

***N*-Substituierte Piperidine und Analoga
als Bausteine neuer
Histamin-H₃-Rezeptorantagonisten**

**Synthese, Analytik, Pharmakologie und Struktur-
Wirkungsbeziehungen**

INAUGURALDISSERTATION

vorgelegt am

Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

Tibor Mikó

geb. in Bayreuth

Berlin 2003

Dekan: Univ.-Prof. Dr. K. Seppelt
1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. W. Schunack
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. G. Wurm

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Juni 2003

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. W. Schunack angefertigt.

Herrn Prof. W. Schunack danke ich sehr herzlich für die Überlassung des interessanten Themas, die wissenschaftlichen Anregungen, Ratschläge und Diskussionen sowie die intensive Förderung.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. J.-C. Schwartz, Herrn Dr. J.-M. Arrang, Herrn X. Ligneau, Frau A. Rouleau und weiteren Mitarbeitern der Unité de Neurobiologie et Pharmacologie Moléculaire de l'INSERM in Paris danke ich für die Bestimmung der Histamin-H₃-Rezeptor-Aktivitäten, die gute Zusammenarbeit und die interessanten wissenschaftlichen Diskussionen während verschiedener Treffen in Paris.

Prof. Dr. S. Elz, Priv.-Doz. Dr. H. H. Pertz sowie Frau I. Walter danke ich für die Bestimmung pharmakologischer *In-vitro*-Aktivitäten und den Mitarbeitern der analytischen Abteilung des Instituts für Pharmazie der FU Berlin für ihre gute Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Stark für zahlreiche wissenschaftliche Anregungen, die fruchtbaren Diskussionen und die freundliche Unterstützung, die selbst aus dem fernen Frankfurt am Main nicht nachließ.

Allen Kolleginnen und Kollegen des Arbeitskreises danke ich für die gute Zusammenarbeit und den fruchtbaren Diskussionen. Frau G. Meier danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Steffen Rummel und speziell Frau Sonja Menghin, die mich mit unendlich scheinender Geduld durch die zurückliegende Zeit begleitet haben.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Allgemeines.....	2
1.2	Histamin	2
1.3	Chemische Struktur	4
1.4	Biosynthese, Speicherung und Metabolisierung von Histamin	4
1.5	Histaminerge Signalübertragung.....	6
1.6	Histaminwirkungen	8
1.7	Der Histamin-H ₃ -Rezeptor	9
1.7.1	Vorkommen	10
1.7.2	Klonierung und Genorganisation	11
1.7.3	Struktur des H ₃ -Rezeptors	11
1.7.4	Isoformen.....	12
1.7.5	Liganden des Histamin-H ₃ -Rezeptors	12
1.8	Pharmakologische Bedeutung des Histamin-H ₃ -Rezeptors	19
1.9	Therapeutische Einsatzgebiete für Histamin-H ₃ -Rezeptorliganden.....	20
1.9.1	Hyperkinetisches Syndrom (ADHD).....	20
1.9.2	Dementielle Erkrankungen	21
1.9.3	Epilepsie	21
1.9.4	Schizophrenie	22
1.9.5	Depression	22
1.9.6	Adipositas	23
1.9.7	Schlaf-/Wachrhythmus, Narkolepsie.....	23
1.9.8	Myokardischämie	24
1.9.9	Migräne.....	24
1.9.10	Asthma bronchiale.....	25
1.9.11	Ulku ­ stherapie.....	25
1.10	Zielsetzung der Arbeit.....	26
2	Chemischer Teil.....	27

