 mg (0.38 mmol, 1.0 eq) 2-Methyl-3-aminoacrolein (**19**), 20 µl Triethylamin und 4 mg (0.03 mmol, 8 mol%) Piperidiniumacetat werden thermolytisch unter Mikrowellenbedingungen im geschlossenen System umgesetzt.

Mikrowellenparameter: P = 300 W

T = 290 °C

t = 6 min

p = max. 8 bar

Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 11 mg (0.03 mmol, 9.0 %)

Vorschrift 2: 1.40 g (5.29 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 450 mg (5.29 mmol, 1 eq) 2-Methyl-3-aminoacrolein (**19**) werden in 14 ml Eisessig gelöst und 4 h unter Mikrowellenbedingungen (P = 300 W) zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wird mit 10 % iger KHCO₃-Lösung neutralisiert und dreimal mit je 40 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 146 mg (0.46 mmol, 8.7 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 8.24 (s, 1H, 2-H), 7.20 (s, 1H, 4-H), 2.80 (t, 1H, *J* = 8.3 Hz, 9a-H), 2.65 (s, 2H, 5-H), 2.26 (s, 3H, 3-CH₃), 1.59–1.23 (m, 15H, 6-H, 7-H, 8-H, 9-H, 7'-H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 1.02 (s, 3H, 6a-CH₃), 0.96 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz, 1'-CH₃), 0.86 (m, 6H, 6'-H, 5'-CH₃)

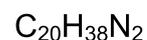
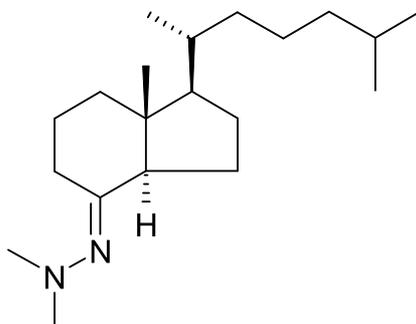
¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 158.17 (C-9b), 147.27 (C-2), 136.94 (C-4), 131.25 (C-4a), 129.90 (C-3), 54.19 (C-7), 53.17 (C-9a), 42.55 (C-6a), 39.56 (C-2'), 35.70 (C-6), 35.32 (C-3'), 33.83 (C-1'), 31.84 (C-7), 28.89 (C-9), 28.08 (C-5'), 25.82 (C-5), 24.45 (C-4'), 23.34 (C-3-CH₃), 22.90 (C-6a-CH₃), 22.65 (C-6'), 19.74 (C-5'-CH₃), 18.01 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 314 (100, M⁺+1), 160 (16)

HR-MS (EI):

m/z (berechnet)	313.2769
m/z (gefunden)	313.2614
Abweichung in %	0.005

6.3.8 N'-[(1*R*,3*aR*,7*aR*,1'*R*)-7*a*-Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-yliden]-N,N-dimethylhydrazin (**23**)



3.00 g (11.3 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 3.44 ml (45.4 mmol, 4 eq) N,N-Dimethylhydrazin werden in 30 ml EtOH gelöst und 4 h unter Mikrowellenstrahlung (P = 150 W) zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wird mit 50 ml 10 %iger Salzsäure versetzt und dreimal mit je 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (8:2) als Eluent. Das Produkt ist ein hellgelbes Öl.

Ausbeute: 1.62 g (5.28 mmol, 46.6 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 2.36 (s, 3H, N-CH₃), 2.35 (s, 3H, N-CH₃), 2.32–2.20 (m, 1H, 3a-H), 2.15–0.97 (m, 19H, 1-H, 2-H, 3-H, 5-H, 6-H, 7-H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 0.96 (s, 3H, 7a-CH₃), 0.89–0.84 (m, 9H, 1'-CH₃, 5'-CH₃, 6'-H)

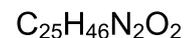
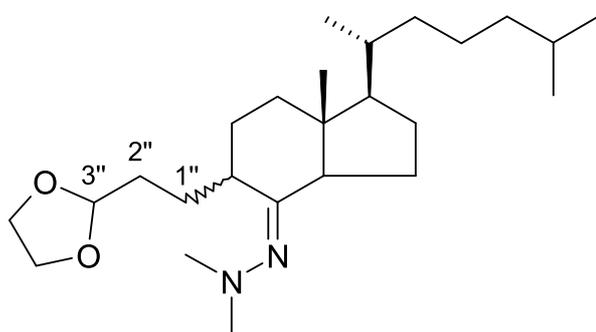
¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 170.57 (C-4), 54.96 (C-3a), 53.40 (C-1), 46.33 (C-7a), 44.93 (C-5), 39.84 (N(CH₃)₂), 38.39 (C-6), 36.39 (C-7), 33.38 (C-3), 32.83 (C-1'), 27.01 (C-5'), 26.39 (C-2), 23.79 (C-2'), 22.83 (C-7a-CH₃), 21.78 (C-5'-CH₃), 21.49 (C-6'), 21.06 (C-3'), 19.94 (C-4'), 18.71 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 307 (100, M⁺+1), 278 (18)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	306.3035
m/z (gefunden)	306.3002
Abweichung in %	-0.001

6.3.9 N'-[(1*R*,3*aR*,7*aR*,1'*R*)-7*a*-Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-5-[2-(1,3-dioxolan-2-yl)ethyl]octahydroinden-4-yliden]-N,N-dimethylhydrazin (24)



3.00 ml (5.28 mmol, 1 eq) Lithiumdiisopropylamid (LDA; 1.76-M Lösung in THF) werden unter Stickstoffatmosphäre zu 20 ml wasserfreiem THF gegeben und auf 0 °C abgekühlt. 1.62 g (5.28 mmol) des Dimethylhydrazons **23** in 30 ml wasserfreiem THF werden langsam hinzu getropft. Die Lösung wird 2 h bei 0 °C gerührt, dann auf -78 °C abgekühlt und 0.62 ml (5.28 mmol, 1 eq) 2-(2-Bromoethyl)-1,3-dioxolan (BED) hinzugegeben. Es wird eine weitere Stunde bei -78°C gerührt, dann auf RT erwärmen lassen. Die Lösung wird mit 40 ml Wasser versetzt und dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (7:3) als Eluent. Das Produkt ist ein hellgelbes Öl.

Ausbeute: 848 mg (2.08 mmol, 39.4 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 4.83 (t, 1H, *J* = 4.4 Hz, 3''-H), 3.99–3.91 (m, 2H, Acetal-CH₂), 3.88–3.79 (m, 2H, Acetal-CH₂), 2.50–2.43 (m, 6H, N(CH₃)₂), 2.41

(dd, 1H, $J = 8.5$ Hz, 5.3 Hz, 3a-H), 2.31–2.19 (m, 1H, 2''-H), 2.14–2.02 (m, 1H, 2''-H), 1.95–1.83 (m, 2H, 1''-H), 1.81–1.04 (m, 17H, 1-H, 2-H, 3-H, 5-H, 6-H, 7-H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 1.02 (s, 3H, 7a-CH₃), 0.93 (m, 1H, 1'-H), 0.88–0.83 (m, 9H, 1'-CH₃, 5'-CH₃, 6'-H)

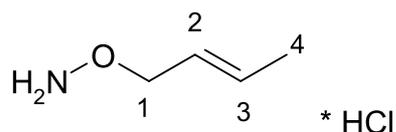
¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 174.90 (C-4), 104.23 (C-3''), 64.87 (Acetal-CH₂), 64.84 (Acetal-CH₂), 58.79 (C-3a), 54.43 (C-1), 49.15 (C-7a), 48.42 (C-5), 39.84 (N(CH₃)₂), 39.38 (C-6), 36.57 (C-7), 35.44 (C-3), 34.17 (C-1'), 31.38 (C-5'), 28.27 (C-2), 27.96 (C-2'), 27.54 (C-2''), 26.01 (C-1''), 24.17 (C-7a-CH₃), 22.78 (C-5'-CH₃), 22.51 (C-6'), 22.01 (C-3'), 21.57 (C-4'), 19.02 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 407 (100, M⁺+1)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	406.3559
m/z (gefunden)	406.3185
Abweichung in %	-0.009

6.3.10 Crotylhydroxylamin-Hydrochlorid (26)



C₄H₉NO

M = 217.23 g/mol

4.16 g (19.2 mmol) N-Crotyloxyphthalimid (**27**) werden in 40 ml EtOH suspendiert und zum Rückfluss erhitzt, wobei sich eine klare Lösung bildet. 0.99 ml (1.02 g, 19.2 mmol) Hydrazinhydrat werden hinzugegeben und die resultierende Lösung wird 2 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird auf 50 ml 3 %ige Na₂CO₃-Lösung geschüttet, wobei der während der Reaktion entstandene Niederschlag wieder in Lösung geht. Es wird dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die etherische Phase wird mit 100 ml 2 N HCl extrahiert und die wässrige Phase wird bis

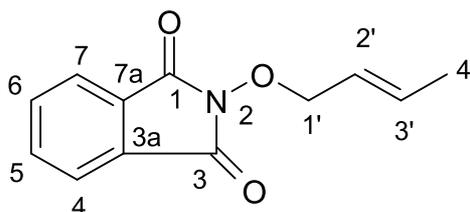
zur Trockene eingengt. Der weiße, amorphe Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet.

Ausbeute: 1.20 g (13.8 mmol, 71.7 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 11.11 (s, 3H, NH₃⁺), 5.88 (dt, 1H, J = 5.2 Hz, 7.0 Hz, 2-H), 5.56 (dq, 1H, J = 1.2 Hz, 4.2 Hz, 3-H), 4.46 (d, J = 6.8 Hz, 2H, 1-H), 1.70 (d, 3H, J = 6.1 Hz, 4-H),

¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 134.46 (C-2), 123.53 (C-3), 74.38 (C-4), 17.72 (C-1)

6.3.11 N-Crotyloxyphthalimid (27)



C₁₂H₁₁NO₃

M = 217.23 g/mol

1.96 ml (1.81 g, 20.0 mmol) Crotylchlorid werden tropfenweise zu einer Suspension von 2.76 g (20.0 mmol) K₂CO₃ und 3.26 g (20.0 mmol) N-Hydroxyphthalimid in 34 ml DMSO gegeben. Die Reaktionsmischung wird 5 d bei RT gerührt und anschließend auf kaltes Wasser geschüttet. Dabei fällt das Produkt als weiße Kristalle aus. Das Produkt wird abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen.

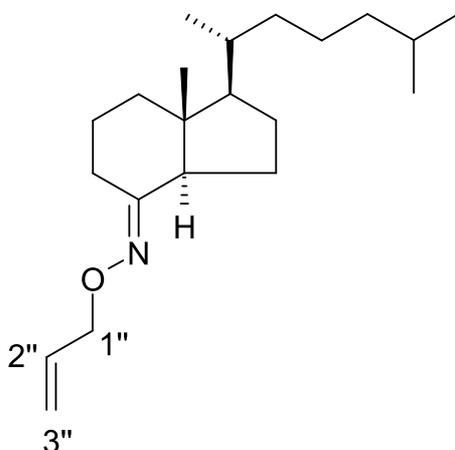
Ausbeute: 4.21 g (19.4 mmol, 97 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 7.83-7.82 (m, 2H, 7-H, 4-H), 7.74-7.73 (m, 2H, 6-H, 5-H), 5.88-8.72 (m, 2H, 2'-H, 3'-H), 4.62 (d, 2H, J = 6.2 Hz, 1'-H), 1.69 (d, 3H, J = 6.6 Hz, 4'-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 163.92 (C-1, C-3), 135.62 (C-3'), 134.54 (C-6, C-5), 128.95 (C-7a, C-3a), 124.21 (C-2'), 123.57 (C-7, C-4), 78.71 (C-1'), 18.02 (C-4')

MS (CI): m/z (%) = 218 (10, $\text{M}^+ + 1$), 164 (100)

6.3.12 (1*R*,3*aR*,7*aR*,1'*R*)-7*a*-Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-octahydroinden-4-on-*O*-allyl-oxim (**28**)



$\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{NO}$

$M = 319.54 \text{ g/mol}$

3.03 g (11.3 mmol) Grundmanns Keton (**11**), 2.15 g (19.6 mmol, 1.7 eq) *O*-Allylhydroxylamin-Hydrochlorid, 1.34 g (22.6 mmol, 2 eq) Natriumacetat und 2.40 g (22.6 mmol, 2 eq) Natriumcarbonat werden in 25 ml Ethanol suspendiert. Die Reaktionsmischung wird 6 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend weitere 12 h bei RT gerührt. Die Suspension wird bis zur Trockene eingeeengt, der Rückstand wird in 60 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und dreimal mit je 50 ml 1.5 %iger Salzsäure gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (94:6) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 2.93 g (9.30 mmol, 82.3 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 6.02-5.95 (m, 1H, 2''-H), 5.29-5.15 (m, 2H, 3''-H), 4.52 (m, 2H, 1''-H), 2.30-2.25 (m, 1H, 3a-H), 2.06-1.99 (m, 1H, 1-H), 1.88-

1.82 (m, 1H, 3-H), 1.62-1.46 (m, 9 H, 6-H, 5-H, 3-H, 3'-H, 2'-H), 1.33-1.24 (m, 5H, 2-H, 4'-H, 1'-H), 1.12-1.09 (m, 3H, 7-H, 5'-H), 0.96 (s, 3H, 7a-CH₃), 0.89-0.85 (m, 9 H, 1'-CH₃, 5'-CH₃, 6'-H)

¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 160.63 (C-4), 134.72 (C-2''), 116.91 (C-3''), 74.19 (C-1''), 56.08 (C-3a), 52.68 (C-1), 46.59 (C-7a), 39.54 (C-5), 37.64 (C-6), 36.17 (C-7), 35.16 (C-3), 34.04 (C-1'), 28.03 (C-5'), 24.85 (C-2), 23.90 (C-2'), 23.13 (C-7a-CH₃), 23.08 (C-5'-CH₃), 22.65 (C-6'), 22.08 (C-3'), 19.65 (C-4'), 18.90 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 320 (100, M⁺+1), 262 (50)

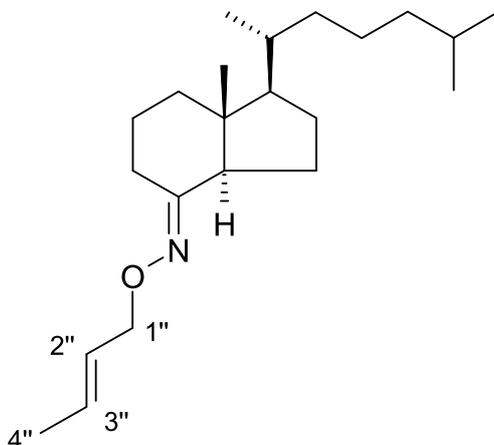
HRMS (EI):

m/z (berechnet)	319.2875
m/z (gefunden)	319.2867
Abweichung in %	-0.003

CHN:

	C	H	N
berechnet	78.94	11.67	4.31
gefunden	78.89	11.70	4.31
Abweichung in %	-0.05	0.03	-0.07

**6.3.13 (1*R*,3*aR*,7*aR*,1'*R*)-7*a*-Methyl-1-(1,5-dimethylhexyl)-
octahydroinden-4-on-*O*-crotyl-oxim (**29**)**



$C_{22}H_{39}NO$

$M = 333.56 \text{ g/mol}$

1.16 g (4.40 mmol) Grundmanns Keton (**11**), 1.09 g (8.80 mmol, 2 eq) *O*-Crotylhydroxylamin-Hydrochlorid (**26**), 0.53 g (8.80 mmol, 2 eq) Natriumacetat und 0.93 g (8.80 mmol, 2 eq) Natriumcarbonat werden in 10 ml Ethanol suspendiert. Die Reaktionsmischung wird 6 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend weitere 12 h bei RT gerührt. Die Suspension wird eingeeengt, der Rückstand wird in 60 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und dreimal mit je 50 ml 1.5 %iger Salzsäure gewaschen. Die organische Phase wird über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (94:6) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 1.17 g (3.52 mmol, 76.0 %)

1H -NMR (400 MHz, in $CDCl_3$): δ (ppm) = 5.73-5.63 (m, 2H, 2''-H, 3''-H), 4.46-4.43 (m, 2H, 1''-H), 2.38-2.25 (m, 1H, 3*a*-H), 2.06-1.98 (m, 1H, 1-H), 1.90-1.83 (m, 1H, 3-H), 1.72-1.69 (m, 3H, 4''-H), 1.61-1.46 (m, 7 H, 6-H, 5-H, 3-H, 3'-H), 1.35-1.28 (m, 6H, 2-H, 5'-H, 2'-H, 1'-H), 1.14-1.07 (m, 4H, 7-H, 4'-H), 0.97 (s, 3H, 7*a*- CH_3), 0.89-0.85 (m, 9 H, 1'- CH_3 , 5'- CH_3 , 6'-H)

^{13}C -NMR (100 MHz, in $CDCl_3$): δ (ppm) = 160.36 (C-4), 128.14 (C-2''), 126.08 (C-3''), 72.76 (C-1''), 54.78 (C-3*a*), 52.84 (C-1), 45.19 (C-7*a*), 38.20 (C-5), 36.31 (C-6),

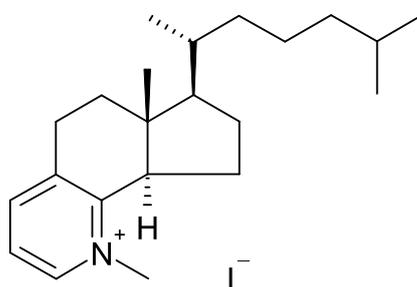
34.87 (C-7), 34.65 (C-3), 33.84 (C-1'), 26.74 (C-5'), 26.67 (C-2), 23.48 (C-2'), 23.30 (C-7a-CH₃), 22.56 (C-5'-CH₃), 21.80 (C-6'), 21.26 (C-4''), 19.40 (C-3'), 18.20 (C-4'), 16.61 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 334 (100, M⁺+1), 262 (58)

CHN:

	C	H	N
berechnet	79.22	11.79	4.20
gefunden	79.10	12.08	4.39
Abweichung in %	-0.12	0.29	0.19

6.3.14 (6a*R*,7*R*,9a*R*,1'*R*)-N-Methyl-7-(1,5-dimethylhexyl)-6,6a,9a-tetrahydro-5H-cyclopenta[*h*]chinoliniumiodid (30)



C₂₂H₃₆N⁺I⁻

M = 441.44 g/mol

126 mg (0.42 mmol) des Pyridins **9** werden in so wenig Aceton wie möglich gelöst und mit 0.65 ml (1.05 mmol, 2.5 eq) Methyljodid versetzt. Die Lösung wird 16 h bei RT gerührt. Während dieser Zeit fällt das Produkt als weißer Feststoff aus, der aus EtOH umkristallisiert wird.

