

**Analoge des Histaprodifens als potente und  
selektive Agonisten des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors**  
**Synthese, pharmakologische Charakterisierung und  
Struktur-Wirkungsbeziehungen**

Inaugural-Dissertation

vorgelegt am

Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie

der Freien Universität Berlin

**Sonja Menghin**

geb. in Nürnberg

Berlin 2004



Dekan:

Prof. Dr. H. Hilger

1. Gutachter:

Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. W. Schunack

2. Gutachter:

Prof. Dr. H. H. Pertz

Tag der mündlichen Prüfung:

19. April 2004



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

Herrn Prof. Dr. S. Elz und Herrn Prof. Dr. H. H. Pertz möchte ich herzlich für die Durchführung der pharmakologischen Experimente sowie ihr Engagement, die fruchtbaren wissenschaftlichen Diskussionen und konstruktiven Anregungen und ihre ständige Hilfsbereitschaft in jeder Phase meiner Arbeit danken.

Frau I. Walter danke ich für die Bestimmung weiterer pharmakologischer Aktivitäten und den Mitarbeitern der analytischen Abteilung des Instituts für Pharmazie der FU Berlin für ihre gute Zusammenarbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Steffen Rummel, Herrn Sven Jähnichen und Herrn Tibor Mikó für ihre ständige Hilfsbereitschaft, die kritische Durchsicht des Manuskripts, die engagierte Hilfe und die produktiven Verbesserungsvorschläge.

Allen Kolleginnen und Kollegen des Arbeitskreises danke ich für die gute Zusammenarbeit und die fruchtbaren Diskussionen.



Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>3</b>
1.1	Histamin .....	3
1.1.1	Allgemeines.....	3
1.1.2	Historischer Überblick .....	3
1.1.3	Chemische Konstitution .....	5
1.1.4	Biosynthese .....	6
1.1.5	Histaminerge Signaltransduktion .....	7
1.1.6	Metabolisierung.....	11
1.1.7	Histamin-Wirkungen.....	13
1.2	Der Histamin-H <sub>1</sub> -Rezeptor .....	14
1.2.1	Entwicklung der Histamin-H <sub>1</sub> -Rezeptor-Agonisten.....	14
1.2.2	Strukturaufklärung und Klonierung .....	20
1.2.2.1	Histamin-Bindung .....	22
1.2.2.2	Bindungsmodell für Histaprodifene .....	22
1.2.3	Zentrale Effekte histaminerger H <sub>1</sub> -Rezeptoren .....	24
1.2.3.1	Schlaf-Wachzustand.....	25
1.2.3.2	Schmerzempfindung.....	25
1.2.3.3	Beeinflussung des Verhaltens .....	26
1.2.3.3.1	Nahrungs- und Wasseraufnahme .....	26
1.2.3.3.2	Lernen und Erinnerung.....	27
1.2.3.4	Depressive Zustände .....	27
1.2.3.5	Neuroendokrines System.....	28
1.2.3.5.1	Regulation der Homöostase .....	28
1.2.3.5.2	Antiinflammatorische Effekte .....	29
1.2.3.5.3	Antikonvulsive Effekte .....	29
1.2.3.5.4	Funktion der Keimdrüsen.....	30
1.2.3.6	Regulierung des kardiovaskulären Systems.....	30
1.2.3.7	Thermoregulation und Regulation der Atemfrequenz .....	31
1.2.3.8	Circadiane Rhythmik.....	31
1.3	Zielsetzung der Arbeit.....	33
<b>2</b>	<b>Chemischer Teil</b> .....	<b>35</b>
2.1	Allgemeiner Überblick.....	37
2.2	Synthese von Histaprodifen .....	39

---

2.2.1	Synthese der Cyclisierungsbausteine .....	39
2.2.1.1	2-Oxo-1,4-butandiol .....	39
2.2.1.2	Darstellung von 4,4-Diphenylbutannitril (5).....	40
2.2.1.3	Darstellung des Imidsäureesters .....	42
2.2.2	Cyclisierung des Imidsäureesters .....	43
2.3	Ausgangsverbindungen für die N <sup>α</sup> -Substitution von Histaprodifen.....	46
2.3.1	Darstellung von Aminen .....	46
2.3.1.1	5-Phenylpentylamin (19) und 6-Phenylhexylamin (20).....	46
2.3.2	Darstellung von Carbonsäuren .....	47
2.3.2.1	Kettenverlängerung um eine CH <sub>2</sub> -Einheit.....	47
2.3.2.2	Kettenverlängerung um zwei CH <sub>2</sub> -Einheiten .....	48
2.3.2.3	Kettenverlängerung um mehrere CH <sub>2</sub> -Einheiten .....	50
2.3.2.4	Carbonsäuren durch Oxidation.....	53
2.3.2.5	Tryl-geschützte Imidazolylcarbonsäuren 29 und 40 .....	54
2.3.2.6	Boc-geschützte Carbonsäuren .....	55
2.3.2.7	4-(N-Piperidinyl)butansäureethylester (43) .....	57
2.4	N <sup>α</sup> -Substituierte Histaprodifene .....	58
2.4.1	Histaprodifene durch Amin-Alkylhalogenid-Kopplung .....	58
2.4.2	Syntheseversuch durch reduktive Aminierung .....	59
2.4.3	Histaprodifene durch Reduktion von Amiden .....	61
2.4.3.1	Darstellung von Amiden .....	61
2.4.3.1.1	Amide aus aktivierten Carbonsäuren .....	61
2.4.3.1.2	Amide aus Carbonsäureestern .....	64
2.4.3.2	Reduktion von Amiden durch komplexe Hydride .....	65
2.4.3.2.1	Darstellung der Thienyl-Derivate 87 - 89 .....	65
2.4.3.2.2	Reduktionen mit Diboran .....	67
2.4.3.2.3	Darstellung der Aminoalkyl-Derivate 107 - 110.....	70
<b>3</b>	<b>Pharmakologischer Teil.....</b>	<b>73</b>
3.1	Allgemeine Angaben.....	75
3.1.1	Testmodelle .....	75
3.1.2	Statistische Absicherung .....	76
3.1.3	Liste der verwendeten Abkürzungen und Symbole .....	77
3.2	Bestimmungen im funktionellen Meerschweinchen-Ileum-Assay .....	78
3.2.1	Aktivität und Mepyramin-Sensitivität.....	78
3.2.1.1	N <sup>α</sup> -Phenylalkyl-Histaprodifene .....	79