2.1	Allgemeiner Teil.....	28
2.2	Darstellung methylsubstituierter Pyrrolidine.....	30
2.2.1	Synthese von (<i>R/S</i>)-2-Methylpyrrolidin (1).....	30
2.2.2	Synthese von 3,3-Dimethylpyrrolidin (2).....	30
2.2.3	Synthese von (<i>R/S</i>)-3-Methylpyrrolidin (3).....	32
2.3	Acetoproxifan-Analoga (5 - 17).....	33
2.4	Oxime (18 - 19).....	35
2.5	Ciproxifan-Analoga (22 - 25).....	36
2.6	<i>N</i> -Benzylpyrrolidine (28 - 29).....	37
2.7	<i>N</i> -Benzylpiperidine (32 - 63).....	39
2.7.1	Darstellung verschiedener Phenol-Vorstufen.....	39
2.7.1.1	Synthese der Phenole 60a und 61a	39
2.7.1.2	Synthese des Dihydrostilbens 53a	40
2.7.1.3	Synthese des Aminophenols 62a	41
2.7.1.4	Synthese von Cyclopentyl-(4-hydroxyphenyl)methanon (63a).....	41
2.7.2	Phenoether-Synthese nach <i>Mitsunobu</i> (32 - 63).....	42
2.8	<i>meta</i> -Substituierte <i>N</i> -Benzylpiperidine (64 - 65).....	45
2.9	<i>ortho</i> -Substituierte <i>N</i> -Benzylpiperidine (66 - 67).....	46
2.10	Austausch der Ether-Funktion durch andere funktionelle Gruppen.....	48
2.10.1	Inverse Ether (68 - 69).....	48
2.10.2	Thioether (70 - 71).....	49
2.10.3	Amine (72 - 73).....	49
2.10.4	Ester (74 - 75).....	51
2.10.5	Carbamate (76 - 77).....	51
2.10.6	Dibenzylether (78 - 81).....	52
2.10.7	Stilbenderivat 82	53
2.11	3-(1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)propyl-arylether (83 - 85).....	54
2.12	3-(Piperidin-1-yl)propyl-arylether (86 - 88).....	55
2.13	1,2,3,4-Tetrahydroacridinderivat 89	55

3	Pharmakologischer Teil	57
3.1	Allgemeine Angaben.....	58
3.2	<i>N</i> -Benzylpiperidine	61
3.2.1	Halogensubstituierte Ether	61
3.2.2	Alkyl- bzw. alkylarylsubstituierte Ether.....	63
3.2.3	Alkoxy- und arylalkoxysubstituierte Ether	65
3.2.4	Carbonyl- bzw. oximsubstituierte Ether.....	66
3.2.5	Aminsubstituierte Ether.....	68
3.3	Ciproxifan-Analoga.....	70
3.4	Acetoproxifan-Analoga.....	71
3.5	Variation der Acetophenon-Partialstruktur	74
3.6	Selektivitätsdaten ausgewählter Verbindungen	75
3.7	<i>ortho</i> - und <i>meta</i> -Substituierte <i>N</i> -Benzylpiperidine	77
3.8	Austausch der Ether-Funktion durch andere funktionelle Gruppen.....	79
3.9	3-(1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)- und 3-(Piperidin-1-yl)propyl-arylether.....	83
3.10	1,2,3,4-Tetrahydroacridinderivat	85
3.11	Berechnungen zur Lipophilie.....	87
4	Zusammenfassung	89
5	Experimenteller Teil	93
5.1	Chemie	94
5.1.1	Allgemeine Angaben	94
5.1.2	Darstellung methylsubstituierter Pyrrolidine.....	97
5.1.2.1	Synthese von (<i>R/S</i>)-2-Methylpyrrolidin (1).....	97
5.1.2.2	Synthese von 3,3-Dimethylpyrrolidin (2).....	97
5.1.2.3	Synthese von (<i>R/S</i>)-3-Methylpyrrolidin (3).....	99
5.1.3	Acetophenonderivate (5 - 17).....	100
5.1.4	Oxime (18 - 19)	105
5.1.5	Ciproxifan-Analoga (22 - 25).....	106