Ausbeute: 99 mg (0.22 mmol, 53.4 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 9.43 (d, 1H, J = 5.9 Hz, 2-H), 8.17 (d, 1H, J = 7.8 Hz, 4-H), 7.83 (dd, 1H, J = 7.4 Hz, 6.5 Hz, 3-H), 4.56 (s, 3H, 1-CH₃), 3.21 (t, 1H, J = 9.4 Hz, 9a-H), 2.89 (dd, 2H, J = 6.9 Hz, 4.7 Hz, 6-H), 2.48–2.38 (m, 1H, 9-H),

2.08 (dd, 1H, $J = 9.3$ Hz, 4.6 Hz, 5-H), 2.00–1.90 (m, 1H, 1'-H), 1.67–1.35 (m, 7H, 5-H, 8-H, 7-H, 2'-H, 5'-H), 1.23–1.10 (m, 8H, 9-H, 1'-CH₃, 3'-H, 4'-H), 0.99 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, 7-CH₃), 0.86 (d, 6H, $J = 6.5$ Hz, 5'-CH₃, 6'-H)

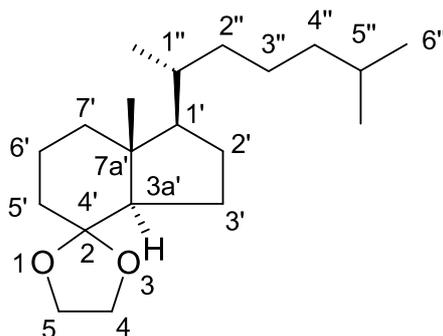
¹³C-NMR (100 MHz, in CDCl₃): δ (ppm) = 157.70 (C-9b), 144.96 (C-2), 143.61 (C-4), 138.13 (C-4a), 123.65 (C-3), 51.10 (C-7), 48.58 (C-9a), 45.76 (1-CH₃), 43.42 (C-6a), 38.35 (C-2'), 34.39 (C-8), 33.34 (C-5), 31.91 (C-5'), 30.83 (C-9), 27.00 (C-1'), 26.87 (C-3'), 25.07 (C-6), 24.16 (C-6a-CH₃), 23.32 (C-4'), 21.77 (C-6'), 21.53 (C-5'-CH₃), 18.81 (C-1'-CH₃)

MS (CI): m/z (%) = 314 (M⁺+1, 54), 300 (100)

HR-MS (EI):

m/z (berechnet)	313.2769
m/z (gefunden)	313.2726
Abweichung in %	-0.001

6.3.15 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxolan-2,4'-octahydroinden] (32)



C₂₀H₃₆O₂

M = 308.51 g/mol

Vorschrift 1: 2.14 g (8.08 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 9.01 ml (16.16 mmol, 2 eq) 1,2-Ethandiol werden in 15 ml Toluol gelöst. 0.500 g (2.90 mmol, 0.36 eq) *para*-Toluolsulfonsäure wird hinzugefügt und die Suspension 5 h am Wasserabscheider zum Rückfluss erhitzt. Dann werden 80 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung zugegeben und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert.

Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (98:2) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 1.03 g (3.34 mmol, 41.3 %)

Vorschrift 2: 1.86 g (7.01 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 0.46 ml (8.41 mmol, 1.2 eq) 1,2-Ethandiol werden in 21 ml Acetonitril gelöst. 34 mg (0.07 mmol, 1 mol%) Scandium(III)triflat und 0.92 ml (8.41 mmol, 1.2 eq) $\text{HC}(\text{OMe})_3$ werden hinzugefügt und die Lösung 4 h am Wasserabscheider zum Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 80 ml Wasser zugegeben und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (98:2) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 1.00 g (3.19 mmol, 45.5 %)

Vorschrift 3: 104 mg (0.40 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 0.02 ml (0.80 mmol, 2 eq) 1,2-Ethandiol werden in 1 ml Acetonitril gelöst. 1 mg (0.01 mmol, 3 mol%) Scandium(III)triflat und 0.04 ml (0.80 mmol, 2 eq) $\text{HC}(\text{OMe})_3$ werden hinzugefügt und die Lösung 2 h unter Mikrowellenbedingungen ($P= 150 \text{ W}$) zum Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 80 ml Wasser zugegeben und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (98:2) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 72 mg (0.23 mmol, 56.7 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in MeOH-d_4): δ (ppm) = 3.94–3.87 (m, 4H, 4-H, 5-H), 1.90–1.78 (m, 1H, 3a'-H), 1.71–1.10 (m, 19H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.98 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.86 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in MeOH-d_4): δ (ppm) = 111.38 (spiro-C), 64.58 (C-4), 63.91 (C-5), 54.99 (C-1'), 51.42 (C-3a'), 45.10 (C-7a'), 39.49 (C-5'), 35.88 (C-6'), 34.96 (C-7'), 34.49 (C-1''), 32.17 (C-5''), 28.01 (C-2'), 27.13 (C-3'), 24.91 (C-3''), 24.36 (C-2''), 22.99 (C-6''), 22.79 (C-7a'-CH₃), 22.56 (C-5''-CH₃), 19.66 (C-1''-CH₃), 19.38 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 309 (100, $\text{M}^+ + 1$), 265 (16)

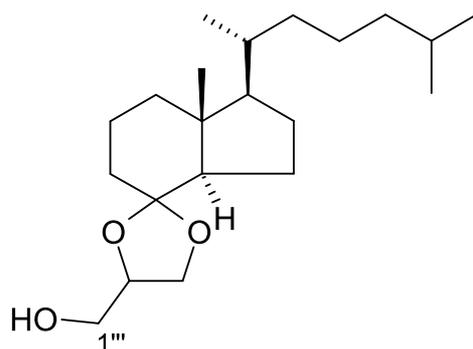
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2952, 2871, 1467, 1381, 1336, 1146, 1057, 928

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 36.5$ ($c = 0.014$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	308.2715
m/z (gefunden)	308.2719
Abweichung in %	0.001

6.3.16 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-4-Hydroxymethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxolan-2,4'-octahydroinden] (40)



$\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_3$

$M = 338.54$ g/mol

2.00 g (7.55 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 0.60 ml (9.1 mmol, 1.2 eq) Glycerol werden in 20 ml Acetonitril gelöst. 24 mg (0.45 mmol, 6 mol%) Scandium(III)triflat und 1.80 ml (16.5 mmol, 2.2 eq) $\text{HC}(\text{OMe})_3$ werden hinzugefügt und die Lösung 2 h unter Mikrowellenbedingungen ($P = 150$ W) zum Rückfluss erhitzt.

Anschließend werden 40 ml Wasser zugegeben und das Gemisch dreimal mit je 30 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (7:3) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 2.37 g (7.01 mmol, 93.0 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in MeOH-d_4): δ (ppm) = 4.21–3.91 (m, 2H, 1'''-H), 3.76–3.41 (m, 3H, 4-H, 5-H), 1.94–1.14 (m, 20H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 3a'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.01 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.93–0.89 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in MeOH-d_4): δ (ppm) = nicht auswertbar, da mehrfacher Signalsatz

GC-MS: komplexes Gemische aus Stereoisomeren detektiert

MS (CI): m/z (%) = 339 (100, $\text{M}^+ + 1$), 129 (32)

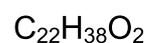
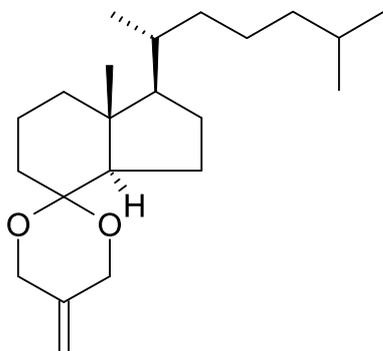
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 3417, 2952, 1468, 1374, 1106, 1040, 758, 666

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 43.0$ ($c = 0.016$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	338.2821
m/z (gefunden)	338.2853
Abweichung in %	-0.01

6.3.17 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-methylen-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (44)



250 mg (0.950 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 0.100 ml (1.24 mmol, 1.3 eq) 2-Methylen-1,3-propandiol werden in 5 ml Acetonitril gelöst. 30 mg (0.02 mmol, 6 mol%) Scandium(III)triflat und 0.250 ml (1.90 mmol, 2.2 eq) $\text{HC}(\text{OMe})_3$ werden hinzugefügt und die Lösung 2 h unter Mikrowellenbedingungen (P 150 W) zum Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 40 ml Wasser zugegeben und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (96:4) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 117 mg (0.35 mmol, 37.0 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.82 (2d, 2H, $J = 2.4, 2.4$ Hz, 5- CH_2), 4.32-4.24 (m, 4H, 4-H, 6-H), 2.13 (t, 1H, $J = 8.9$ Hz, 3a'-H), 1.83–1.33 (m, 15H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 7'-H, 1''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.18 (m, 4H, 6'-H, 2''-H), 1.04 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.88 – 0.84 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 141.73 (spiro-C), 107.35 (C-2- CH_2), 100.76 (C-5), 63.16 (C-4), 63.12 (C-6), 55.13 (C-1'), 50.88 (C-3a'), 44.52 (C-7a'), 39.51 (C-5'), 36.94 (C-6'), 33.99 (C-1''), 33.84 (C-7'), 28.46 (C-2'), 28.14 (C-5''), 25.79 (C-3'), 25.27 (C-3''), 25.03 (C-2''), 22.57 (C-6''), 22.39 (C-7a'- CH_3), 21.54 (C-5''- CH_3), 19.66 (C-1''- CH_3), 18.92 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 335 (100, $M^+ + 1$), 247 (20)

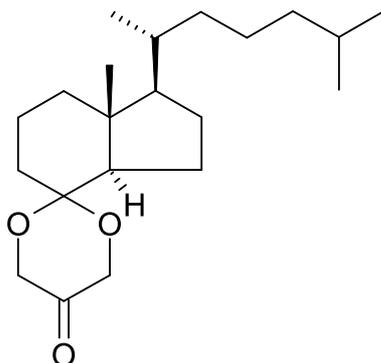
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2954, 1674, 1467, 1367, 1367, 1092, 901

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 74.5$ (c = 0.010, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	334.2872
m/z (gefunden)	334.2879
Abweichung in %	0.002

6.3.18 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden]-5-on (45)



C₂₂H₃₆O₃

M = 336.52 g/mol

1.66 mg (4.93 mmol) des Methylenacetals **44** werden in 3 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 1 ml Pyridin versetzt. Die Lösung wird auf -78 °C abgekühlt und unter Rühren bis zur Blaufärbung (etwa 10 min) Ozon eingeleitet (Gasfluss: 25 l/h). Anschließend wird die Lösung in 20 ml 10%ige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit je 30 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (98:2) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 617 mg (1.83 mmol, 37.1 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.29-4.05 (m, 4H, 4-H, 6-H), 2.11-2.07 (m, 1H, 3a'-H), 1.94-1.25 (m, 19H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.08 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.88- 0.86 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 208.96 (C-5), 103.03 (spiro-C), 67.05 (C-4), 67.03 (C-6), 56.91 (C-1'), 51.48 (C-3a'), 45.02 (C-7a'), 39.99 (C-5'), 37.43 (C-6'), 34.25 (C-1''), 33.99 (C-7''), 28.63 (C-2''), 28.30 (C-5''), 27.30 (C-3''), 25.85 (C-3''), 25.05 (C-2''), 23.05 (C-6''), 22.87 (C-7a'-CH₃), 21.75 (C-5''-CH₃), 20.19 (C-1''-CH₃), 19.63 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 337 (82, $\text{M}^+ + 1$), 247 (100)

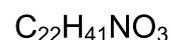
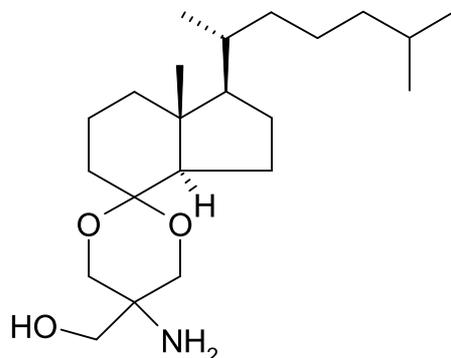
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2954, 1801, 1749, 1709, 1467, 1375, 1235, 1095, 929

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 73.8$ ($c = 0.016$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	336.2665
m/z (gefunden)	336.2664
Abweichung in %	-0.0003

6.3.19 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-Amino-5-hydroxymethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (51a)



Raney-Nickel: 2.5 g Ni-Al-Gemisch werden bei 0 °C portionsweise zu einer Lösung von 3.1 g (77.5 mmol) NaOH in 12 ml Wasser gegeben. Bei der Zugabe darf die Temperatur 25 °C nicht überschreiten. Die Suspension wird auf RT abgekühlt und anschließend 2 h auf 70 °C erhitzt. Der entstandene Raney-Nickel wird dekantiert und dreimal mit je 40 ml Wasser und viermal mit je 50 ml EtOH gewaschen.

Reduktion: 750 mg (1.89 mmol) der Verbindung **54** werden in 15 ml EtOH gelöst und zu dem gewaschenen Raney-Nickel gegeben. Es werden 5.16 ml (103 mmol, 55 eq) Hydrazinhydrat hinzugegeben und die Suspension 16 h bei RT gerührt. Die Reaktionsmischung wird über Celit filtriert, das Filtrat über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat : NEt₃ (6:4:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 170 mg (0.46 mmol, 24.3 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 4.42 (d, 1H, *J* = 12.9 Hz) und 4.40 (d, 1H, *J* = 12.8 Hz) (4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.04 (d, 1H, *J* = 13.0 Hz) und 3.99 (d, 1H, *J* = 12.9 Hz) (4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.95 (s, 2H, 1'''-H), 1.98 (t, 1H *J* = 8.1 Hz, 3a'-H), 1.83 (m, 1H, 3'-H), 1.63–1.08 (m, 18H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.99 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.88–0.84 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 102.40 (spiro-C), 87.31 (C-5), 64.20 (C-1''), 61.35 (C-6), 61.05 (C-4), 54.09 (C-1'), 52.16 (C-3a'), 45.04 (C-7a'), 39.90 (C-5'), 36.93 (C-6'), 34.90 (C-7'), 34.72 (C-1''), 28.56 (C-5''), 28.16 (C-2'), 26.60 (C-3'), 25.54 (C-3''), 25.37 (C-2''), 23.04 (C-6''), 22.89 (C-7a'-CH₃), 22.63 (C-5''-CH₃), 20.07 (C-1''-CH₃), 19.14 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 368 (60, M⁺+1), 247 (100)

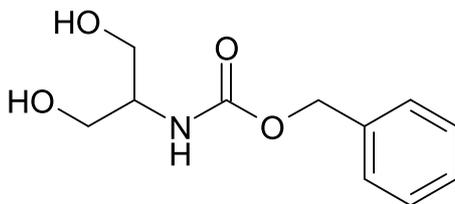
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm⁻¹) = 2954, 1546, 1466, 1366, 1339, 1118, 1026, 757

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 45.7$ (c = 0.012, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	367.3086
m/z (gefunden)	367.3099
Abweichung in %	0.004

6.3.20 Benzyl-2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethylcarbammat (52)



$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_4$

M = 225.25 g/mol

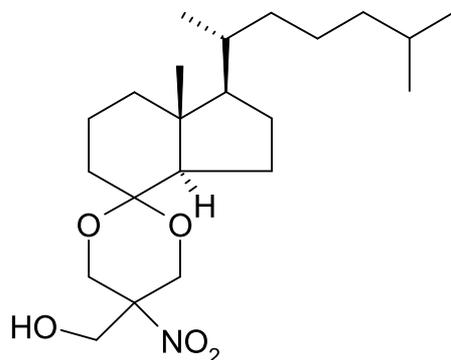
1.00 g (11.0 mmol) 2-Amino-1,3-propandiol werden unter Stickstoff-Atmosphäre in 6 ml Ethanol p.a. gelöst und 1.7 ml Triethylamin hinzugefügt. Das Gemisch wird auf 0 ° C abgekühlt und 1.76 ml (12.3 mmol, 1.12 eq.) Chlorameisensäurebenzylester portionsweise hinzu gegeben. Nach beendeter Zugabe wird die Lösung zwei weitere H bei RT gerührt. Während dieser Zeit fällt Ammoniumchlorid aus, das nach beendeter Reaktion durch Filtration abgetrennt wird. Das Filtrat wird auf die Hälfte des Volumens eingengt. Dabei fällt das Produkt als weiße Nadeln aus. Die Fällung wird über Nacht im Kühlschrank vervollständigt. Das Produkt wird abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.28 g (5.66 mmol, 51.5 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.44-7.34 (m, 4H, Phenyl-C-2, Phenyl-C-3, Phenyl-C-5, Phenyl-C-6), 7.34- -7.30 (m, 1H, Phenyl-C-4), 6.93 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz, NH), 5.01 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 4.64 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz, OH), 3.38 (m, 5H, Hydroxymethyl-CH₂, N-CH)

¹³C-NMR (100 MHz, in MeOH-d₄): δ (ppm) = 165.57 (C=O), 146.88 (Phenyl-C-1), 138.00 (Phenyl-C-2, Phenyl-C-3, Phenyl-C-5, Phenyl-C-6), 137.41 (Phenyl-C-4), 74.80 (Phenyl-CH₂), 70.06 (Hydroxymethyl-CH₂), 64.65 (Hydroxymethyl-CH₂), 54.97 N-CH)

6.3.21 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-Hydroxymethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (54)



C₂₂H₃₉NO₅

M = 397.56 g/mol

Vorschrift 1: 6.83 g (25.8 mmol) Grundmanns Keton (**11**) und 7.80 g (51.7 mmol, 2 eq) Tris(hydroxymethyl)nitromethan werden in 37 ml Acetonitril p.a. gelöst, 368 mg (0.78 mmol, 3 mol%) Scandium(III)triflat und 6.20 ml (6.01 g, 56.7 mmol, 2.2 eq) Trimethylorthoformiat werden hinzugefügt. Die Suspension wird unter Mikrowellenbedingungen zum Rückfluss erhitzt.

Mikrowellenparameter: P = 80 W
T = 90 °C
t = 120 min
p = 0 bar (offen)

Die braune Lösung wird in 80 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (8:2) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 4.36 g (11.0 mmol, 42.5 %)

Vorschrift 2: 1.65 g (6.23 mmol) Grundmanns Keton (**11**), 3.76 g (24.92 mmol, 4 eq) Tris(hydroxymethyl)nitromethan und 30 mg (0.060 mmol, 1 mol%) Tetrabutylammonium-tribromid werden mit 1.10 ml (6.85 mmol, 1.1 eq) Triethylorthoformiat ($\text{CH}(\text{OEt})_3$) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 48 h bei RT gerührt. Das Gemisch wird mit 100 ml 10%iger Na_2CO_3 -Lösung versetzt und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (8:2) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 854 mg (2.15 mmol, 34.5 %)

Vorschrift 3: 1.20 g (4.54 mmol) Grundmanns Keton (**11**), 2.75 g (18.16 mmol, 4 eq) Tris(hydroxymethyl)nitromethan und 22 mg (0.050 mmol, 1 mol%) Tetrabutylammonium-tribromid werden mit 0.83 ml (4.50 mmol, 1.1 eq) Triethylorthoformiat ($\text{CH}(\text{OEt})_3$) versetzt. Die Suspension wird unter Mikrowellenbedingungen zum Rückfluss erhitzt.

Mikrowellenparameter: P = 80 W
T = 90 °C
t = 120 min
p = 0 bar (offen)

Die braune Lösung wird in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (8:2) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 443 mg (1.11 mmol, 24.5 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.41 (d, 1H, $J = 12.9$ Hz) und 4.38 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz) (4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.03 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz) und 3.98 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.95 (s, 2 H, 1'''-H), 2.19 (s, 1H, 1'''-OH), 1.99-1.96 (m, 1H, 3a'-H), 1.88-1.78 (m, 2H, 5'-H), 1.59-1.49 (m, 9H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H), 1.34-1.29 (m, 3H, 1''-H, 2''-H), 1.24-1.12 (m, 5H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.97 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.86-0.84 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 101.89 (spiro-C), 86.79 (C-5), 63.73 (C-1'''), 60.85 (C-6), 60.55 (C-4), 53.63 (C-1'), 51.59 (C-3a'), 44.54 (C-7a'), 39.40 (C-5'), 36.43 (C-6'), 34.38 (C-7''), 34.21 (C-1''), 28.07 (C-5''), 27.69 (C-2''), 26.06 (C-3''), 25.05 (C-3'''), 24.89 (C-2'''), 22.53 (C-6''), 22.38 (C-7a'- CH_3), 22.10 (C-5''- CH_3), 19.57 (C-1''- CH_3), 18.65 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 398 (14, $\text{M}^+ + 1$), 247 (100)

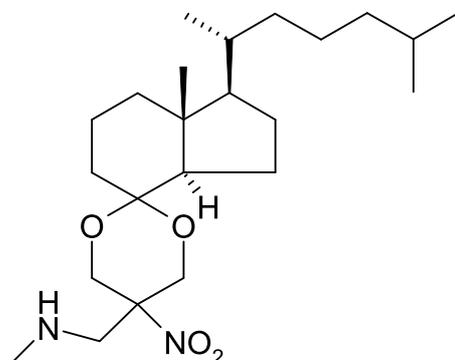
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2956, 1710, 1550, 1469, 1348, 1262, 1216, 1115, 1062, 758

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 38.7$ ($c = 0.012$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	397.2828
m/z (gefunden)	397.2825
Abweichung in %	-0.001

6.3.22 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-(N-methylamino)methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (55)



$C_{23}H_{42}N_2O_4$

M = 410.60 g/mol

571 mg (1.44 mmol) der Verbindung **54** werden in 2.00 ml (0.50 g, 16.1 mmol, 11.2 eq) CH_3HN_2 -Lösung (33 % in Ethanol) gelöst. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 65 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (7:3) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 183 mg (0.45 mmol, 31.5 %)

1H -NMR (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.46-4.42 (m, 2 H, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.01 (d, 1H, J = 13.1 Hz) und 3.96 (d, 1H, J = 13.0 Hz) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 2.90 (s, 2H, 1''-H), 2.36 (s, 3H, N- CH_3), 2.00-1.94 (m, 1H, 3a'-H), 1.80-1.75 (m, 2H, 3'-H), 1.58-1.48 (m, 8 H, 2'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H), 1.34-1.13 (m, 9 H, 1'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.95 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.87-0.85 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

^{13}C -NMR (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 102.12 (spiro-C), 87.49 (C-5), 62.60 (C-6), 62.35 (C-4), 55.04 (C-1'''), 54.27 (C-1'), 53.04 (C-3a'), 45.08 (C-7a'), 39.91 (C-5'), 37.50 (N- CH_3), 36.76 (C-6'), 35.22 (C-7'), 34.92 (C-1''), 28.58 (C-5''), 27.22 (C-2'), 27.09 (C-3'), 25.45 (C-3''), 24.80 (C-2''), 23.14 (C-6''), 23.03 (C-7a'- CH_3), 22.87 (C-5''- CH_3), 20.02 (C-1''- CH_3), 19.07 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 411 (100, $M^+ + 1$), 147 (40)

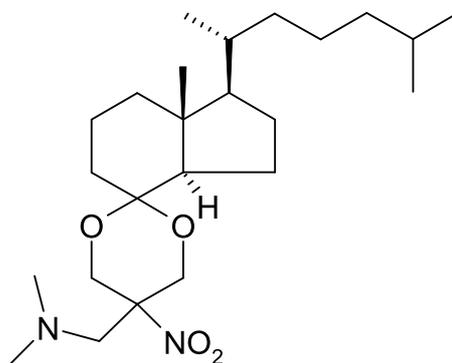
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2954, 1548, 1468, 1468, 1366, 1336, 1118, 1092, 758

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 43.5$ (c = 0.011, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	410.3144
m/z (gefunden)	410.3205
Abweichung in %	-0.002

6.3.23 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-(N,N-dimethylaminomethyl)-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (56)



C₂₄H₄₄N₂O₄

M = 424.63 g/mol

1.00 g (2.52 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 0.300 g (3.73 mmol, 1.5 eq) Dimethylamin-Hydrochlorid und 0.5 ml NEt₃ versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 10 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (8:2) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 245 mg (0.58 mmol, 23.0 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.40 (2d, 2H, $J = 13.0$ Hz, 12.9 Hz, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.00 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz) und 3.96 (d, 1H, $J = 12.9$ Hz) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 2.71 (s, 2H, 1'''-H), 2.20 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.99-1.93 (m, 1H, 3a'-H), 1.77-1.75 (m, 2H, 5'-H), 1.56-1.12 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.94 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.86-0.84 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 101.93 (spiro-C), 87.16 (C-5), 62.79 (C-6), 62.63 (C-4), 62.38 (C-1'''), 53.01 (C-1'), 52.99 (C-3a'), 47.89 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 45.07 (C-7a'), 39.89 (C-5'), 36.76 (C-6'), 35.23 (C-7'), 34.99 (C-1''), 34.90 (C-5''), 28.57 (C-2'), 27.25 (C-3'), 25.44 (C-2''), 24.75 (C-3''), 23.12 (C-7a'- CH_3), 23.05 (C-1''- CH_3), 22.86 (C-6''), 20.02 (C-5''- CH_3), 19.07 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 495 (12, $\text{M}^+ + 1$), 128 (100)

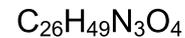
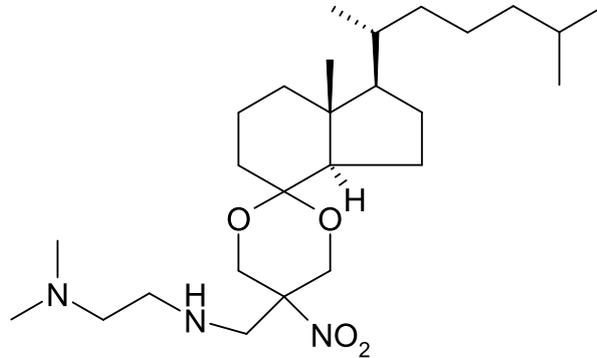
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2954, 1549, 1457, 1373, 1332, 1143, 1080, 758

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 40.1$ ($c = 0.011$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	424.3301
m/z (gefunden)	424.3299
Abweichung in %	-0.0001

6.3.24 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-[N-(N,N-dimethylaminoeth-2-yl-aminomethyl)-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (57)



700 mg (1.76 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.00 ml (9.16 mmol, 5.2 eq) N,N-Dimethylethylendiamin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 10 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit CH₂Cl₂ : MeOH (95:5) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 175 mg (0.37 mmol, 21.0 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 4.41 (d, 1H, *J* = 12.3 Hz) und 4.33 (d, 1H, *J* = 12.6 Hz) (4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.02 (d, 1H, *J* = 12.9 Hz) und 3.98 (d, 1H, *J* = 12.8 Hz) (4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.06 (s, 2H, 1'''-H), 2.61 (t, 2H, *J* = 5.8 Hz, N(CH₃)₂-CH₂-CH₂), 2.31 (t, 2H, *J* = 5.8 Hz, N(CH₃)₂-CH₂), 2.21 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz, 3a'-H), 2.18 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.86-1.69 (m, 2H, 5'-H), 1.67-1.06 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.03 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.89-0.84 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 101.49 (spiro-C), 86.63 (C-5), 61.86 (C-6), 61.80 (C-4), 58.75 (N(CH₃)₂-CH₂), 55.10 (C-1'), 52.65 (C-1'''), 48.46 (C-3a'), 47.89 (N(CH₃)₂-CH₂-CH₂), 45.23 (N(CH₃)₂), 44.45 (C-7a'), 39.54 (C-5'), 36.80 (C-6'), 34.00

(C-1''), 33.98 (C-7'), 29.54 (C-2'), 28.08 (C-5''), 25.87 (C-3'), 25.18 (C-2'', C-3''), 22.60 (C-6''), 22.52(C-1''-CH₃), 21.43 (C-7a'-CH₃), 19.69 (C-5''-CH₃), 18.68 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 468 (M⁺+1, 56), 101 (100)

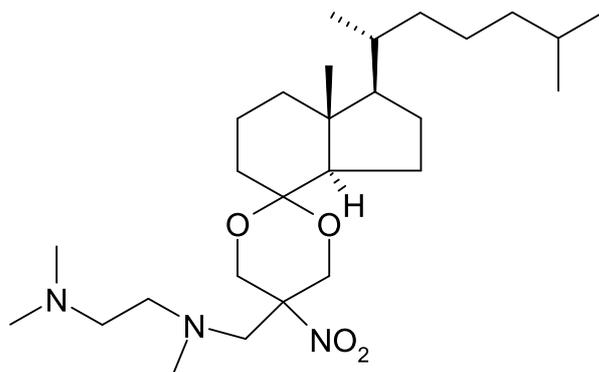
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2954, 1547, 1467, 1366, 1338, 1216, 1115, 1034, 757

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 40.2$ (c = 0.013, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	467.3723
m/z (gefunden)	467.3730
Abweichung in %	0.002

6.3.25 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-5-[N-(N,N-dimethylaminoeth-2-yl)-N-methylaminomethyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (58)



C₂₇H₅₁N₃O₄

M = 481.73 g/mol

1.00 g (2.52 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.0 ml (7.69 mmol, 3.2 eq) N,N,N'-Trimethylethylendiamin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die

säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat : NEt₃ (6:4:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 331 mg (0.69 mmol, 27.4 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 4.32 (d, 1H, *J* = 12.7 Hz) und 4.26 (d, 1H, *J* = 12.7 Hz) (4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.03 (2d, 2H, *J* = 12.6 Hz, 12.4 Hz, 4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 2.97 (s, 2H, 1'''-H), 2.54–2.43 (m, 2H, N(CH₃)₂-CH₂-CH₂), 2.28 (t, 2H, *J* = 6.6 Hz, N(CH₃)₂-CH₂), 2.23 (s, 3H, N-CH₃), 2.15 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.13–2.09 (m, 1H, 3a'-H), 1.82-1.76 (m, 2H, 5'-H), 1.65–1.08 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.01 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.88–0.84 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 101.82 (spiro-C), 86.26 (C-5), 62.23 (C-1'''), 61.97 (C-6), 61.72 (C-4), 58.26 (N(CH₃)₂-CH₂), 58.01 (N(CH₃)₂-CH₂-CH₂), 54.93 (C-1'), 53.94 (C-3a'), 50.02 (C-7a'), 46.16 (N-CH₃), 45.05 (N(CH₃)₂), 45.00 (N(CH₃)₂), 40.15 (C-5'), 37.16 (C-6'), 34.77 (C-1''), 34.63 (C-7'), 29.58 (C-2'), 28.63 (C-5''), 26.06 (C-2''), 26.03 (C-3''), 25.67 (C-3'), 23.14 (C-6''), 23.02 (C-1''-CH₃), 22.23 (C-7a'-CH₃), 20.17 (C-5''-CH₃), 19.12 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 482 (16, M⁺+1), 115 (100)

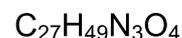
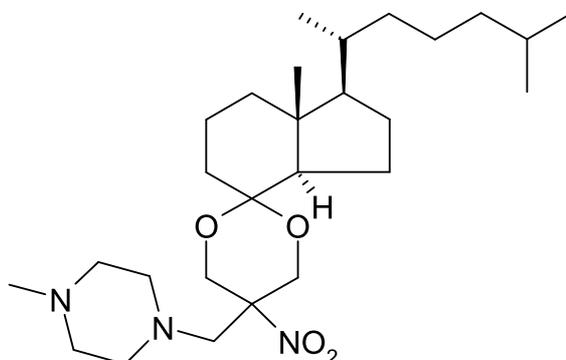
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2953, 1546, 1464, 1366, 1337, 1117, 1030, 756

Spezifische Drehung: [α]_D²⁰ = 27.8 (c = 0.016, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	481.3880
m/z (gefunden)	481.3863
Abweichung in %	0.004

6.3.26 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-(4-methylpiperazin-1-yl)-methyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (59)



460 mg (1.16 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1 ml (9.02 mmol, 7.7 eq) 1-Methylpiperazin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat : NEt_3 (6:4:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 215 mg (0.45 mmol, 38.8 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.35 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz) und 4.28 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz) (4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.02 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz) und 3.99 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 2.93-2.86 (m, 2H, 1''-H), 2.49 (t, 4H, $J = 4.8$ Hz, Piperazin-2-H, Piperazin-6-H), 2.32 (s, 4H, Piperazin-3-H, Piperazin-5-H), 2.19 (s, 3H, N- CH_3), 2.12 (t, 1H, $J = 8.5$ Hz, 3a'-H), 1.85-1.79 (m, 2H, 5'-H), 1.57-1.11 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.02 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.90-0.87 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 101.94 (spiro-C), 86.24 (C-5), 62.29 (C-6), 62.13 (C-4), 60.93 (C-1''), 55.77 (Piperazin-C-3, Piperazin-C-5), 55.39 (Piperazin-

C-2, Piperazin-C-6), 54.75 (C-1'), 50.03 (C-3a'), 46.30 (N-CH₃), 45.03 (C-7a'), 40.09 (C-5'), 37.13 (C-6'), 34.80 (C-7'), 34.61 (C-1''), 29.73 (C-5''), 28.62 (C-2'), 26.24 (C-3'), 25.52 (C-2''), 23.09 (C-3''), 23.01 (C-7a'-CH₃), 22.26 (C-1''-CH₃), 20.14 (C-6''), 20.14 (C-5''-CH₃), 19.10 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 480 (12, M⁺+1), 113 (100)

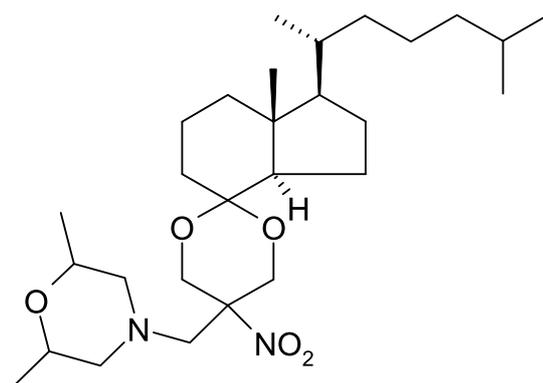
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2962, 1540, 1456, 1261, 1166, 1097, 1016, 800

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 32.7$ (c = 0.015, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	479.3723
m/z (gefunden)	479.3725
Abweichung in %	0.0004

6.3.27 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-(2,6-dimethylmorpholin-4-yl)-methyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (60)



C₂₈H₅₀N₂O₅

M = 494.72 g/mol

1.00 g (2.52 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1 ml (8.13 mmol, 3.2 eq) 2,6-Dimethylmorpholin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 10 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50

ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (95:5) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 215 mg (0.43 mmol, 27.8 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 4.39 (d, 2H, J = 12.8 Hz, (4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.00 (d, 1H, J = 13.1 Hz) und 3.96 (d, 1H, J = 12.9 Hz) (4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.58-3.50 (m, 2H, Morpholin-2-H, Morpholin-6-H), 2.76 (s, 2H, 1''-H), 2.46 (m, 2H, Morpholin-3-H, Morpholin-5-H), 1.98-1.94 (m, 3H, 3a'-H, Morpholin-3-H, Morpholin-5-H), 1.86-1.75 (m, 2H, 5'-H), 1.55-1.13 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.04 (d, 6H, J = 6.3 Hz, Morpholin-2-CH₃, Morpholin-6-CH₃), 0.96 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.87-0.85 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 101.44 (spiro-C), 86.17 (C-5), 71.65 (Morpholin-C-2), 71.64 (Morpholin-C-6), 62.10 (C-6), 61.73 (C-4), 60.92 (Morpholin-C-3), 60.90 (Morpholin-C-5), 60.54 (C-1'''), 52.99 (C-1'), 52.74 (C-3a'), 44.56 (C-7a'), 39.40 (C-5'), 36.32 (C-6'), 34.69 (C-7'), 34.39 (C-1''), 30.12 (C-5''), 28.06 (C-2'), 26.63 (C-3'), 24.99 (C-2''), 24.38 (C-3''), 22.58 (C-7a'-CH₃), 22.53 (C-1''-CH₃), 22.41 (C-6''), 19.57 (C-5''-CH₃), 18.71 (Morpholin-2-CH₃, Morpholin-6-CH₃), 18.61 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 425 (100, M⁺+1), 114 (6)

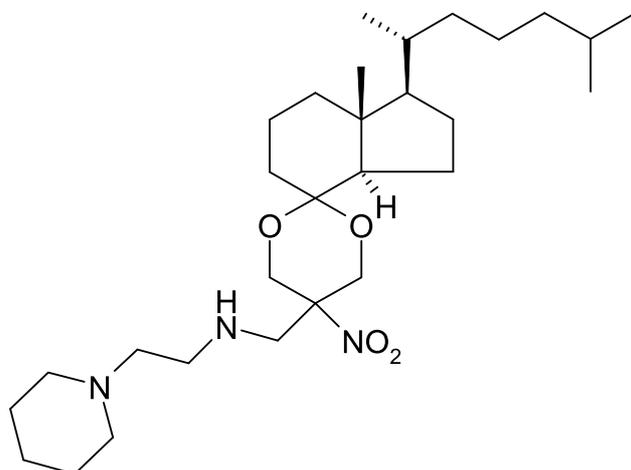
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 3417, 2953, 1722, 1550, 1466, 1366, 1336, 1261, 1112, 1047, 802

Spezifische Drehung: [α]_D²⁰ = 37.9 (c = 0.011, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	494.3720
m/z (gefunden)	494.3726
Abweichung in %	0.001

6.3.28 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[[2-(piperidin-1-yl)ethyl]aminomethyl]spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (61)



$C_{29}H_{53}N_3O_4$

$M = 507.76 \text{ g/mol}$

500 mg (1.26 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 0.54 ml (0.49 g, 3.78 mmol, 3.0 eq) 1-(2-Aminoethyl)piperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (7:3) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 136 mg (0.27 mmol, 21.4 %)

1H -NMR (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.41 (d, 1H, $J = 12.6 \text{ Hz}$) und 4.34 (d, 1H, $J = 12.7 \text{ Hz}$) (4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.02 (d, 1H, $J = 12.6 \text{ Hz}$) und 3.99 (d, 1H, $J = 12.4 \text{ Hz}$) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.28 (s, 2H, Piperidin-2-H, Piperidin-6-H), 3.13 (d, 2H, $J = 4.3 \text{ Hz}$, 1''-H), 2.85 (t, 2H, $J = 6.5 \text{ Hz}$, Piperidin- CH_2), 2.63 (t, 2H, $J = 6.9 \text{ Hz}$, Piperidin- CH_2 - CH_2), 2.27 (s, 2H, Piperidin-2-H, Piperidin-6-H), 2.20 (dd, 1H, $J = 4.8 \text{ Hz}$, 8.3 Hz, 3a'-H), 1.84-1.80 (m, 2 H, 5') .1.61-1.15 (m, 26 H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, Piperidin-3-H, Piperidin-4-H, Piperidin-5-H), 1.02 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.88-0.86 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 102.06 (spiro-C), 87.24 (C-5), 62.43 (C-6), 62.32 (C-4), 58.64 (C-1'''), 55.63 (Piperidin- CH_2), 55.14 (C-1'), 53.17 (Piperidin- CH_2CH_2), 48.85 (C-3a'), 47.73 (C-7a'), 44.96 (C-5'), 40.03 (C-6') , 37.28 (C-1''), 34.50 (C-7'), 34.47 (C-5''), 30.14 (C-2'), 28.60 (Piperidin-C-2), 28.58 (Piperidin-C-6), 26.62 (C-3'), 26.38 (Piperidin-C-3), 26.21 (Piperidin-C-5), 25.69 (Piperidin-C-4), 25.68 (C-2''), 25.01 (C-3''), 24.28 (C-7a'- CH_3), 23.05 (C-1''- CH_3), 22.96 (C-6''), 21.88 (C-5''- CH_3), 19.18 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 508 (22, $\text{M}^+ + 1$), 141 (100)

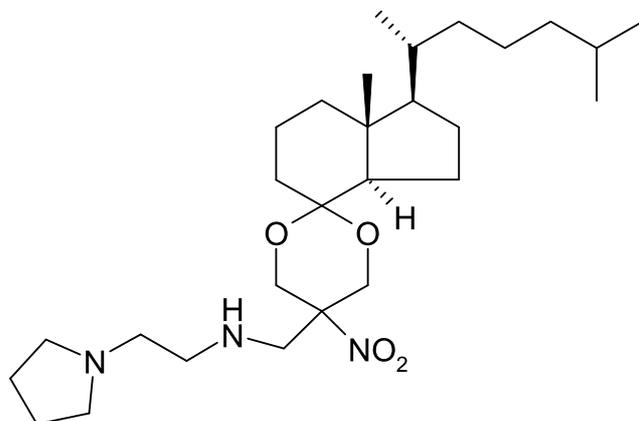
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2933, 1547, 1466, 1366, 1348, 1117, 1041, 756

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 30.4$ ($c = 0.007$, CH_2Cl_2)

HRMS (ESI):

m/z ($\text{M} + \text{H}$) ⁺ (berechnet)	508.4114
m/z ($\text{M} + \text{H}$) ⁺ (gefunden)	508.4112
Abweichung in %	0.0004

6.3.29 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]aminomethyl]spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (62)



$C_{28}H_{51}N_3O_4$

$M = 493.74 \text{ g/mol}$

854 mg (2.15 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.00 ml (7.89 mmol, 3.7 eq) 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat : NEt_3 (6:4:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 253 mg (0.51 mmol, 26.1 %)