5.1.6	<i>N</i> -Benzylpyrrolidine (28 - 29).....	109
5.1.7	<i>N</i> -Benzylpiperidine (32 - 63).....	110
5.1.8	<i>meta</i> -Substituierte <i>N</i> -Benzylpiperidine (64 - 65).....	124
5.1.9	<i>ortho</i> -Substituierte <i>N</i> -Benzylpiperidine (66 - 67).....	125
5.1.10	Austausch der Etherfunktion durch andere funktionelle Gruppen.....	127
5.1.10.1	Inverse Ether (68 - 69).....	127
5.1.10.2	Thioether (70 - 71).....	128
5.1.10.3	Amine (72 - 73).....	129
5.1.10.4	Ester (74 - 75).....	131
5.1.10.5	Carbamate (76 - 77).....	132
5.1.11	Dibenzylether (78 - 81).....	133
5.1.11.1	Stilbenderivat (82).....	135
5.1.12	3-(1 <i>H</i> -Imidazol-4-yl)propyl-arylether (83 - 85).....	136
5.1.13	3-(Piperidin-1-yl)propyl-arylether (86 - 88).....	137
5.1.14	1,2,3,4-Tetrahydroacridinderivat (89).....	138
5.2	Pharmakologie.....	140
5.2.1	Bestimmung der Histamin-H ₁ -Rezeptoraktivität.....	140
5.2.2	Bestimmung der Histamin-H ₂ -Rezeptoraktivität.....	140
5.2.3	Bestimmung der Histamin-H ₃ -Rezeptoraktivität.....	141
5.2.3.1	Messung der <i>In-vitro</i> -Aktivität am humanen Histamin-H ₃ -Rezeptor durch Verdrängung von [¹²⁵ I]-Iodoproxyfan bzw. [³ H]- <i>N</i> ^α -Methylhistamin.....	141
5.2.3.2	Messung der <i>In-vitro</i> -Aktivität an Synaptosomen des zerebralen Rattenkortex	142
5.2.3.3	Messung der <i>In-vitro</i> -Aktivität am isolierten Meerschweinchen-Ileum.....	142
5.2.3.4	Bestimmung der <i>In-vivo</i> -Aktivität an Mäusen durch Messung der <i>N</i> ^ε - Methylhistaminbildung.....	143
5.2.4	Bestimmung der Muskarin-M ₃ -Rezeptoraktivität.....	143
5.2.5	Bestimmung der Inhibierung der Histamin-N ^ε -Methyltransferase.....	144
5.2.6	log <i>P</i> -Werte.....	145
6	Literaturverzeichnis.....	147
7	Anhang.....	165

7 Anhang

Publikationsverzeichnis

Originalarbeiten

Mikó, T.; Ligneau, X.; Pertz, H.H.; Ganellin, C.R.; Arrang, J.-M.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W.; Stark, H. Novel Nonimidazole Histamine H₃-Receptor Antagonists: 1-(4-(Phenoxymethyl)benzyl)piperidines and Related Compounds.

J. Med. Chem. (im Druck).

Mikó, T.; Ligneau, X.; Pertz, H.H.; Ganellin, C.R.; Arrang, J.-M.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W.; Stark, H. Structural Variations of 1-(4-(Phenoxymethyl)benzyl)piperidines as Nonimidazole Histamine H₃-Receptor Antagonists.

Bioorg. Med. Chem. (in Vorbereitung).

Poster und Vorträge

Mikó, T.; Ligneau, X.; Pertz, H.H.; Ganellin, C.R.; Arrang, J.-M.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W.; Stark, H. *Para*-Substituted *N*-Benzylpiperidines as Orally Potent Histamine H₃-Receptor Antagonists. DPhG Jahrestagung 2002, Berlin, 10. - 12. Oktober 2002 (Poster).

Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem. **2002**, 335 (Suppl. 1), 90 (P:C73).

Stark, H.; Meier, G.; Mikó, T.; Apelt, J.; Ligneau, X.; Arrang, J.-M.; Ganellin, C.R.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W. Novel Approaches for Non-Imidazole Histamine H₃-Receptor Antagonists. 17th International Symposium on Medicinal Chemistry, Barcelona, Spanien, 1. - 5. September 2002 (Poster).