1H -NMR (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.41 (d, 1H, $J = 12.7 \text{ Hz}$) und 4.33 (d, 1H, $J = 12.6 \text{ Hz}$) (4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.02 (d, 1H, $J = 13.1 \text{ Hz}$) und 3.98 (d, 1H, $J = 12.8 \text{ Hz}$) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.05 (s, 2H, 1''-H), 2.64 (t, 2H, $J = 6.0 \text{ Hz}$, Pyrrolidin- CH_2), 2.48 (t, 2H, $J = 6.0 \text{ Hz}$, Pyrrolidin- CH_2 - CH_2), 2.46-2.39 (m, 4H, Pyrrolidin-2-H, Pyrrolidin-5-H), 2.19 (t, 1H, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 3a'-H), 1.87–1.76 (m, 1H, 1'-H), 1.69-1.76 (m, 4H, Pyrrolidin-3-H, Pyrrolidin-4-H), 1.61-1.10 (m, 18-H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.02 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.87-0.84 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 101.52 (spiro-C), 86.69 (C-5), 61.89 (C-6), 61.79 (C-4), 55.52 (Pyrrolidin- CH_2), 55.09 (C-1'), 54.05 (Pyrrolidin-C-2), 54.04 (Pyrrolidin-C-5), 52.67 (C-1'''), 49.23 (Pyrrolidin- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 48.35 (C-3a'), 44.46 (C-7a'), 39.53 (C-5'), 36.77 (C-6'), 33.97 (C-1'', C-7'), 29.62 (C-2'), 28.09 (C-5''), 28.09 (C-2''), 25.86 (C-3'), 25.19 (Pry-C-3), 25.15 (Pyrrolidin-C5), 23.52 (C-3''), 22.56 (C-6''), 22.48 (C-1''- CH_3),, 21.37 (C-7a'- CH_3),, 19.65 (C-5''- CH_3), 18.67 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 494 (32, $\text{M}^+ + 1$), 127 (100)

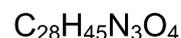
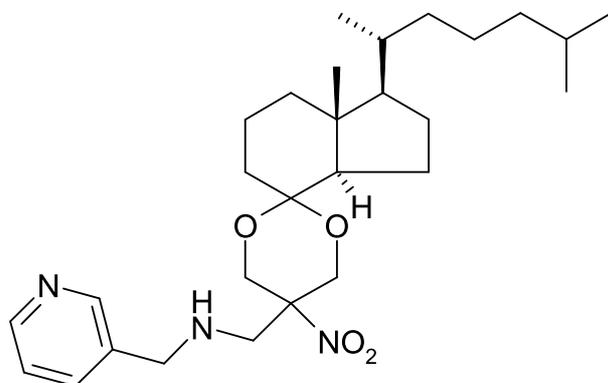
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2956, 1547, 1466, 1366, 1348, 1215, 1140, 1117, 757

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 38.3$ ($c = 0.016$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	493.3880
m/z (gefunden)	493.3903
Abweichung in %	0.005

6.3.30 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-(3-pyridinyl)methylaminomethyl-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (63)



460 mg (1.16 mmol) der Verbindung **54** werden in 1.00 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.00 ml (1.06 g, 9.82 mmol, 8.5 eq) 3-(Aminomethyl)-pyridin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 65 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat: NEt_3 (6:4:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein braunes Öl.

Ausbeute: 292 mg (0.60 mmol, 51.7 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 8.47-8.46 (m, 2H, Pyridin-2-H, Pyridin-6-H), 7.62 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, Pyridin-4-H), 7.24 (dd, 1H, $J = 4.8$ Hz, 7.8 Hz, Pyridin-5-H), 4.41 (d, 1H, $J = 12.7$ Hz) und 4.33 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz) (4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.00 (d, 1H, $J = 12.7$ Hz) und 3.9 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.77 (s, 2H, Pyridin- CH_2), 3.07 (s, 2 H, 1''-H), 2.08 (t, 1H, $J = 8.7$ Hz, 3a'-H), 1.77-1.72 (m, 2H, 5'-H), 1.53-1.12 (m, 17 H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.00 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.87-0.84 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 150.17 (Pyridin-C-2), 149.29 (Pyridin-C-6), 136.06 (Pyridin-C-5), 135.43 (Pyridin-C-3), 123.89 (Pyridin-C-4), 102.20 (spiro-C), 86.77 (C-5), 62.31 (C-6), 62.22 (C-4), 55.30 (C-1'), 51.82 (C-1'''), 51.81 (Pyridin- CH_2), 49.65 (C-3a'), 44.88 (C-7a'), 39.99 (C-5'), 37.20 (C-6'), 34.62 (C-7'), 34.46 (C-1''), 29.56 (C-2'), 28.56 (C-5''), 26.20 (C-3'), 25.98 (C-2''), 25.65 (C-3''), 23.05 (C-6''), 22.94 (C-7a'- CH_3), 22.08 (C-5''- CH_3), 20.11 (C-1''- CH_3), 19.08 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 488 (66, $\text{M}^+ + 1$), 121 (100)

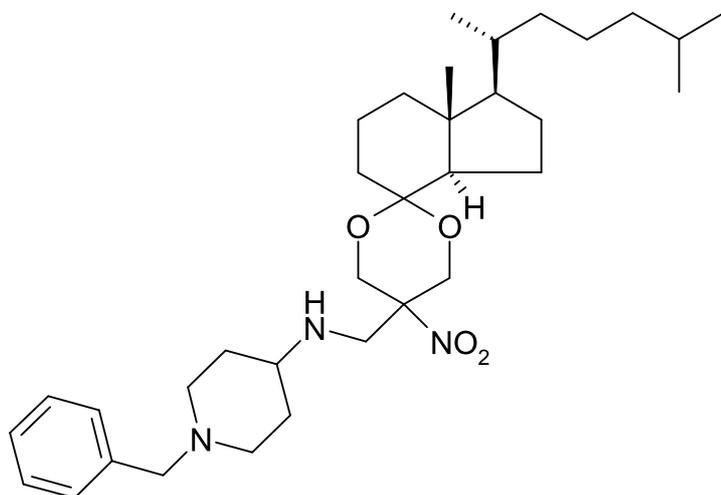
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2954, 1546, 1466, 1366, 1339, 1118, 1026, 757

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 50.6$ ($c = 0.009$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	487.3410
m/z (gefunden)	487.3401
Abweichung in %	-0.002

6.3.31 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-(N-Benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (64)



500 mg (1.26 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 0.75 ml (0.70 g, 3.78 mmol, 3.0 eq) 4-Amino-1-benzylpiperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 65 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (7:3) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 190 mg (0.33 mmol, 26.2 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.31-7.29 (m, 4H, Phenyl-2-H, Phenyl-3-H, Phenyl-5-H, Phenyl-6-H), 7.26-7.21 (m, 1H, Phenyl-4-H), 4.40 (d, 1H, *J* = 10.1 Hz) und 4.32 (d, 1H, *J* = 10.0 Hz) (4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.03 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz) und 3.99 (d, 1H, *J* = 10.0 Hz) (4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.46 (s, 2H, 1''-H), 3.10 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 2.79 (d, 2H, *J* = 9.3 Hz, Piperidin-2-H, Piperidin-6-H), 2.40-2.35 (m, 1H, Piperidin-4-H), 2.17 (t, 1H, *J* = 7.0 Hz, 3a'-H), 1.99 (t, 2H, *J* = 8.7, Piperidin-2-H, Piperidin-6-H), 1.67-1.52 (m, 4H, Piperidin-3-H, Piperidin-5H), 1.64-1.12 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H,

1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.04 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.91-0.87 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 139.36 (Phenyl-C-1), 129.59 (Phenyl-C-2, Phenyl-C-6), 128.64 (Phenyl-C-3, Phenyl-C-5), 127.41 (Phenyl-C-4), 102.06 (spiro-C), 87.11 (C-5), 63.43 (C-1'''), 62.31 (C-6), 62.23 (C-4), 55.95 (Piperidin-C-4), 55.35 (C-1'), 52.77 (Piperidin-C-2, Piperidin-C-6), 49.99 (Phenyl-CH₂), 49.25 (C-3a'), 45.01 (C-7a'), 40.08 (C-5'), 37.17 (C-6'), 34.49 (C-1''), 32.51 (Piperidin-C-5), 30.28 (C-7'), 29.94 (Piperidin-C-3), 29.56 (C-5''), 28.56 (C-2'), 26.24 (C-3'), 23.08 (C-2''), 22.89 (C-3''), 20.12 (C-7a'-CH₃), 19.16 (C-1''-CH₃), 17.88 (C-6''), 17.86 (C-5''-CH₃), 15.06 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 570 (16, M⁺+1), 203 (100)

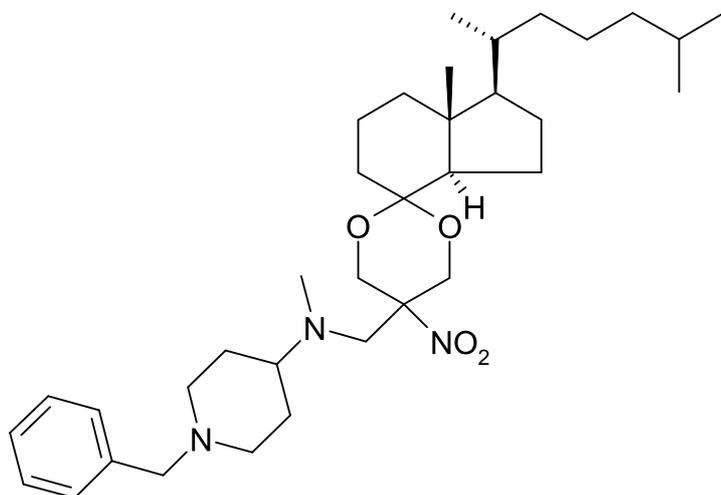
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2952, 1546, 1467, 1366, 1340, 1113, 1026, 757, 698

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 36.0$ (c = 0.012, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	569.4193
m/z (gefunden)	569.4200
Abweichung in %	0.001

6.3.32 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-(N-Benzylpiperidin-4-yl)-N-methylaminomethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (65)



$C_{35}H_{57}N_3O_4$

$M = 583.86 \text{ g/mol}$

1.00 g (2.52 mmol) der Verbindung **54** werden in 2 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.50 ml (1.50 g, 7.56 mmol, 3.0 eq) 1-Benzyl-(4-N-methylamino)piperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 65 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat : NEt_3 (8:2:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 248 mg (0.65 mmol, 25.9 %)

1H -NMR (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 7.31 - 7.28 (m, 4H, Phenyl-2-H, Phenyl-3-H, Phenyl-5-H, Phenyl-6-H), 7.25–7.21 (m, 1H, Phenyl-4-H), 4.41 (d, 2H, $J = 12.8 \text{ Hz}$, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.01 (d, 1H, $J = 13.1 \text{ Hz}$) und 3.97 (d, 1H, $J = 12.9 \text{ Hz}$) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.44 (s, 2H, 1''-H), 2.89 (d, 2H, $J = 11.5 \text{ Hz}$, Piperidin-2-H, Piperidin-6-H), 2.85 (s, 2H, 2 H, Phenyl- CH_2), 2.21 (s, 3H, N- CH_3), 2.19 (t, 1H, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 3a'-H), 2.03-1.96 (m, 1H, Piperidin-4-H), 1.89 (t, 2H, $J = 10.8 \text{ Hz}$, Piperidin-2-H, Piperidin-6-H), 1.79-1.78 (m, 2H, 3'-H), 1.62-1.12 (m, 23H, Piperidin-3-H, Piperidin-5H, 1'-H, 2'-H, 6'-H,

7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.96 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.88-0.86 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 139.43 (Phenyl-C-1), 129.55 (Phenyl-C-2, Phenyl-C-6), 128.66 (Phenyl-C-3, Phenyl-C-5), 127.43 (Phenyl-C-4), 101.80 (spiro-C), 87.41 (C-5), 63.81 (C-1'''), 63.37 (N-CH₃), 62.62 (C-6), 62.30 (C-4), 58.25 (Piperidin-C-4), 53.79 (C-1'), 52.90 (Piperidin-C-2, Piperidin-C-6), 45.08 (Phenyl-CH₂), 40.30 (C-3a'), 39.91 (C-7a'), 36.79 (C-5'), 35.30 (C-6'), 34.96 (C-1''), 28.58 (Piperidin-C-5), 28.44 (C-7'), 28.40 (Piperidin-C-3), 28.39 (C-5''), 27.35 (C-2'), 27.22 (C-3'), 25.46 (C-2''), 24.71 (C-3''), 23.22 (C-7a'-CH₃), 23.10 (C-1''-CH₃), 22.91 (C-6''), 20.06 (C-5''-CH₃), 19.10 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 584 (42, M⁺+1), 217 (100)

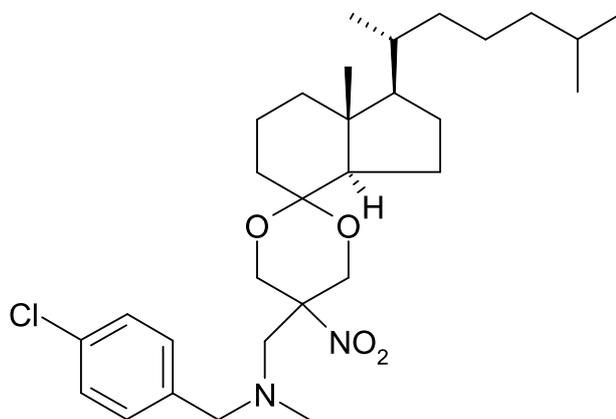
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2952, 1548, 1455, 1366, 1338, 1117, 1050, 757

Spezifische Drehung: [α]_D²⁰ = 32.0 (c = 0.015, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	583.4349
m/z (gefunden)	583.4344
Abweichung in %	-0.001

6.3.33 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-[N-(4-Chlorbenzyl)-N-methylaminomethyl]-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (66)



500 mg (1.26 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.00 ml (6.89 mmol, 5.5 eq) 4-Chlor-N-methylbenzylamin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 10 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 218 mg (0.41 mmol, 32.3 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.30 (d, 2H, J = 8.4 Hz, Phenyl-3-H, Phenyl-5-H), 7.22 (d, 2H, J = 8.3 Hz, Phenyl-2-H, Phenyl-6-H), 4.38 (d, 1H, J = 12.5 Hz) und 4.32 (d, 1H, J = 12.6 Hz) (4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.04 (d, 1H, J = 12.8 Hz) und 4.01 (d, 1H, J = 12.7 Hz) (4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.50 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 3.02 (d, 2H, J = 4.4 Hz, 1''-H), 2.17 (s, 3H, N-CH₃), 2.06 (t, 1H, J = 8.5 Hz, 3a'-H), 1.86-1.76 (m, 2H, 5'-H), 1.60-1.10 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.00 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.87-0.85 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 137.44 (Phenyl-C-4), 132.89 (Phenyl-C-1), 130.31 (Phenyl-C-3, Phenyl-C-5), 128.46 (Phenyl-C-2, Phenyl-C-6), 101.45 (spiro-C), 85.79 (C-5), 63.15 (Phenyl- CH_2), 61.82 (C-6), 61.53 (C-4), 60.23 (C-1'''), 54.40 (C-1'), 49.28 (C-3a'), 44.40 (C-7a'), 43.88 (N- CH_3), 39.59 (C-5'), 36.62 (C-6'), 34.30 (C-7'), 34.11 (C-1''), 29.19 (C-2'), 28.05 (C-5''), 25.70 (C-3''), 25.54 (C-2''), 25.06 (C-3'''), 22.52 (C-7a'- CH_3), 22.55 (C-1'''- CH_3), 21.66 (C-6''), 19.60 (C-5'''- CH_3), 18.56 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 535 (14, $\text{M}^+ + 1$), 168 (100)

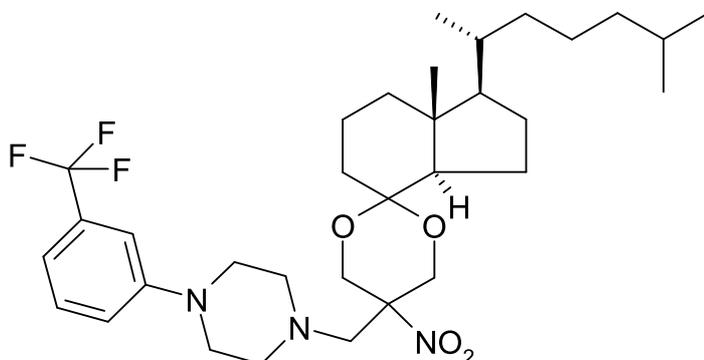
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2954, 1540, 1490, 1458, 1366, 1338, 1117, 1089, 1015, 758

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 39.0$ ($c = 0.017$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	534.3224
m/z (gefunden)	534.3222
Abweichung in %	-0.0004

6.3.34 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[4-(3-trifluormethylphenyl)piperazin-1-ylmethyl]-spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (67)



696 mg (2.61 mmol, 3 eq) 1-(3-Trifluormethylphenyl)piperazin-Hydrochlorid werden 10 min in 50 ml 10% NaHCO₃-Lösung gerührt und das Gemisch dreimal mit je 30 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. 260 mg (0.87 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit dem oben erhaltenen 1-(3-Trifluormethylphenyl)-piperazin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl

Ausbeute: 112 mg (0.18 mmol, 21.2 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.34 (t, 1H, J = 7.8 Hz, Phenyl-5-H), 7.07-7.03 (m, 3 H, Phenyl-2-H, Phenyl-4-H, Phenyl-6-H), 4.43 (d, 2H, J = 12.9 Hz, 4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.04 (d, 1H, J = 13.0 Hz) und 4.01 (d, 1H, J = 12.8 Hz) (4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.17-3.14 (m, 4 H, Piperazin-2-H, Piperazin-6-H), 3.05 (s, 2H, 1''-H), 2.34-2.32 (m, 4 H, Piperazin-2-H, Piperazin-3-H, Piperazin-6-H), 1.97 (t, 1H, J = 7.2 Hz, 3a'-H), 1.56-1.13 (m, 19 H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.97 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.88-0.85 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 151.40 (CF₃), 129.63 (Phenyl-C-2), 125.86 (Phenyl-C-3), 123.15 (Phenyl-C-1), 118.85 (Phenyl-C-4), 115.61 (Phenyl-C-5), 112.03 (Phenyl-C-6), 101.53 (spiro-C), 86.15 (C-5), 62.08 (C-6), 61.74 (C-4), 60.27 (C-1'''), 54.62 (Piperazin-C-3, Piperazin-C-5), 53.33 (C-1'), 53.23 (C-3a'), 48.83 (Piperazin-C-2, Piperazin-C-6), 44.57 (C-7a'), 39.39 (C-5'), 36.33 (C-6'), 34.64 (C-7'), 34.36 (C-1''), 28.07 (C-5''), 26.53 (C-2'), 24.99 (C-3'), 24.93 (C-2''), 24.45 (C-3''), 22.55 (C-7a'-CH₃), 22.44 (C-1''-CH₃), 22.38 (C-6''), 19.54 (C-5''-CH₃), 18.62 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 610 (52, M⁺+1), 247 (100)

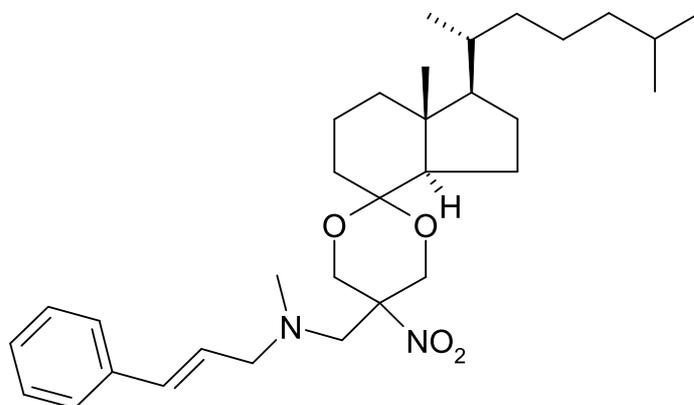
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2954, 1708, 1610, 1548, 1450, 1319, 1237, 1164, 1124, 949, 757

Spezifische Drehung: [α]_D²⁰ = 34.5 (c = 0.012, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	609.3753
m/z (gefunden)	609.3765
Abweichung in %	0.002

6.3.35 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-[N-methyl-N-((E)-phenylprop-1-en-3-yl)aminomethyl]spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (68)



770 mg (1.94 mmol) der Verbindung **54** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.25 g (8.49 mmol, 4.4 eq) (E)-N-Methyl-(phenylprop-1-en-3-yl)amin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 10 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 295 mg (0.56 mmol, 28.9 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.38 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, Phenyl-2-H, Phenyl-6-H), 7.31 (t, 2H, *J* = 7.5 Hz, Phenyl-3-H, Phenyl-5-H), 7.23 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, Phenyl-4-H), 6.48 (d, 1H, *J* = 15.9 Hz, Phenyl-CH), 6.16 (dt, 1H, *J* = 15.8 Hz, 6.7 Hz, Phenyl-CH=CH), 4.38 (d, 1H, *J* = 12.7 Hz) und 4.32 (d, 1H, *J* = 13.6 Hz) (4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.04 (d, 1H, *J* = 12.5 Hz) und 4.01 (d, 1H, *J* = 12.4 Hz) (4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.18 (d, 2H, *J* = 6.7 Hz, =CH-CH₂), 2.98 (d, 2H, *J* = 4.2 Hz, 1''-H), 2.30 (s, 3H, N-CH₃), 2.12 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz, 3a'-H), 1.84-1.75 (m, 2H, 5'-H), 1.60-1.15 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.00 (s, 3H, 7a'-CH₃), 0.87-0.85 (m, 9H, 1''-CH₃, 6''-H, 5''-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 137.37 (Phenyl-C-1), 133.57 (Phenyl-CH), 129.10 (Phenyl-C-3, Phenyl-C-5), 128.12 (Phenyl-C-4), 127.04 (Phenyl-CH=CH), 126.88 (Phenyl-C-2, Phenyl-C-6), 101.86 (spiro-C), 86.37 (C-5), 62.33 (C-6), 62.25 (C-4), 62.10 (=CH-CH₂), 60.18 (C-1'''), 54.84 (C-1'), 49.63 (C-3a'), 44.95 (N-CH₃), 44.79 (C-7a'), 40.09 (C-5'), 37.09 (C-6'), 34.76 (C-7'), 34.62 (C-1''), 29.84 (C-2'), 28.56 (C-5''), 26.19 (C-3'), 26.00 (C-2''), 25.55 (C-3''), 23.04 (C-1''-CH₃), 22.98 (C-6''), 22.16 (C-7a'-CH₃), 20.09 (C-5''-CH₃), 19.07(C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 527 (10, $\text{M}^+ + 1$), 160 (100)

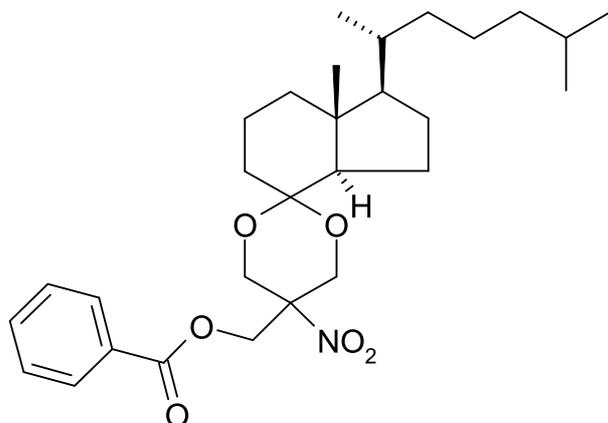
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2954, 1681, 1548, 1538, 1455, 1337, 1117, 1026, 968, 757

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 44.3$ ($c = 0.007$, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	526.3771
m/z (gefunden)	526.3780
Abweichung in %	0.002

6.3.36 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-5-Benzoyloxymethyl-7a'-methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (69)



$C_{29}H_{43}NO_6$

$M = 501.67 \text{ g/mol}$

453 mg (1.14 mmol) der Verbindung **54** werden in 8 ml Pyridin gelöst und im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. 0.15 ml (1.3 mmol, 1.1 eq) Benzoylchlorid werden langsam hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wird 30 min bei 0 °C gerührt und anschließend auf RT erwärmt. Nach einer Stunde wird die Lösung mit 50 ml 10% Na_2CO_3 -Lösung versetzt und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (9:1) als Eluent. Das Produkt ist ein farbloses Öl.

Ausbeute: 200 mg (0.40 mmol, 35.1%)

1H -NMR (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 7.97 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Phenyl-2-H, Phenyl-6-H), 7.61 (t, 1H, $J = 7.6$ Hz, Phenyl-4-H), 7.47 (t, 2H, $J = 7.7$ Hz, Phenyl-3-H, Phenyl-5-H), 4.65 (s, 2H, 1'''-H), 4.55 (d, 1H, $J = 13.1$ Hz) und 4.54 (d, 1H, $J = 12.7$ Hz) (4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.16 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz) und 4.11 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 1.97 (t, 2H, $J = 8.0$ Hz, 5'-H), 1.87-1.78 (m, 1H, 3a'-H), 1.63-1.15 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.00 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.89-0.87 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

^{13}C -NMR (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 165.84 (C=O), 134.25 (Phenyl-C-1), 131.01 (Phenyl-C-6), 130.20 (Phenyl-C-2), 129.47 (Phenyl-C-4), 129.31 (Phenyl-C-

3), 129.16 (Phenyl-C-5), 102.61 (spiro-C), 85.17 (C-5), 64.61 (C-1'''), 61.51 (C-6), 61.25 (C-4), 53.79 (C-1'), 52.70 (C-3a'), 45.09 (C-7a'), 39.90 (C-5'), 36.85 (C-6'), 35.03 (C-7'), 34.79 (C-1''), 28.58 (C-5''), 27.88 (C-2'), 26.84 (C-3'), 25.53 (C-2''), 25.23 (C-3''), 23.07 (C-7a'-CH₃), 22.91 (C-1''-CH₃), 22.80 (C-6''), 20.08 (C-5''-CH₃), 19.12 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 502 (44, M⁺+1), 105 (100)

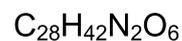
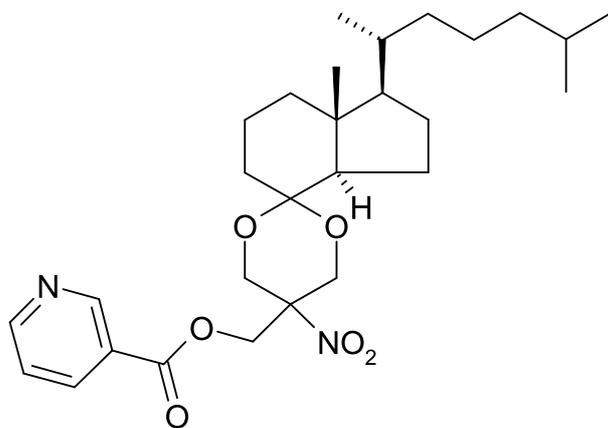
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2954, 1731, 1602, 1556, 1452, 1347, 1266, 1109, 758, 709

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 42.0$ (c = 0.016, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	501.3090
m/z (gefunden)	501.3088
Abweichung in %	0.0004

6.3.37 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-nitro-5-(pyridin-3-yl-carbonyloxymethyl)spiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (70)



400 mg (1.01 mmol) der Verbindung **54** und 540 mg (3.03 mmol, 3 eq) Nicotinoylchlorid Hydrochlorid werden in 2 ml Pyridin und 1 ml EtOH p.a. gelöst und zwei Tage bei RT gerührt. Die Lösung wird mit 50 ml 10% Na_2CO_3 -Lösung versetzt und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat : NEt_3 (6:4:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein hellgelbes Öl.

Ausbeute: 205 mg (0.41 mmol, 40.6%)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 9.12 (s, 1H, Pyridin-2-H), 8.79 (d, 1H, $J = 6.8$ Hz, Pyridin-6-H), 8.21 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, Pyridin-4-H), 7.41 (dd, 1H, $J = 8.0$ Hz, 7.0 Hz, Pyridin-5-H), 4.70 (s, 2H, 1'''-H), 4.54 (d, 1H, $J = 13.0$ Hz) und 4.51 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz) (4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.15 (d, 1H, $J = 13.1$ Hz) und 4.10 (d, 1H, $J = 12.9$ Hz) (4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 2.00 (t, 1H, $J = 7.9$ Hz, 3a'-H), 1.95-1.76 (m, 2H, 5'-H), 1.65-1.11 (m, 17H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 1.25 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.90-0.86 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 164.25 (C=O), 154.22 (Pyridin-C-6), 150.92 (Pyridin-C-2), 137.05 (Pyridin-C-5), 124.78 (Pyridin-C-3), 123.52 (Pyridin-C-4), 102.20 (spiro-C), 84.41 (C-5), 64.33 (C-1'''), 60.97 (C-6), 60.70 (C-4), 53.56 (C-1'), 51.58 (C-3a'), 44.57 (C-7a'), 39.39 (C-5'), 36.38 (C-6'), 34.42 (C-7'), 34.22 (C-1''), 30.07 (C-5''), 28.07 (C-2'), 27.68 (C-3'), 26.12 (C-2''), 25.04 (C-3''), 24.87 (C-7a'-CH₃), 22.53 (C-1''-CH₃), 22.37 (C-6''), 22.12 (C-5''-CH₃), 19.55 (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 503 (100, M^++1), 307 (26), 247 (26)

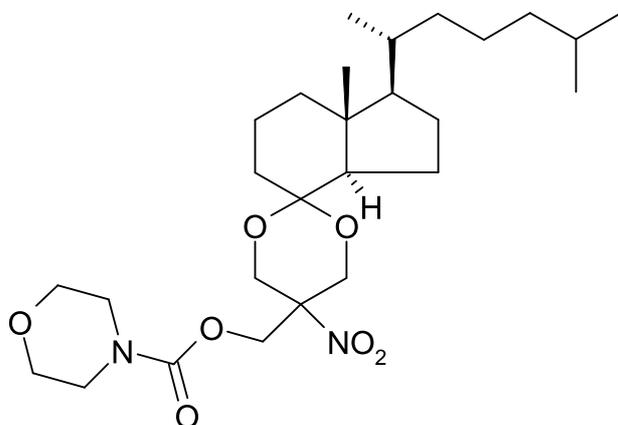
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 3319, 2954, 1737, 1591, 1555, 1468, 1367, 1347, 1276, 1110, 1025, 738

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 35.3$ (c = 0.012, CH_2Cl_2)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	502.3043
m/z (gefunden)	502.3045
Abweichung in %	0.0004

6.3.38 (1'R,3a'R,7a'R,1''R)-7a'-Methyl-1'-(1,5-dimethylhexyl)-5-(morpholin-4-yl-carbonyloxymethyl)-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,4'-octahydroinden] (72)



$C_{27}H_{46}N_7O_6$

$M = 510.68 \text{ g/mol}$

470 mg (1.18 mmol) der Verbindung **54** und 0.16 ml (1.3 mmol, 1.1 eq) 4-Morpholinocarbonylchlorid werden in 8 ml Pyridin gelöst und 16 h bei RT gerührt. Die Lösung wird mit 25 ml 10% Na_2CO_3 -Lösung versetzt und dreimal mit jeweils 30 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat : NEt_3 (6:4:0.1) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 238 mg (0.47 mmol, 39.8%)

1H -NMR (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.44 (m, 2H, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.40 (s, 2H, 1''-H), 4.09–3.93 (m, 2H, 4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.61 (d, 4H, $J = 16.2$ Hz, Morpholin-2-H, Morpholin-6-H), 3.38 (d, 4H, $J = 23.9$ Hz, Morpholin-3-H, Morpholin-5-H), 1.99–1.85 (m, 2H, 5'-H), 1.80 (m, 1H, 3a'-H), 1.37–1.09 (m, 17 H, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H, 1''-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 0.97 (s, 3H, 7a'- CH_3), 0.88–0.86 (m, 9H, 1''- CH_3 , 6''-H, 5''- CH_3)

^{13}C -NMR (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 152.87 (C=O), 101.19 (spiro-C), 84.23 (C-5), 65.66 (Morpholin-C2), 65.46 (Morpholin-C-6), 63.85 (C-1''), 60.10 (C-6), 59.83

(C-4), 52.18 (C-1'), 51.99 (C-3a'), 43.76 (C-7a'), 43.50 (Morpholin-C-5), 43.27 (Morpholin-C-3), 38.57 (C-6'), 35.45 (C-5'), 33.77 (C-7'), 33.50 (C-1''), 27.26 (C-5''), 26.16 (C-3'), 25.63 (C-2'), 24.17 (C-2''), 23.72 (C-3''), 21.72 (C-1''-CH₃), 21.58 (C-6''), 21.55 (C-5''-CH₃), 18.71 (C-7a'-CH₃), 17.75, (C-4'')

MS (CI): m/z (%) = 510 (42, M⁺+1), 354 (100)

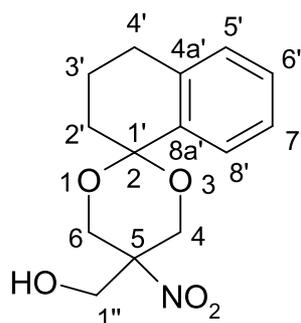
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 3450, 2955, 1717, 1553, 1437, 1365, 1347, 1240, 1118, 1025, 763

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = 44.4$ (c = 0.011, CH₂Cl₂)

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	510.3305
m/z (gefunden)	510.3307
Abweichung in %	0.0004

6.3.39 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-hydroxymethyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (76)



C₁₄H₁₇NO₅

M = 279.30 g/mol

1.00 ml (6.23 mmol) α -Tetralon (**75**), 3.76 g (24.9 mmol, 4 eq) Tris(hydroxymethyl)-nitromethan und 30 mg (0.06 mmol, 1 mol%) Tetrabutylammonium-tribromid (NBu₄Br₃) werden mit 1.10 ml (6.85 mmol, 1.1 eq) Triethylorthoformiat (CH(OEt)₃) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 36 h bei RT gerührt. Das Gemisch wird mit 100

ml 10 % iger Na_2CO_3 -Lösung versetzt. Es fällt ein hellbrauner Feststoff aus, der aus EtOH umkristallisiert wird.

Ausbeute: 1.61 g (5.75 mmol, 92.3%)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 7.56 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, 8'-H), 7.25–7.18 (m, 2H, 5'-H, 6'-H), 7.08 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, 5'-H), 4.71 (d, 2H, $J = 13.4$ Hz, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.19 (d, 2H, $J = 13.3$ Hz, 4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.92 (s, 2H, 1''-H), 2.81 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz, 4'-H), 2.27–2.21 (m, 2H, 2'-H), 1.99–1.83 (m, 2H, 3'-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 136.49 (C-6'), 135.65 (C-4a'), 128.15 (C-8a'), 127.72 (C-7'), 125.80 (C-8'), 125.70 (C-5'), 97.47 (spiro-C), 86.93 (C-5), 63.26 (C-4, C-6), 61.37 (C-1''), 28.36 (C-4'), 26.26 (C-2'), 18.81 (C-3')

MS (CI): m/z (%) = 280 (100, $\text{M}^+ + 1$), 103 (26)

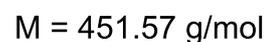
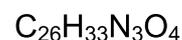
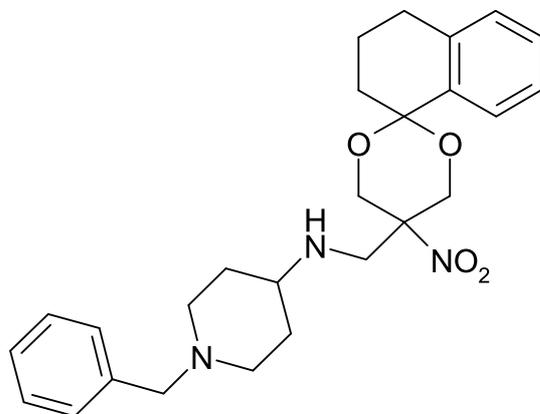
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2936, 1549, 1458, 1327, 1130, 1058, 906, 763

Schmelzpunkt: 133.1°C

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	279.1107
m/z (gefunden)	279.1112
Abweichung in %	0.0002

6.3.40 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-(N-benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (77)



960 mg (3.44 mmol) des Tetralinacetals **76** werden in 1 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.0 ml (4.90 mmol, 1.4 eq) 4-Amino-1-benzylpiperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (7:3) als Eluent. Das Produkt ist ein weißer Feststoff.

Ausbeute: 99 mg (0.22 mmol, 6.4 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 7.29 (m, 3H, 5'-H, 6'-H, Phenyl-6-H), 7.25-7.07 (m, 6H, 7'-H, 8'-H, Phenyl-2-H, Phenyl-3-H, Phenyl-4-H, Phenyl-5-H), 4.72-4.68 (m, 2H, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.45-4.32 (m, 2H, 4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.54 (s, 2H, Phenyl- CH_2), 3.46 (s, 2H, 1''-H), 2.84- 2.73 (m, 6H, 2'-H, 4'-H, Piperidin-6-H), 2.50 (s, 1H, Piperidin-4-H), 2.28 (m, 4H, Piperidin-5-H, Piperidin-2-H), 1.89- 1.84 (m, 4H, Piperidin-3-H, 3'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CDCl_3): δ (ppm) = 138.37 (C-8a'), 137.75 (Phenyl-C-1), 137.74 (C-4a'), 137.16 (C-6'), 129.49 (Phenyl-C-2), 129.12 (Phenyl-C-6), 128.70 (Phenyl-C-4), 128.62 (Phenyl-C-3), 127.46 (Phenyl-C-5), 127.34 (C-7'), 126.63 (C-

5'), 126.51 (C-8'), 98.67 (spiro-C), 85.42 (C-5), 63.40 (C-1''), 62.55 (C-4), 60.54 (C-6), 52.82 (Piperidin-C-4), 52.81 (Piperidin-C-2, Piperidin-C-6), 49.72 (Phenyl-CH₂), 29.71 (Piperidin-C-3), 29.52 (Piperidin-C-6), 27.34 (C-4'), 26.75 (C-2'), 20.18 (C-3')

MS (CI): m/z (%) = 482 (70, M⁺+1), 103 (100)

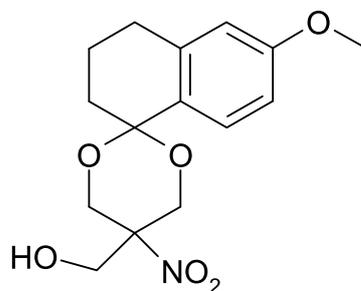
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2937, 1540, 1454, 1351, 1337, 1030, 1110, 924, 760

Schmelzpunkt: 100.6 °C

HRMS (ESI):

m/z (M+H) ⁺ (berechnet)	452.2549
m/z (M+H) ⁺ (gefunden)	452.2544
Abweichung in %	0.001

6.3.41 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-hydroxymethyl-6'-methoxy-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (79)



C₁₅H₁₉NO₆

M = 309.32 g/mol

1.23 ml (7 mmol) 6-Methoxy-1-tetralon (**78**), 4.32 g (28.0 mmol, 4 eq) Tris(hydroxymethyl)nitromethan und 30 mg (0.06 mmol, 1 mol%) Tetrabutylammonium-tribromid (NBu₄Br₃) werden mit 1.3 ml (7.7 mmol, 1.1 eq) Triethylorthoformiat (CH(OEt)₃) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 36 h bei RT gerührt. Das Gemisch wird mit 100 ml 10%iger Na₂CO₃-Lösung versetzt. Es fällt ein rosa Feststoff aus, der aus EtOH umkristallisiert wird. Das Produkt ist ein rosa Feststoff.