Drugs Fut. **2002**, 27 (Suppl. A), 463.

Mikó, T.; Stark, H.; Ligneau, X.; Ganellin, C.R.; Arrang, J.-M.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W. Derivatives of 1-(4-Methylbenzyl)piperidine: A New Class of Non-Imidazole Histamine H₃-Receptor Antagonists. 4th European Graduate Student Meeting 2002 DPhG/EUFEPS, Frankfurt/Main, 8. - 10. Februar 2002 (Poster und Vortrag).

Mikó, T. Structure-Activity Relationships of H₃-Ligands. BIOMED-Preparation-Meeting, Paris, Frankreich, 30. November - 2. Dezember 2001 (Vortrag).

Mikó, T.; Stark, H.; Ligneau, X.; Ganellin, C.R.; Arrang, J.-M.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W. Development of a New Class of Lipophilic Histamine H₃-Receptor Antagonists. DPhG Jahrestagung 2001, Halle/Saale, 11. - 13. Oktober 2001 (Poster).

Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem. **2001**, 334 (Suppl. 2), 42 (C41).

Mikó, T.; Stark, H.; Ligneau, X.; Ganellin, C.R.; Arrang, J.-M.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W. Neue Histamin-H₃-Rezeptorantagonisten mit α,α' -*p*-Xylendiyl-Kette. „Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor“ DPhG Landesgruppe Berlin-Brandenburg, Berlin, 10. Juli 2001 (Vortrag).

Mikó, T. New Non-Imidazole Histamine H₃-Receptor Antagonists with *p*-Xylyl Spacer. Krakau, Polen, 29. November - 1. Dezember 2000 (Vortrag).

Mikó, T.; Stark, H.; Ligneau, X.; Ganellin, C.R.; Schwartz, J.-C.; Schunack, W. New Non-Imidazole Histamine H₃-Receptor Antagonists Containing a *Para*-Xylylene Moiety. 30th Annual Meeting of the European Histamine Research Society, Turku, Finnland, 9. - 12. Mai 2000 (Poster).

Mikó, T. Non-Imidazole Analogues of PCT WO 95/14007. BIOMED-Preparation-Meeting, Paris, Frankreich, 6. - 8. November 1999 (Vortrag).

***N*-Substituierte Piperidine und Analoga als Bausteine neuer Histamin-H₃-Rezeptorantagonisten**

Histamin-H₃-Rezeptoren sind bekannt als inhibierende präsynaptische Autorezeptoren und als Heterorezeptoren, die die Ausschüttung oder Synthese anderer wichtiger Neurotransmitter modulieren. Aufgrund dieser Funktionen und einer relativ hohen Rezeptordichte im ZNS könnten antagonistisch wirkende Verbindungen bei der Behandlung von Erkrankungen des Zentralnervensystems (z.B. ADHD, Epilepsie, M. Alzheimer oder Schizophrenie) Verwendung finden.

Ausgangspunkt für die Entwicklung der hier beschriebenen neuen Substanzklasse war u.a. ein Patent von Schering-Plough (USA) über Histamin-H₃-Rezeptorantagonisten, in denen ein Imidazolring über eine *p*-Xylen- α,α' -diyl-Kette ([4-Methylphenyl]methyl-Kette) mit verschiedenen funktionellen Gruppen verbunden ist. *Ganellin* et al. zeigten kürzlich, daß es bei verschiedenen Substanzklassen möglich ist, den Imidazolring durch andere stickstoffhaltige aliphatische Heterozyklen zu ersetzen, um somit gleichzeitig mögliche Interaktionen mit dem Cytochrom-P450-Enzymsystem zu verringern. Die *p*-Xylen- α,α' -diyl-Kette erhöht im Vergleich zu einer Propylkette beim Standardantagonisten FUB 372 aufgrund der größeren Lipophilie die Wahrscheinlichkeit die Blut/Hirn-Schranke zu überwinden.