Ausbeute: 1.92 g (6.21 mmol, 88.7%)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.38 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, 7'-H), 6.72 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, 8'-H), 6.58 (s, 1H, 5'-H), 4.65 (d, 2H, *J* = 13.4 Hz, 4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.17 (d, 2H, *J* = 13.4 Hz, 4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.88 (s, 2H, 1''-H), 3.75 (s, 3H, 6'-OCH₃), 2.76 (t, 2H *J* = 6.4 Hz, 4'-H), 2.23–2.18 (m, 2H, 2'-H), 1.89–1.83 (m, 2H, 3'-H).

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 160.18 (C-6'), 139.61 (C-8a'), 129.92 (C-7'), 128.71 (C-4a'), 112.91 (C-5'), 112.83 (C-8'), 98.64 (spiro-C), 88.06 (C-5), 64.49 (C-1''), 62.64 (C-4, C-6), 55.68 (OCH₃), 29.95 (C-4'), 27.32 (C-2'), 20.27 (C-3')

MS (CI): m/z (%) = 310 (100, M⁺+1), 280 (50)

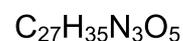
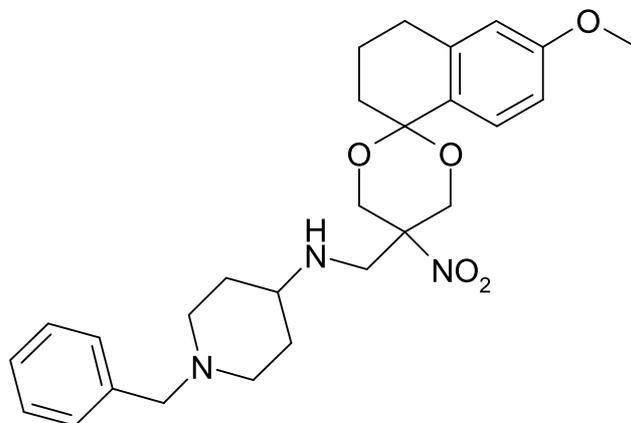
IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2939, 1656, 1596, 1549, 1466, 1348, 1250, 1125, 1032

Schmelzpunkt: 139.0 °C

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	309.1212
m/z (gefunden)	309.1215
Abweichung in %	0.001

6.3.42 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-(N-benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-6'-methoxy-5-nitrospiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (80)



1.0 mg (3.23 mmol) des Tetralinacetals **79** werden in 2 ml Ethanol p.a. suspendiert und mit 1.0 ml (4.90 mmol, 1.5 eq) 4-Amino-1-benzylpiperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na₂CO₃-Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der Rückstand wird in so wenig CH₂Cl₂ wie möglich gelöst und mit Isohexan wird das Produkt als weißer Feststoff ausgefällt.

Ausbeute: 768 mg (1.59 mmol, 48.0%)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.35 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, 7'-H), 7.31–7.28 (m, 4H, Phenyl-2-H, Phenyl-3-H, Phenyl-5-H, Phenyl-6-H), 7.25–7.23 (m, 1H, Phenyl-4-H), 6.71 (dd, 1H, *J* = 8.7 Hz, 2.7 Hz, 8'-H), 6.57 (s, 1H, 5'-H), 4.64 (d, 2H, *J* = 13.3 Hz, 4-H_{eq}, 6-H_{eq}), 4.15 (d, 2H, *J* = 13.3 Hz, 4-H_{ax}, 6-H_{ax}), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.45 (s, 2H, 1''-H), 2.96 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 2.80–2.73 (m, 4H, 4'-H, Piperidin-6-H), 2.35–2.32 (m, 1H, Piperidin-4-H), 2.27–2.19 (m, 2H, 2'-H), 1.97 (t, 2H, *J* = 10.8 Hz, Piperidin-2-H), 1.87–1.81 (m, 2H, 3'-H), 1.78–1.75 (m, 2H, Piperidin-3-H), 1.34–1.17 (m, 2H, Piperidin-5-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 160.08 (C-6'), 139.56 (C-8a'), 139.47 (Phenyl-C-1), 130.20 (C-4a'), 129.46 (Phenyl-C-2, Phenyl-C-6), 128.80 (Phenyl-C-4), 128.61 Phenyl-C-3, Phenyl-C-5), 127.34 (C-7'), 112.92 (C-5'), 112.69 (C-8'), 98.41 (spiro-C), 87.95 (C-5), 63.78 (C-4, C-6), 63.38 (C-1''), 56.04 (Piperidin-C-4), 55.66 (OCH_3), 52.75 (Piperidin-C-2, Piperidin-C-6), 50.06 (Phenyl- CH_2), 33.32 (Piperidin-C-3, Piperidin-C-6), 30.01 (C-4'), 27.12 (C-2'), 20.35 (C-3')

MS (CI): m/z (%) = 482 (30, M^++1), 203 (100)

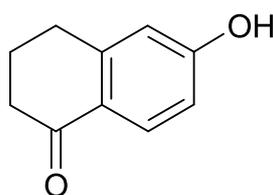
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2937, 1610, 1546, 1504, 1466, 1346, 1248, 1129, 1035, 755

Schmelzpunkt: 126.3 $^\circ\text{C}$

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	483.2733
m/z (gefunden)	483.2960
Abweichung in %	0.005

6.3.43 6-Hydroxy- α -tetralon (81)



$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$

$M = 162.19 \text{ g/mol}$

1.5 g (8.51 mmol) 6-Methoxy- α -tetralon (**78**) werden in 10 ml Ethylacetat gelöst und mit 10 ml 54%iger wässriger HBr-Lösung versetzt. Die Lösung wird eine Stunde zum Rückfluss erhitzt, auf 50 ml Wasser gegeben, mit gesättigter NaOH-Lösung alkalisiert (pH= 8-9) und dreimal mit je 50 ml Diethylether gewaschen. Nach Ansäuern der Lösung mit verdünnter H_2SO_4 wird dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das

Lösungsmittel destillativ entfernt. Das Produkt ist ein metallisch brauner Feststoff, der ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet wird.

Ausbeute: 690 mg (4.25 mmol, 49.9%)

¹H-NMR (400 MHz, in DMSO-d₆): δ (ppm) = 10.31 (s, 1H, OH), 7.74 (d, 1H, J = 8.6 Hz, 7-H), 6.70 (d, 1H, J = 6.1 Hz, 8-H), 6.64 (s, 1H, 5-H), 2.83 (t, 2H, J = 6.0 Hz, 4-H), 2.47 (t, 2H, J = 6.9 Hz, 2-H), 2.01–1.93 (m, 2H, 3-H)

¹³C-NMR (100 MHz, in DMSO-d₆): δ (ppm) = 195.88 (C-1), 162.04 (C-6), 147.24 (C-8a), 129.03 (C-7), 124.59 (C-4a), 114.29 (C-5), 114.23 (C-8), 38.40 (C-4), 29.23 (C-2), 23.00 (C-3)

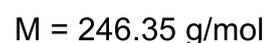
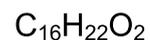
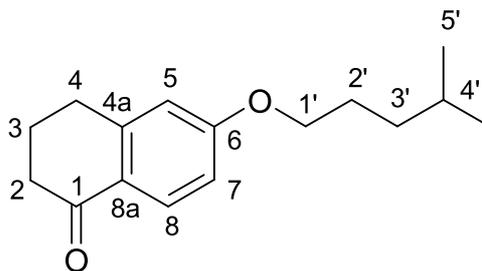
MS (CI): m/z (%) = 163 (100, M⁺+1), 134 (8)

IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 3311, 2944, 1661, 1578, 1349, 1285, 1256, 1211, 1111, 834

Schmelzpunkt: 153.9 °C

HRMS (EI):

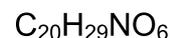
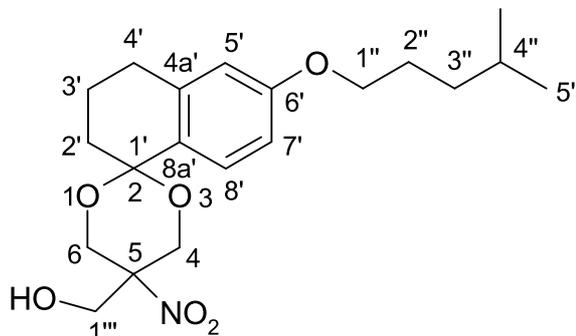
m/z (berechnet)	162.0681
m/z (gefunden)	162.0679
Abweichung in %	-0.001

6.3.44 6-(4-Methylpentylloxy)- α -tetralon (82)

690 mg (4.25 mmol) 6-Hydroxy- α -tetralon (**81**) werden in 4.3 ml DMF gelöst und 0.93 ml (6.38 mmol, 1.5 eq) 1-Brom-4-methylpentan und 1.17 g (8.50 mmol) K_2CO_3 hinzugegeben. Die Lösung wird 16 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird in 50 ml Wasser gegeben und dreimal mit je 50 ml EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit je 50 ml 1N HCl und einmal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das Produkt wird ohne weitere Aufreinigung oder Charakterisierung weiter verwendet.

Rohausbeute: 936 mg (3.80 mmol, 89.4%)

6.3.45 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-hydroxymethyl-5-nitro-6'-(4-methylpentyloxy)-spiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (83)



936 mg (3.80 mmol) des Ketons **82**, 2.29 g (15.2 mmol, 4 eq) Tris(hydroxymethyl)nitromethan und 20 mg (0.04 mmol, 1 mol%) NBu_4Br_3 werden mit 0.5 ml (4.18 mmol, 1.1 eq) Triethylorthoformiat ($\text{CH}(\text{OEt})_3$) versetzt. Die Reaktionsmischung wird 36 h bei RT gerührt. Das Gemisch wird mit 50 ml 10%iger Na_2CO_3 -Lösung versetzt und dreimal mit je 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der Rückstand wird in so wenig CH_2Cl_2 wie möglich gelöst und mit Isohexan wird das Produkt als beiger Feststoff ausgefällt.

Ausbeute: 810 g (2.13 mmol, 56.1%)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 7.35 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, 7'-H), 6.70 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, 8'-H), 6.56 (s, 1H, 5'-H), 4.69–4.59 (m, 2H, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.17 (2d, 2H, $J = 13.4$ Hz, 13.5 Hz, 4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.90 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz, 1''-H), 3.85 (s, 2H, 1'''-H), 2.74 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz, 4'-H), 2.25–2.16 (m, 2H, 2'-H), 1.90–1.80 (m, 2H, 3'-H), 1.79–1.69 (m, 2H, 2''-H), 1.64–1.53 (m, 1H, 4''-H), 1.34–1.25 (m, 2H, 3''-H), 0.91 (d, 3H, $J = 7.3$ Hz, 4''- CH_3), 0.90 (d, 3H, $J = 6.6$, 5''-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 159.72 (C-6'), 139.56 (C-8a'), 129.75 (C-7'), 128.66 (C-4a'), 113.46 (C-5'), 113.39 (C-8'), 98.64 (spiro-C), 88.09 (C-5), 68.76 (C-1'''), 64.37 (C-1'''), 62.66 (C-4, C-6), 35.57 (C-3''), 29.96, (C-4') 28.38 (C-4''), 27.65 (C-2''), 27.28 (C-2'), 22.83 (C-4''- CH_3 , C-5''), 20.30 (C-3')

MS (CI): m/z (%) = 380 (100, $M^{+}+1$), 350 (74)

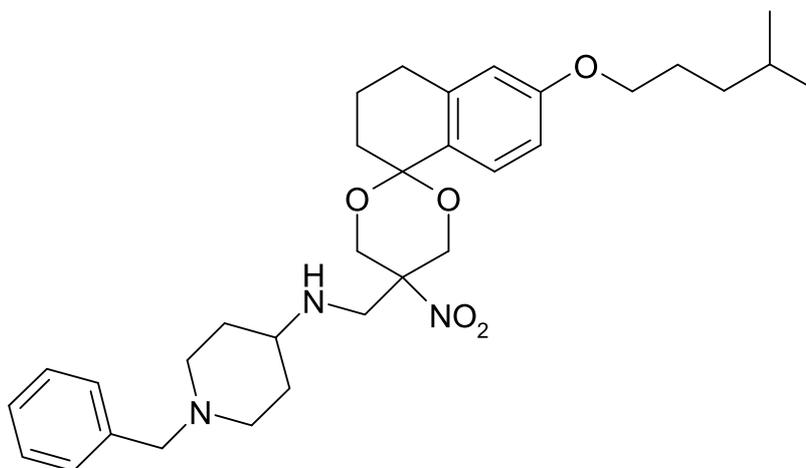
IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 3416, 2955, 1609, 1551, 1537, 1504, 1470, 1437, 1347, 1247, 1170, 1133, 1053, 845

Schmelzpunkt: 112.6 °C

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	379.1995
m/z (gefunden)	379.1995
Abweichung in %	0

6.3.46 1',2',3',4'-Tetrahydro-5-(N-benzylpiperidin-4-yl)aminomethyl-5-nitro-6'-(4-methylpentyl-oxo)-spiro[1,3-dioxan-2,1'-naphthalin] (84)



$\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_5$

$M = 551.73 \text{ g/mol}$

810 mg (2.13 mmol) des Tetralinacetals **83** werden in 2 ml Ethanol p.a. gelöst und mit 1.0 ml (4.90 mmol, 1.5 eq) 4-Amino-1-benzylpiperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 16 h gerührt. Dann wird die braune Lösung in 50 ml 10 % wässrige Na_2CO_3 -Lösung gegeben und dreimal mit jeweils 50 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der Rückstand wird in

so wenig CH_2Cl_2 wie möglich gelöst und mit Isohexan wird das Produkt als brauner Feststoff ausgefällt.

Ausbeute: 410 mg (0.73 mmol, 34.3%)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 7.31-7.23 (m, 6H, 7'-H, Phenyl-2-H, Phenyl-3-H, Phenyl-4-H, Phenyl-5-H, Phenyl-6-H), 6.69 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, 8'-H), 6.56 (s, 1H, 5'-H), 4.64 (d, 2H, $J = 10.7$ Hz, 4- H_{eq} , 6- H_{eq}), 4.17 (d, 2H, $J = 10.6$ Hz, 4- H_{ax} , 6- H_{ax}), 3.89 (t, 2H, $J = 5.3$ Hz, 1''-H), 3.45 (s, 4H, 1'''-H, Phenyl- CH_2), 2.77 (m, 4H, Piperidin-4-H, Piperidin-6-H), 2.74 (t, 2H, $J = 5.2$ Hz, 4'-H), 2.35-2.34 (m, 1H, Piperidin-4H), 2.22–2.20 (m, 2H, 2'-H), 1.97-1.95 (m, 4H, Piperidin-3-H, Piperidin-5-H), 1.85–1.82 (m, 2H, 3'-H), 1.76–1.72 (m, 2H, 2''-H), 1.60–1.57 (m, 1H, 4''-H), 1.33–1.26 (m, 2H, 3''-H), 0.91 (d, 6H, $J = 5.3$ Hz, 4''- CH_3 , 5''-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in MeOH-d_4): δ (ppm) = 157.22 (C-6'), 139.69 (C-8a'), 138.62 (Phenyl-C-1), 130.86 (C-4a'), 129.45 (Phenyl-C-2, Phenyl-C-6), 128.80 (Phenyl-C-4), 128.62 Phenyl-C-3, Phenyl-C-5), 128.16 (C-7'), 113.44 (C-5'), 110.16 (C-8'), 101.47 (spiro-C), 85.15 (C-5), 63.92 (C-1'''), 53.11 (C-4, C-6), 48.46 (C-1''), 45.67 (Piperazin-C-4), 44.23 (C-6'- OCH_3), 40.95 (Piperazin-C-2, Piperazin-C-6), 38.79 (Phenyl- CH_2), 33.80 (C-3''), 31.45 (Piperazin-C-3, Piperazin-C-6), 28.48 (C-4'), 25.30 (C-4''), 23.11 (C-2''), 20.99 (C-4''- CH_3), 20.86 (C-5''), 17.52 (C-2'), 14.10 (C-3')

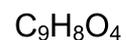
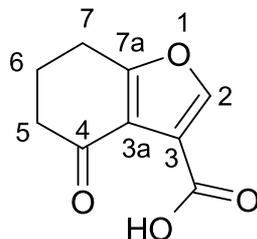
MS (CI): m/z (%) = 582 (80, $\text{M}^+ + 1$), 280 (100)

IR (CH_2Cl_2 , Film): ν (cm^{-1}) = 2939, 1608, 1545, 1453, 1345, 1246, 1123, 741, 699

Schmelzpunkt: 88.7 °C

HRMS (ESI):

m/z ($\text{M} + \text{H}$) ⁺ (berechnet)	552.3437
m/z ($\text{M} + \text{H}$) ⁺ (gefunden)	552.3435
Abweichung in %	0.0004

6.3.47 4-Oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzofuran-3-carbonsäure (86)

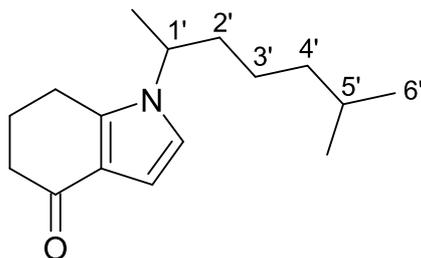
11.2 g (0.10 mol) Dihydroresorcin und 5.6 g (0.10 mol, 1 eq) KOH werden in 50 ml MeOH suspendiert und mit 14.1 ml (0.10 mol, 1 eq) Brombrenztraubensäureethylester versetzt. Die Suspension wird 12 h bei RT gerührt, 100 ml Wasser hinzugegeben und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das Produkt fällt als beiger Feststoff aus.

Ausbeute: 4.84 g (26.8 mmol, 26.8 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 13.22 (s, 1H, OH), 8.06 (s, 1H, 2-H), 2.97 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz, 5-H), 2.67 (t, 2H, $J = 4.9$ Hz, 7-H), 2.29–2.23 (m, 2H, 6-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, in CD_2Cl_2): δ (ppm) = 199.93 (C-4), 171.14 (COOH), 161.19 (C-3), 150.08 (C-2), 118.01 (C-3a), 117.20 (C-7a), 36.61 (C-7), 23.27 (C-5), 22.47 (C-6)

6.3.48 1-(1,5-Dimethylhexyl)-1,5,6,7-tetrahydroindol-4-on (87)

C₁₆H₂₅NO

M = 247.38 g/mol

500 mg (2.78 mmol) des Tetrahydrobenzofuranons **86** werden in 5 ml eines Wasser : EtOH Gemisches (5:1) gelöst und mit 2.05 ml (12.1 mmol, 4.4 eq) 2-Amino-6-methylheptan versetzt. Die Lösung wird im geschlossenen System unter Mikrowellenbedingungen umgesetzt.

Mikrowellenparameter: P = 250 W
 T = 110 °C
 t = 15 min
 p = 6 bar

Das Ethanol wird destillativ entfernt, der Rückstand mit 1 N HCl angesäuert (pH 3-4) und dreimal mit je 50 ml EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit Isohexan : Ethylacetat (7:3) als Eluent. Das Produkt ist ein gelbes Öl.

Ausbeute: 560 mg (2.26 mmol, 81.3 %)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 6.64 (d, 1H, J = 3.2 Hz, 2-H), 6.47 (d, 1H, J = 3.2 Hz, 3-H), 4.1–4.03 (m, 1H, 1'-H), 2.73 (t, 2H, J = 6.2 Hz, 5-H), 2.41–2.37 (m, 2H, 7-H), 2.16–2.09 (m, 2H, 6-H), 1.76–1.63 (m, 2H, 2'-H), 1.53–1.42 (m, 1H, 5'-H), 1.40 (d, 3H, J = 6.8 Hz, 1'-CH₃), 1.22–1.07 (m, 4H, 3'-H, 4'-H), 0.84 (d, 3H, J = 5.3 Hz, 5'-CH₃), 0.82 (d, 3H, J = 5.2 Hz, 6'-H)

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 194.15 (C-4), 143.53 (C-7a), 120.59 (C-3a), 118.49 (C-2), 105.85 (C-3), 52.82 (C-1'), 39.00 (C-3'), 38.47 (C-7), 38.12 (C-2'), 28.31 (C-5'), 24.56 (C-4'), 24.35 (C-6), 22.84 (C-5'-CH₃), 22.72 (C-6'), 22.50 (C-5), 22.10 (C-1'-CH₃)

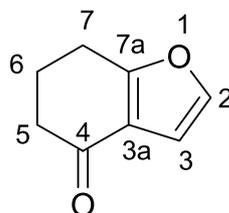
MS (CI): m/z (%) = 248 (100, $M^+ + 1$), 495 (24)

IR (CH₂Cl₂, Film): ν (cm⁻¹) = 2951, 1659, 1537, 1498, 1466, 1415, 1384, 1230, 1187, 1112, 960, 897, 711

HRMS (EI):

m/z (berechnet)	247.1936
m/z (gefunden)	247.1929
Abweichung in %	-0.003

6.3.49 6,7-Dihydro-5H-benzofuran-4-on (89)



C₈H₈O₂

M = 136.15 g/mol

750 mg (4.16 mmol) 4-Oxo-4,5,6,7-tetrahydro-benzofuran-3-carbonsäure (**86**) werden in 5 ml Ethanol gelöst und mit 10 ml 2N HCl versetzt. Die Lösung wird über Nacht bei RT gerührt. Das Ethanol wird destillativ entfernt und der Rest dreimal mit jeweils 20 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das Produkt ist der beige Rückstand.

Ausbeute: 566 mg (4.16 mmol, quantitative Ausbeute)

¹H-NMR (400 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.01 (d, 1H, J = 8.3 Hz, 2-H), 7.34 (s, 1H, J = 8.3 Hz, 3-H), 2.92 (t, 2H, J = 6.3 Hz, 5-H), 2.73 (t, 2H, J = 4.88 Hz, 7-H), 2.28–2.23 (m, 2H, 6-H)

¹³C-NMR (100 MHz, in CD₂Cl₂): δ (ppm) = 200.12 (C-4), 158.19 (C-3), 149.77 (C-2), 117.82 (C-3a), 116.29 (C-7a), 37.20 (C-7), 23.17 (C-5), 22.21 (C-6)

6.4 Testmethoden der biologischen Prüfung

Die Agar-Diffusionstests und MTT-Tests wurden von Frau Martina Stadler durchgeführt. Die beschriebenen Methoden der Sterolanalytik wurden von Dr. Jörg Müller¹³⁰ (Ergosterolbiosynthese-Assay) und Dr. Martin Giera¹³³ (Cholesterolbiosynthese-Assay) entwickelt und von Christoph Müller durchgeführt.

6.4.1 Agar-Diffusionstest

Von den zu testenden Substanzen werden 1 %ige (m/v) Lösungen in CH₂Cl₂ oder bei schwerlöslichen Verbindungen in DMSO hergestellt. Jeweils 5 µl der Stammlösungen der Testsubstanzen werden auf Rundfilter (Schleicher & Schuell, Dassel, Deutschland) aufgetragen. Als Referenzsubstanzen werden Clotrimazol und Tetracyclin verwendet. Jeweils 2.5 µl von 1 %igen Lösungen dieser Substanzen werden ebenfalls auf Rundfilter aufgetragen. Das Lösungsmittel wird nach dem Auftragen über Nacht verdunstet. Bei der Verwendung von DMSO als Lösungsmittel werden auch Rundfilter mit 5 µl DMSO als Blindwert präpariert. Bei der Testung wird mit diesem Blindwert bestätigt, dass eventuelle DMSO-Rückstände keine Auswirkungen auf das Wachstum der Bakterien oder Pilze haben. Die Pilze, Bakterien und HL 60-Zellen (MTT-Test) wurden von der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Deutschland) bezogen und zunächst nach der mitgelieferten Vorschrift in einer Flüssigkultur gezüchtet. Die sterilen Arbeiten werden unter der Laminar-Tariflos-Arbeitsbank vom Typ Heraeus (Heraeus, Hanau, Deutschland) durchgeführt. Für *Candida glabrata*, *Hyphopichia burtonii*, *Yarrowia lipolytica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas antimicrobia*, *Streptococcus entericus* und *Staphylococcus equorum* dient ein AC-Agar (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) als Nährmedium. 35.2 g AC-Agar und 2 g Agar, der zur Verfestigung dient, werden in einem Liter Wasser suspendiert und anschließend autoklaviert. Unter sterilen Bedingungen werden je 15 ml des noch warmen, flüssigen Agars in Petrischalen gefüllt und ca. 30 Minuten stehen gelassen. Für *Aspergillus niger* wird ein Kartoffel-Agar verwendet. Dazu werden 39 g Kartoffel Dextrose Agar und 1 g Agar, der zur Verfestigung dient, in einem Liter Wasser suspendiert und autoklaviert. Unter sterilen Bedingungen werden je 15 ml des noch warmen und flüssigen Agars in Petrischalen gefüllt und ca. 30 Minuten stehen gelassen. Unter sterilen Arbeitsbedingungen wird der entsprechende Keim mit einer Metallöse auf das jeweilige Nährmedium aufgetragen und die Platte mit je vier Substanzplättchen

belegt. Als Kontrolle werden zudem die genannten Referenzsubstanzen und die nur mit dem Lösungsmittel präparierten Plättchen aufgetragen. Danach erfolgt die Inkubation in einem Trockenschrank bei einer Bruttetemperatur von 32.1 °C für Bakterien und 28.0 °C für die Pilze. Nach 36 h erfolgt die Auswertung der Testergebnisse durch manuelles Ausmessen der Durchmesser der Hemmhöfe.

6.4.2 MTT-Test

Der MTT-Test erfolgt an Zellen der humanen Leukämie-Zelllinie HL 60. Von den zu untersuchenden Substanzen wird jeweils eine Stammlösung mit einer Konzentration von 10 mM in Ethanol hergestellt. Daraus wird durch 1:1 Verdünnungen mit Ethanol eine Verdünnungsreihe (10 µM, 5 µM, 2.5 µM, 1.25 µM und 0.625 µM) erstellt. Als Blindprobe dient eine Mischung aus 99 µl Nährmedium und 190 µl DMSO. Kontrollzellen werden mit reinem Nährmedium, ohne Ethanol und Substanz, versetzt. Als Positivkontrolle wird eine Triton® X-100 Lösung in einer Endkonzentration von 1 µg/ml verwendet. Von jeder Verdünnung wird 1 µl in ein Well, welches 99 µl einer HL 60-Zellsuspension (ca. 9×10^5 Zellen/ml) enthält, pipettiert und 24 h bei 37 °C, 5 % CO₂ und 90 % Luftfeuchtigkeit inkubiert. Jedes Well wird mit 10 µl einer MTT-Lösung (5 mg/ml in PBS) versetzt und weitere 2 h inkubiert (Bedingungen s.o.). Es werden dann 190 µl DMSO zugesetzt und nach weiteren 60 min Wartezeit und gelegentlichem Schütteln wird die Platte bei einer Messwellenlänge von $\lambda = 570$ nm (Referenzwellenlänge $\lambda = 630$ nm) photometrisch in einem ELISA Reader (SLT Spectra, Crailsheim, Deutschland) vermessen und die Ergebnisse statistisch ausgewertet.

6.4.3 Ergosterolbiosynthese-Assay auf Enzyminhibitoren der Ergosterolbiosynthese

6.4.3.1 Inkubation mit Testsubstanzen

Die Testsubstanzen werden in Ethanol (gegebenenfalls kann auch eine Ethanol/Wasser-Mischung oder DMSO verwendet werden) zu 0.8 mg/ml gelöst (= Stammlösung). Die Stammlösung entspricht nach Zugabe (10 µl) zur Pilzsuspension einer Testkonzentration von 4 µg/ml. Die hier verwendeten Keime sind *Candida glabrata*, *Yarrowia lipolytica* und *Saccharomyces cerevisiae*. Die Stammkonzentration der einzelnen Testreihen wird mit dem entsprechenden Lösungsmittel schrittweise jeweils 1:1 verdünnt, um insgesamt folgende

Endkonzentrationen nach Zugabe (10 µl) zur Pilzsuspension zu erreichen: 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 µg/ml. Die jeweilige Pilz-Stammkultur wird in der Sterilbank 1:10 mit Wasser dest. verdünnt und photometrisch bei 570 nm gegen einen 0.5 M McFarland Standard vermessen. Die Anzahl der KBE pro ml der Stammkultur wird über einen Dreisatz aus den gemessenen Absorptionen unter der Voraussetzung, dass der McFarland Standard 5×10^6 KBE/ml entspricht, berechnet:

$$\frac{KBE}{ml_{Stamm}} = \frac{5 \cdot 10^6 \cdot A_{ZLsg} \cdot 10}{A_{McFarland}}$$

Formel 6-1: Formel zur Berechnung der KBE/ml der Stammkultur, KBE/ml_{Stamm} Koloniebildende Einheiten pro ml Stammkultur, A_{ZLsg} Absorption der Pilzellösung, $A_{McFarland}$ Absorption des 0.5 M McFarland Standards

Mit der so erhaltenen Anzahl an KBE pro ml der Stammkultur wird nun das benötigte Volumen [µl] einer 1:100 Verdünnung eben dieser Stammkultur berechnet, welches 100.000 KBE entspricht (= Inokulum):

$$V = \frac{100000 \cdot 1000 \cdot 100}{\frac{KBE}{ml_{Stamm}}} [\mu l]$$

Formel 6-2: Berechnung des 100.000 KBE entsprechenden Volumens, V =Volumen in µl einer 1:100 Verdünnung der Stammkultur, welches 100.000 KBE entspricht, KBE/ml_{Stamm} Koloniebildende Einheiten pro ml Stammkultur

Die nachfolgenden Arbeitsschritte werden in einer Sterilbank durchgeführt. Die Stammkultur wird mit Medium 1:100 verdünnt. In jedes Well einer 24 Well Testplatte wird das Inokulum pipettiert (Endkonzentration: 50.000 KBE/ml) und mit Medium auf 1990 µl aufgefüllt. 10 µl der jeweiligen Substanzlösung werden hinzu pipettiert und die Platte wird vorsichtig 30 s geschwenkt. Die Testplatte wird 48 ± 2 h bei 28 °C (Luftzufuhr Stufe 6) inkubiert und anschließend kann die Bestimmung der MHK, sowie die Aufarbeitung ausgesuchter Konzentrationen zur Ermittlung der Enzyminhibition nach der jeweiligen Vorschrift erfolgen.

6.4.3.2 Bestimmung der MHK

Die MHK (Minimale Hemmkonzentration) ist als die Konzentration einer Substanz definiert, bei der kein Pilzwachstum mehr erkennbar ist. Die Ablesung der MHK erfolgt visuell nach einer Inkubationszeit von 48 ± 2 h.

6.4.3.3 Aufschluss der Zellen und Extraktion der Sterole

Für die weitere Aufarbeitung werden die Inkubationsätze mit Substanzkonzentrationen, die einem Viertel bzw. einem Achtel der MHK entsprechen, ausgewählt. Der Inhalt der Wells wird in ein 2 ml Plastiktube überführt und bei $15.000 \times g$ 5 min zentrifugiert. Der Überstand wird vorsichtig abgenommen und verworfen. Das Well wird mit 1000 μ l PBS (phosphatgepufferte Kochsalzlösung) nachgewaschen und nochmals unter den gleichen Bedingungen zentrifugiert. Wiederum wird der Überstand abgenommen und verworfen. Es wird 1 ml 1 M NaOH zum Pellet gegeben, das Reaktionsgefäß wird mit Stickstoff geflutet, verschlossen, 5 min im Ultraschallbad behandelt und anschließend auf 70 °C erwärmt. Nach Ablauf einer Stunde werden 650 μ l TBME (*tert.*-Buthylmethylether) und 100 μ l I.S.-Lösung (Interner Standard: Cholastan, 50 μ g/ml) zugegeben, 1 min kräftig geschüttelt und abschließend 3 min bei $10.000 \times g$ zentrifugiert. Der Überstand wird abgenommen und in ein 2 ml Plastiktube überführt, das 40 mg einer 7:1 Verreibung von Na_2SO_4 und PSA (Adsorbens: Primäres sekundäres Amin) enthält. Die Extraktion wird mit 750 μ l TBME wiederholt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit der PSA-Verreibung geschüttelt und anschließend bei $10.000 \times g$ 3 min zentrifugiert. 1.0 ml des Überstandes werden in ein Braunglasvial überführt und bei ca. 50 °C unter einem Stickstoffstrom zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird in 950 μ l TBME aufgenommen und 50 μ l TSIM (Trimethylsilylimidazol) zugesetzt. Die Silylierung ist nach 30 min bei RT abgeschlossen. 0.5 - 2 μ l dieser Lösung (je nach erhaltener Biomasse - empirischer Wert) werden in das spezifizierte GC/MS System injiziert.

6.4.3.4 Identifizierung des inhibierten Enzyms

Um das inhibierte Enzym zu identifizieren, wird das erhaltene Chromatogramm auf das Vorhandensein der für die jeweilige Enzyminhibition charakteristischen Markersterole untersucht. Diese können anhand ihrer relativen Retentionszeit, der spezifizierten Qualifier-Ionen und Vergleich mit einer im AK Bracher aufgebauten MS-Datenbank identifiziert werden. Aus dem Auftreten eines oder mehrerer

charakteristischer Markersterole kann somit das inhibierte Enzym(e) abgeleitet werden.

6.4.4 Cholesterolbiosynthese-Assay auf Enzyminhibitoren der Cholesterolbiosynthese

6.4.4.1 Herstellung der Substanzlösungen

Für ein qualitatives Screening werden die Substanzen zuerst in Konzentrationen von 1 μM und 50 μM getestet. Die Solleinwaage der Substanzen in 1 ml Ethanol wird dabei so berechnet, dass sich eine Endkonzentration von 50 μM ergibt, wenn 10 μl dieser Lösung in 990 μl Medium (Endvolumen 1 ml) pipettiert werden. Anschließend wird diese Lösung 1:50 verdünnt, so dass sich eine Endkonzentration von 1 μM ergibt, wenn 10 μl dieser Lösung in 990 μl Medium (Endvolumen 1 ml) pipettiert werden.

6.4.4.2 Inkubation

Zur Testung der Substanzen werden 1 Million Zellen der humanen Leukämie-Zelllinie HL 60 in eine 24 Well-Platte überführt und mit lipid- und cholesterolfreiem RPMI 1640 Medium (PAN Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland), das 10 % fetales Rinderserum (FBS) enthält, auf ein Volumen von 990 μl aufgefüllt. Anschließend werden 10 μl der entsprechenden Substanzlösung und für die Negativkontrolle 10 μl Ethanol zupipettiert. Es werden für jede Substanz zwei Endkonzentrationen getestet; 1 μM und 50 μM . Die Stammlösungen müssen so hergestellt werden, dass sie nach einer 1:10 Verdünnung im Medium eine der zuvor genannten Endkonzentrationen aufweisen. Die Testplatte wird 30 Sekunden geschwenkt und dann 24 h bei 37 °C, 5 % CO_2 und 90 % Luftfeuchtigkeit im Brutschrank inkubiert.

6.4.4.3 Aufschluss der Zellen und Extraktion der Sterole

Zur Sterolextraktion wird der Inhalt der Wells der Testplatte in jeweils ein 2 ml Plastiktube überführt. Jedes Well wird mit 750 μl PBS nachgewaschen. Durch 5-minütiges Zentrifugieren bei 540 x g werden die Zellen vom Überstand abgetrennt und erneut mit 1 ml PBS gewaschen. Es wird 1.0 ml 1N NaOH zugesetzt, die Proben kurz geschüttelt, aus dem Plastik- in ein 5 ml Glasvial überführt und eine Stunde bei 70 °C im Trockenschrank lysiert. Nach Abkühlen der Proben auf Raumtemperatur werden 50 μl interne Standardlösung (10 μg Cholestan in 1 ml TBME) und 700 μl

TBME zugesetzt, 1 Minute kräftig geschüttelt und anschließend 5 Minuten bei 9200 x g zentrifugiert. Nach Abnehmen der organischen Phase wird dieser Vorgang wiederholt. Die vereinten organischen Phasen werden in ein 40 mg einer 7:1 Mischung aus Natriumsulfat und PSA enthaltendes 2 ml Plastikvial überführt. Das Vial wird 30 Sekunden geschüttelt, dann bei 9200 x g 5 Minuten zentrifugiert. 1.0 ml des Überstandes wird in ein Braunglasvial überführt und bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wird mit 950 µl TBME und 50 µl MSTFA (2,2,2-Trifluor-N-methyl-N-(trimethylsilyl)-acetamid), das 10 % TSIM enthält, versetzt und 30 Minuten bei RT inkubiert. Die Probe kann nun in die GC-MS-Anlage injiziert zu werden.

6.4.4.4 Identifizierung des inhibierten Enzyms

Um das inhibierte Enzym zu identifizieren, wird das erhaltene Chromatogramm auf das Vorhandensein der für die jeweilige Enzyminhibition charakteristischen Markersterole untersucht. Diese können anhand ihrer relativen Retentionszeit und der spezifizierten Qualifier-Ionen identifiziert werden. Aus dem Auftreten eines charakteristischen Markersterols kann somit das inhibierte Enzym abgeleitet werden. Die Auswertung der erhaltenen Chromatogramme erfolgt durch den Vergleich der AUCs (Area under Curve/Integralflächen) für das jeweilige Sterol.

6.4.5 Aktivitätsbestimmung der synthetisierten Inhibitoren auf die Gesamtcholesterolsynthese

Die Aktivitätstestung von Substanzen auf die Gesamtcholesterolsynthese kann prinzipiell auf zwei Arten erfolgen, zum einen kann für orientierende Versuche die Aktivität (% Inhibition) einer Substanz im Triplikat bei einer fixen Konzentration (meist 1 µM) gemessen werden, zum anderen kann der IC₅₀-Wert durch die Erstellung einer sigmoidalen Konzentrations-Wirkungskurve ermittelt werden. Die Substanzlösungen werden wie in Arbeitsvorschrift [6.3.4.3](#) hergestellt. Dann werden ausgehend von der höchsten getesteten Konzentration in 1:1 Verdünnungsschritten sechs Substanzlösungen hergestellt. Alle Konzentrationen sind im Triplikat zu testen. Es kann bei der quantitativen Bestimmung auf eine Positivkontrolle verzichtet werden, wenn zuvor qualitativ bestimmt wurde welche Zwischenstufe der Sterolsynthese akkumuliert und so das inhibierte Enzym bestimmt wird. Die Quantifizierung der Inhibition erfolgt mittels des Einbaus von 2-¹³C-Acetat in das Cholesterol. Hierzu werden HL-60 Zellen mit ¹³C-Acetat-Lösung inkubiert (siehe Vorschrift [6.3.4.2](#)). Das neu gebildete Cholesterol kann anhand der höheren Masse

von dem bereits in der Zelle vorhandenen Matrixcholesterol unterschieden werden. Zur Berechnung der prozentualen Inhibition wird die nachfolgende Formel verwendet:

$$\%Inhibition = \left[1 - \left(\frac{A_s * A_{I.S.C.} * PC_C}{A_C * A_{I.S.S.} * PC_S} \right) \right] * 100$$

Formel 6-3: Formel zur Berechnung der prozentualen Inhibition: A_S : Fläche Probe, $A_{I.S.C.}$: I.S. Kontrolle, PC_C : Proteingehalt Kontrolle, A_C : Fläche Kontrolle, $A_{I.S.S.}$: Fläche I.S. Probe, PC_S : Proteingehalt Probe

Der zur Berechnung der prozentualen Inhibition benötigte Proteingehalt wird nach der Methode von Bradford bestimmt.