Die hier vorgestellten neuen Verbindungen kombinieren einen in 1-Position substituierten aliphatischen stickstoffhaltigen Heterozyklus mit einer *p*-Xylen- α,α' -diyl-Kette und einer *p*-substituierten Phenoxygruppe zu einer neuen Substanzklasse mit Affinitäten im nanomolaren Konzentrationsbereich an klonierten humanen H₃-Rezeptoren *In-vitro*- und zugleich hoher *In-vivo*-Aktivität in der Maus. Die Verbindung mit einem 2-Methylpyrrolidinring und einer *p*-Acetylgruppe **8** zeigt in dieser Serie vorteilhafte Eigenschaften mit einem K_i von 1.2 nM (*h*H₃), einer ED₅₀ von 0.78 mg/kg p.o. (Maus) und einem pA_2 von 8.18. Aber auch ein Imidazolring (**59**) und ein weiterer Piperidinring (**60**) erwiesen sich als besonders vorteilhaft für sehr hohe *In-vitro*-Aktivität. Trotz ihrer Basizität waren beide darüberhinaus auch gut *in-vivo* wirksam. Weitergehende Untersuchungen zeigten, daß beim Wechsel der *p*-Xylen- α,α' -diyl-Kette über *meta*- zu *ortho*- die Aktivität bei allen Spezies abnimmt bzw. bei *ortho*-Position völlig verloren geht. Die Ether-Funktion erwies sich als durch andere funktionelle Gruppen ersetzbar. Besonders der inverse Ether **68**, der Thioether **70** und der Ester **74** zeigten hohe humane *In-vitro*-Aktivität. Beim Meerschweinchen hingegen konnten keine gravierenden Wirkunterschiede festgestellt werden. Gleichzeitig wurde hier im Gegensatz zu den Phenolethern ein deutlicher Unterschied zwischen Methyl- und Chlorsubstitution sichtbar. *In-vivo* war nur **68** der Leitstruktur gleichwertig.

Im Anschluß an vorangegangene Arbeiten wurden auch einige *para*-substituierte 3-(1*H*-Imidazol-4-yl)propylphenolether und 3-(Piperidin-1-yl)propylphenolether synthetisiert, die alle sehr gut *in-vivo* wirksam sind und sehr hohe Aktivität am *h*H₃-Rezeptor zeigen.

Die nunmehr vorhandene Möglichkeit, gezielt Liganden für den humanen H₃-Rezeptor zu entwickeln, eröffnet neue Perspektiven zur molekularpharmakologischen Charakterisierung des Rezeptorproteins, der Bestimmung von Speziesunterschieden und der Identifizierung von Rezeptorsubtypen. Die hier vorgestellten und bereits am humanen Rezeptor getesteten Antagonisten können einen Beitrag dazu leisten und auch als Leitsubstanzen für weitere Entwicklungen dienen.

Lebenslauf

Name: Tibor Mikó
Geboren: 3. Oktober 1971 in Bayreuth
Familienstand: ledig

Schul- und Berufsausbildung

Dezember 1998 Beginn der vorliegenden Dissertation am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin unter Anleitung von Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. W. Schunack
November 1998 Approbation als Apotheker
Nov. 1997 - Okt. 1998 Pharmaziepraktikum in der Schmargendorfer Apotheke, Berlin
Oktober 1997 2. Staatsexamen
Mai 1993 – Okt. 1997 Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin
1991 - 1992 Grundwehrdienst, Bayreuth
Mai 1989 Allgemeine Hochschulreife
1981 - 1991 Gymnasium Christian Ernestinum, Bayreuth
1977 - 1981 St. Georgen Grundschule, Bayreuth

Berufsausübung und wissenschaftlicher Werdegang

1999 - 2002 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin
1998 - 2003 Lehraufträge am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin
1998 - 2002 Teilzeittätigkeit in der Schmargendorfer Apotheke, Berlin