7 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
2d	zwei Dubletts (ineinander verschoben)
Abb.	Abbildung
AC-Agar	All culture-Agar (Nährmedium)
AcOH	Essigsäure
ax	axial
Bu	Butyl
BuLi	N-Butyllithium
Bz	Benzyl
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CI	chemische Ionisation
cm	Zentimeter
COSY	correlated spectroscopy (H-H oder C-H)
d	Duplett
DB	Doppelbindung
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Dublett von Dublett
ddd	Dublett von Dublett von Dublett
DEPT	distortionless enhancement by polarisation transfer
dest.	destilliert
DMAP	4-(N,N-Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dq	Dublett vom Quartett
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
dt	Dublett von Triplet
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eq	äquatorial oder Äquivalent
et al.	et alia (und andere)

EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FBS	fetales Rinderserum
g	Gramm
GC/MS	Gaschromatographie/ Massenspektrometrie
h	Stunde(n)
HEI	High Energy Intermediate
HL-60	Human promyelocytic leukemia cells
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
HR-MS	high resolution mass spectrometry
Hz	Hertz
I.S.	interner Standard
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
IR	Infrarot(spektroskopie)
J	Kopplungskonstante
KBE	Kolonie bildende Einheiten
Lsg	Lösung
M	molar, mol/l
m	Multipllett
m/z	Verhältnis Masse zu Ladung (Massenspektrometrie)
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MHK	minimale Hemmkonzentration
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MS	Massenspektrometrie
MSTFA	2,2,2-Trifluor-N-methyl-N-(trimethylsilyl)-acetamid
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
N	Normalität

NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
nm	Nanometer
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
NOE	nuclear Overhauser effect
OSC	Oxidosqualencyclase
p.a.	pro analysi
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
ppm	parts per million
PSA	Adsorbens: Primäres sekundäres Amin
q	Quartett
RSD	relative Standardabweichung
RT	Raumtemperatur
s	Singulett (Aufspaltung im NMR-Spektrum), Sekunde (Zeiteinheit)
SI	Sterol- $\Delta^{8/7}$ -Isomerase
t	Triplett
TBME	<i>tert</i> -Butylmethylether
THF	Tetrahydrofuran
TMS-Cl	Trimethylsilylchlorid
TSIM	Trimethylsilylimidazol
UV	Ultraviolett
z.B.	zum Beispiel
δ	chemische Verschiebung [ppm]
μ l	Mikroliter

8 Literaturverzeichnis

- ¹ L.L. Cheng, G.Z. Wang, H.Y. Zhang, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2007**, 363, 885
- ² H.R. Waterham, R.J.A. Wanders, *Biochem. Biophys. Acta*, **2000**, 1529, 340
- ³ R.J. Rodriguez, C. Low, C.D.K. Bottema, L.W. Parks, *Biochem. Biophys. Acta*, **1985**, 837, 336
- ⁴ P. Benveniste, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **2004**, 55 429
- ⁵ F.F. Moebius, B.U. Fitzky, H. Glossmann, *TEM*, **2000**, 11, 106
- ⁶ F. Berardi, C. Abate, S. Ferorelli, A.F. de Robertis, M. Leopoldo, N.A. Colabufo, M. Niso, R. Perrone, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 7523
- ⁷ R. Klingenstein, S. Löber, P. Kujal, S. Godsave, S.R. Leliveld, P. Gmeiner, P.J. Peters, C. Korth, *J. Neurochem.*, **2006**, 98, 748
- ⁸ C.T. Walsh, M.A. Fischbach, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 5700
- ⁹ C.I. Lui, G.Y. Lui, Y. Song, F. Yin, M.E. Hensler, W.Y. Jeng, V. Nizet, A.H.J. Wang, E. Oldfield, *Science*, **2008**, 319, 1391
- ¹⁰ J.C. Hinshaw, D.Y. Suh, P. Garnier, F.S. Bruckner, R.T. Eastman, S.P.T. Matsuda, B.M. Joubert, I. Coppens, K.A. Joiner, S. Merali, T.E. Nash, G.D. Prestwich, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 4240
- ¹¹ M. Romer, *Nat. Prod. Rep.*, **1999**, 16, 565
- ¹² E.I. Mercer, *Prog. Lipid Res.*, **1993**, 32, 357
- ¹³ E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, *Mutschler Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH Stuttgart, **2001**, 520
- ¹⁴ S. Bellosta, R. Paoletti, A. Corsini, *Circulations*, **2004**, 109, III50
- ¹⁵ R.J. Cenedella, J.R. Kuszak, K.J. Al-Ghoul, S. Qin, P.S. Sexton, *J. Lipid Res.*, **2003**, 44, 198
- ¹⁶ R.G. Schlinger, W.E. Haefeli, H. Jick, C.Meier, *Arch. Intern. Med.*, **2001**, 161, 2021
- ¹⁷ J.K. Volkman, *Org. Geochem.*, **2005**, 36, 139
- ¹⁸ I. Abe, T. Seki, K. Umehara, T. Miyase, H. Nohuchi, J. Sakakibara, T. Ono, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2000**, 268, 767
- ¹⁹ E.J. Corey, S.C. Virgil, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 11819
- ²⁰ E.J. Corey, S.C. Virgil, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 8171
- ²¹ B. Robustell, I. Abe, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 957
- ²² E.J. Corey, H. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 1277

- ²³ R.Thoma, T. Schulz-Gasch, B. D'Arcy, *Nature*, **2004**, 432, 118
- ²⁴ D. Gao, Y.-K. Pan, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 4045
- ²⁵ M. Taton, P. Benveniste, A. Rahier, *Pure & Appl. Chem.* **1987**, 59, 287
- ²⁶ H. Dehmlow, J.D. Aebi, S. Jolidon, Y.H. Ji, E.M. von der Mark, J. Himber, O.H. Morand, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 3354
- ²⁷ G.R. Brown, D.M. Hollinshead, E.S.E. Stokes, D. Waterson, D.S. Clark, A.J. Foubister, S.C. Glossop, F. McTaggart, D.J. Mirrlees, G.J. Smith, R. Wood, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 4964
- ²⁸ M.W. Huff, D.E. Telfort, *Trends Pharmacol. Sci.*, **2005**, 26, 335
- ²⁹ T. Spencer, *Acc. Chem. Res.*, **1994**, 27, 83
- ³⁰ M. Mark, P. Müller, R. Maier, B. Eisele, *J. Lipid Res.*, **1996**, 37, 148
- ³¹ R.J. Cenedella, R. Jacob, D. Borchman, D. Tang, A.R. Neely, A. Samadi, R.P. Mason, P. Sexton, *J. Lipid Res.*, **2004**, 45, 1232
- ³² N.E. Isaac, A.M. Walker, H. Jick, M. Gorman, *Arch. Ophthalmol.*, **1991**, 109, 256
- ³³ G. Balliano, F. Viola, M. Ceruti, L. Cattel, *Biochim. Biophys. Acta*, **1988**, 959, 9
- ³⁴ S. Joilidon, A.M. Polak, P.Guerry, P.G. Hartman, *Biochem. Soc. Trans.*, **1990**, 1, 7
- ³⁵ K.E. Bloch, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, **1983**, 14, 47
- ³⁶ A.A. Kandutsch, A.E. Russell, *J. Biol. Chem.*, **1960**, 235, 2256
- ³⁷ J.M. Trzakos, W.D. Bowen, A. Shafiee, R.T. Fischer, J.L. Gaylor, *J. Biol. Chem.*, **1984**, 259, 13402
- ³⁸ P.M. Burton, D.C. Swinney, R. Heller, B. Dunlap, M. Chiou, E. Malonzo, J. Haller, K.A.M. Walker, A. Salari, S. Murakami, G. Mendizabal, L. Tokes, *Biochem. Pharmacol.*, **1995**, 50, 529
- ³⁹ C. Fernandez, M. Martin, D. Gomez-Coronado, M.A. Lasuncion, *J. Lipid Res.*, **2005**, 46, 920
- ⁴⁰ J.H. Kim. T.N. Jhong, Y.K. Paik, J.S. Park, E.D. Kim, Y.S. Lee, S.U. Kim, *US-Patent US 6,239,139 B1*, **2001**
- ⁴¹ W.L. Miller, J.L. Gaylor, *J. Biol. Chem.*, **1970**, 245, 5375
- ⁴² D.L. Barlett, C.L. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 4729
- ⁴³ H. Traupe, C. Has, *Eur. J. Derm.*, **2000**, 6, 425
- ⁴⁴ J.L. Gaylor, C.V. Delwiche, A.C. Swindell, *Steroids*, **1966**, 8, 353
- ⁴⁵ F.F. Moebius, R.J. Reiter, K. Bernmoser, H. Glossmann, S.Y. Cho, Y.K. Paik, *Mol. Pharm.* **1998**, 54, 591
- ⁴⁶ T. Hayashi, T.P. Su, *Expert Opin. Ther. Targets*, **2008**, 12, 45

- ⁴⁷ Y. Berthois, B. Bouriié, S. Galiegue, H. Vidal, P. Carayon, P.M. Martin, P. Casellas, *Br. J. Cancer*, **2003**, 88, 438
- ⁴⁸ S. Silve, P. Leplatois, A. Josse, P.H. Dupuy, C. Lanau, M. Kaghad, C. Dhers, C. Picard, A. Rahier, M. Taton, G. Le Fur, D. Caput, P. Ferrara, G. Loison, *Mol. Cell. Biol.*, **1996**, 16, 2719
- ⁴⁹ S. Nishi, H. Nishino, T. Ishibashi, *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1490, 106
- ⁵⁰ A. Rahier, *Biochem.*, **2001**, 40, 256
- ⁵¹ S. Kawata, J.M. Trzaskos, J.L. Gaylor, *J. Biol. Chem.*, **1985**, 260, 6609
- ⁵² M. Giera, D. Renard, F. Plössl, F. Bracher, *Steroids*, **2008**, 73, 299
- ⁵³ D.C. Wilton, K.A. Munday, S.J.M. Skinner, M. Akhtar, *Biochem. J.*, **1968**, 106, 803
- ⁵⁴ C. Fernandez, Y. Suarez, A.J. Ferruelo, D. Gomez-Coronado, M.A. Lasuncion, *Biochem. J.*, **2002**, 366, 109
- ⁵⁵ S.H. Bae, Y.K. Paik, *Biochem. J.*, **1997**, 326, 609
- ⁵⁶ M. Taton, P. Ullmann, P. Benveniste, A. Rahier, *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1988**, 30, 178
- ⁵⁷ M. Haria, H.M. Bryson, *Drugs*, **1995**, 49, 103
- ⁵⁸ F. Bracher, *Pharm. Uns. Zeit*, **2003**, 32, 118
- ⁵⁹ L. Avruch, S. Fischer, H.D. Pierce, A.C. Oehlschlager, *Can. J. Biochem.*, **1976**, 54, 657
- ⁶⁰ D. Renard, *Dissertation*, **2006**, LMU München
- ⁶¹ T. Osumi, T. Nishino, H. Katsuki, *J. Biochem.*, **1979**, 85, 819
- ⁶² R.J. Rodriguez, L.W. Parks, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1983**, 225, 861
- ⁶³ B.A. Arthington, L.G. Bennett, P.C. Skatrad, C.G. Guynn, R.J. Barbuch, C.E. Ulbright, M. Bard, *Gene*, **1991**, 102, 39
- ⁶⁴ E. Ebert, J. Gaudin, W. Muecke, K. Ramsteiner, C. Vogel, H.Z. Fuhrer, *Z. Naturforsch., Sect. C. Biosci.*, **1983**, 38C, 28
- ⁶⁵ S. Hata, T. Nishina, M. Komori, H. Katsuki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1981**, 103, 272
- ⁶⁶ S.L. Kelly, D.C. Lamb, B.C. Baldwin, A.J. Corran, D.E. Kelly, *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 9986
- ⁶⁷ A.M. Pierce, A.M. Unrau, A.C. Oehlschlager, R.A. Woods, *Can. J. Biochem.*, **1979**, 57, 207
- ⁶⁸ G. Visbal, A. Alvarez, B. Moreno, G. San-Blas, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47, 2966

- ⁶⁹ N. Salman, *Dissertation*, 2006, LMU München
- ⁷⁰ S. Lange, *Dissertation*, 2006, LMU München
- ⁷¹ J. Daab, *Dissertation*, 2001, TU Braunschweig
- ⁷² J.C. Burbiel, *Dissertation*, 2001, LMU München
- ⁷³ K. Dimroth, *Chem. uns. Zeit*, **1976**, 6, 175
- ⁷⁴ A. Windaus, W. Grundmann, *Liebigs Ann. Chem.* **1936**, 524, 295
- ⁷⁵ P.E. Peterson, R.L. Breedlove Leffew, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 1948
- ⁷⁶ R. Criegee, *Angew. Chem.*, **1975**, 87, 765
- ⁷⁷ W. G. Dauben, L. Greenfield, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1597
- ⁷⁸ I. Jirkovsky, G. Santroch, R. Baudy, G. Oshiro, *J. Med. Chem.*, **1987**, 30, 388
- ⁷⁹ F.C.E. Sarabèr, S. Dratch, G. Bosselaar, B.J.M. Jansen, A. de Groot, *Tetrahedron*, **2006**, 62, 1717
- ⁸⁰ T. Okatani, J.Koyama, K. Tagahara, Y. Suzuta, *Heterocycles*, **1987**, 26, 595
- ⁸¹ H. Neunhoeffer, M. Clausen, H.D. Vötter, H. Ohl, C. Krüger, K. Angermund, *Liebigs Ann. Chem.*, **1985**, 1732
- ⁸² B. Breitmaier, E. Bayer, *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 38, 3291
- ⁸³ M. Matveeva, R. Tongusova, H.E. Bundel, P.M. Sagitullin, *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, **1986**, 12, 1649
- ⁸⁴ T.H. Tong, H.N.C. Wong, *Synth. Commun.*, **1992**, 22, 1773
- ⁸⁵ G.R. Newkome, D.L. Fishel, *J. Org. Chem*, **1966**, 31, 677
- ⁸⁶ L. Chelucci, P.S. Gladiali, *J. Heterocyclic Chem.*, **1988**, 25, 1761
- ⁸⁷ J. Koyama, T. Sugita, Y. Suzuta, H. Irie, *Chem. Pharm. Bull.*, **1983**, 31, 2601
- ⁸⁸ J. Koyama, T. Okatani, K. Tagahara, J. Suzuta, *Heterocycles*, **1987**, 26, 925
- ⁸⁹ T. Sugita, J. Koyama, K. Tagahara, Y. Suzuta, *Heterocycles*, **1985**, 23, 2789
- ⁹⁰ W. Franke, R. Kraft, *Angew. Chem.*, **1955**, 14, 395
- ⁹¹ L. Claisen, N. Stylos, *Ber. dtsch. chem. Ges.*, **1888**, 21, 1144
- ⁹² E. Breitmaier, S. Gassenmann, *Chem. Ber.*, **1971**, 104, 665
- ⁹³ E. Grochowski, J. Juraczak, *Synthesis*, **1976**, 682
- ⁹⁴ B.A. Trofimov, A.I Mikhaleva, O.V. Petrova, *Zh. Org. Khim.*, **1991**, 27, 1941
- ⁹⁵ M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, **2002**, 6. Auflage, 108
- ⁹⁶ M. Gans, *Dissertation*, 2003, LMU München
- ⁹⁷ G. Bauer, *Dissertation*, 1982 LMU München
- ⁹⁸ M. Hönel, F.W. Vierhapper, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1982**, 2607

- ⁹⁹ F. Fache, *Synlett*, **2004**, 2827
- ¹⁰⁰ R.E. Lyle, P.S. Anderson, C. Spicer, S.S. Pelosi, D.A. Nelson, *Angew. Chem.*, **1963**, 75, 386
- ¹⁰¹ B.K. Banik, M. Chapa, J. Marquez, M. Cordana, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 2341
- ¹⁰² G.G. Tsantali, J. Dimtsas, C.A. Tsoleridis, I.M. Takakis, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 258
- ¹⁰³ K. Ishihara, Y. Karumi, M. Kubota, H. Yamamoto, *Synlett*, **1996**, 839
- ¹⁰⁴ T. Takenouchi, R. Sogawa, K. Manabe, H. Saitoh, Q. Gao, D. Miura, S. Ishizuka, *J. Steroids Biochem. Mol. Biol.*, **2004**, 89-90, 31
- ¹⁰⁵ H. Alper, L. Dinkes, *Synthesis*, **1972**, 81
- ¹⁰⁶ S. Fukuyama, T. Tsuchimoto, T. Hokawa, T. Hiyama, *Synlett*, **1995**, 1077
- ¹⁰⁷ J. Heeres, L.J.J. Backx, J.H. Mostmans, J. Van Cutsen, *J. Med. Chem.*, **1979**, 22, 1003
- ¹⁰⁸ H. Nakatsuji, M. Morimoto, T. Misaki, Y. Tanabe, *Tetrahedron*, **2007**, 63, 12071
- ¹⁰⁹ D.B. Dess, J.C. Martin, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 4156
- ¹¹⁰ H. Inhoffen, G. Quinckert, S. Schütz, D. Kampe, *Chem. Ber.* **1957**, 90, 664
- ¹¹¹ K.S. Kim, S.D. Hong, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 5909
- ¹¹² L. Davis, *Bioorg. Chem.*, **1973**, 2, 197
- ¹¹³ F. Vogt, Masterarbeit, **2006**, TU München
- ¹¹⁴ M. König, Masterarbeit, **2007**, Roche Basel
- ¹¹⁵ S.A. Chakraborti, P. Bhagat, R.T. Rudrawar, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 7641
- ¹¹⁶ T. Wharton, L.J. Wilson, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 3545
- ¹¹⁷ R. Gopinath, S.J. Haque, B. K. Patel, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 5842
- ¹¹⁸ S. Malinowski, T. Urbanski, *Roczniki Chemii*, **1951**, 183
- ¹¹⁹ J.M. Quirk, S.G. Harsy, C.L. Hakansson, *US Patent US 4978793*, **1989**
- ¹²⁰ M. Keller, *Dissertation*, **2010**, LMU München
- ¹²¹ M. Lissel, *Liebigs Ann. Chem.*, **1987**, 77
- ¹²² H.G.O. Becker, W. Berger, G. Domschke, *Organikum*, **1990**, 18. Auflage, 535
- ¹²³ D.C. Gowda, B. Mahesh, *Synth. Commun.*, **2000**, 30, 3639
- ¹²⁴ G. Braunegg, A. de Raadt, S. Feitenhofer, H. Griengl, I. Kopper, A. Lehman, H.J. Weber, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 2763
- ¹²⁵ J. Zhang, S. Zhang, *Synth. Commun.*, **2007**, 37, 2615
- ¹²⁶ H.G.O. Becker, W. Berger, G. Domschke, *Organikum*, **1990**, 18. Auflage, 192

- ¹²⁷ A. Miyake, K. Itoh, N. Tada, M. Tanabe, M. Hirata, Y. Oka, *Chem. Pharm. Bull.*, **1983**, 31, 2329
- ¹²⁸ H. Stetter, R. Lauterbach, *Liebigs Ann. Chem.*, **1962**, 655, 20
- ¹²⁹ L. Piras, C. Ghiron, G. Minetto, M. Taddei, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 459
- ¹³⁰ J. Müller, *Dissertation*, **2003**, LMU München
- ¹³¹ T. Mosmann, *J. Immunol. Methods*, **1983**, 65, 55
- ¹³² L.A: Wilson, H. Yamamoto, G. Singh, *Mol. Cancer Ther.*, **2004**, 3, 823
- ¹³³ M. Giera, *Dissertation*, **2006**, LMU München
- ¹³⁴ W. Lee, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1996**, 339, 95
- ¹³⁵ B. Lindenthal, T.A. Aldaghas, A. Holleran, T. Sudhop, H.K. Berthold, K. von Bergmann, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **2002**, 282, 1222
- ¹³⁶ R.J. Cenedella, P.S. Sexton, K. Krishnan, D.F. Covey, *Lipids*, **2005**, 40, 635
- ¹³⁷ G. P. Moss, *Pure Appl. Chem.* **1999**, 71, 531

Curriculum Vitae

Melanie Krojer geb. Hass (Chemikerin, M.Sc.)

Persönliche Daten

Geburtsdatum	21.08.1980
Geburtsort	Dortmund

Ausbildung

11/2006 bis 07/2011	Promotion an der Ludwig-Maximilians-Universität München
10/2004 bis 09/2006	Masterstudium der Chemie an der Ruhr-Universität Bochum Schwerpunkt: Organische Chemie Nebenfach: Analytische Chemie
10/2001 bis 10/2004	Bachelorstudium der Chemie an der Ruhr-Universität Bochum
06/2001	Abitur am Phoenix-Gymnasium Dortmund

München, den 14.06.2011 _____

Melanie Krojer geb. Hass