---

3.2.1.2	N <sup>α</sup> -Thienylalkyl-Histaprodifene.....	81
3.2.1.3	N <sup>α</sup> -Pyridylalkyl-Histaprodifene .....	83
3.2.1.4	N <sup>α</sup> -Imidazolylalkyl-Histaprodifene.....	87
3.2.1.5	N <sup>α</sup> -Aminoalkyl-Histaprodifene .....	91
3.2.1.6	Modifikationen des Spacers .....	92
3.2.1.7	Substituierte 4-Phenylbutyl-Histaprodifene.....	94
3.2.2	Rezeptoraffinität.....	96
3.3	Bestimmungen in weiteren funktionellen Testmodellen.....	99
3.3.1	Aktivität an der isolierten Meerschweinchen-Aorta .....	99
3.3.2	Aktivität an der Ratten-Aorta mit intaktem Endothel .....	101
3.4	Rezeptorselektivitäten .....	104
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>109</b>
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>115</b>
5.1	Chemisch-experimenteller Teil .....	117
5.1.1	Allgemeine Angaben.....	117
5.1.1.1	Liste der verwendeten Abkürzungen.....	118
5.1.2	Synthese von Histaprodifen .....	119
5.1.2.1	Synthese des C-4 Bausteins für die Histamin-Seitenkette .....	119
5.1.2.2	Darstellung der $\omega,\omega$ -Diphenylalkyl-Vorstufen.....	119
5.1.3	Synthese der Histaprodifen-Seitenketten .....	123
5.1.3.1	Chloralkyl-Vorstufen .....	123
5.1.3.2	Bromalkyl-Vorstufen .....	125
5.1.3.3	Amin-Vorstufen .....	126
5.1.3.4	Carbonsäure-Vorstufen .....	127
5.1.3.4.1	Carbonsäuren durch <i>Kolbe</i> -Nitrilsynthese .....	127
5.1.3.4.1.1	Synthese der Nitrile.....	127
5.1.3.4.1.2	Hydrolyse der Nitrile.....	129
5.1.3.4.2	Carbonsäuren durch Malonester-Synthese.....	132
5.1.3.4.3	Carbonsäuren durch <i>Wittig</i> -Synthese .....	134
5.1.3.4.3.1	Olefinische Ester .....	134
5.1.3.4.3.2	Katalytische Hydrierung .....	135
5.1.3.4.3.3	Esterhydrolyse.....	136
5.1.3.4.4	Carbonsäuren durch Oxidation.....	136
5.1.3.4.5	Tritylierte Carbonsäuren durch katalytische Hydrierung.....	137
5.1.3.4.6	Boc-geschützte Carbonsäuren .....	138

---

5.1.3.4.7	Carbonsäuren durch Amin-Alkylhalogenid-Kopplung.....	139
5.1.4	N <sup>α</sup> -substituierte Histaprodifene.....	139
5.1.4.1	Histaprodifene durch Amin-Alkylhalogenid-Kopplung .....	139
5.1.4.2	Histaprodifene durch Reduktion von Amiden .....	142
5.1.4.2.1	Darstellung der Amide .....	142
5.1.4.2.1.1	Amide aus aktivierten Carbonsäuren .....	142
5.1.4.2.1.2	Amide aus Säurechloriden .....	152
5.1.4.2.1.3	Amide aus Estern .....	153
5.1.4.2.2	Reduktion zu Aminen.....	154
5.2	Pharmakologisch-experimenteller Teil .....	169
5.2.1	Bestimmung der H <sub>1</sub> -Rezeptor-Aktivität am Meerschweinchen-Ileum .....	169
5.2.2	Bestimmung des pK <sub>P</sub> -Wertes am Meerschweinchen-Ileum.....	172
5.2.3	Bestimmung der H <sub>1</sub> -Rezeptoraktivität an der isolierten Meerschweinchen- Aorta.....	173
5.2.4	Bestimmung der H <sub>1</sub> -Rezeptoraktivität an der Ratten-Aorta mit intaktem Endothel .....	174
5.2.5	Bestimmung der H <sub>2</sub> -Rezeptoraktivität am spontan schlagenden Meerschweinchen-Atrium.....	175
5.2.6	Bestimmung der H <sub>3</sub> -Rezeptoraktivität am elektrisch stimulierten Meerschweinchen-Ileum .....	176
5.2.7	Bestimmung der Muskarin-M <sub>3</sub> -Rezeptoraktivität.....	177
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>179</b>
<b>7</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>191</b>

## **7 Anhang**



## Publikationsverzeichnis

### Originalarbeiten

Menghin, S.; Pertz, H. H.; Kramer, K.; Schunack, W.; Elz, S. *N<sup>α</sup>*-Imidazolylalkyl and Pyridylalkyl Derivatives of Histaprodifen: Synthesis and *in Vitro* Evaluation of Highly Potent Histamine H<sub>1</sub>-Receptor Agonists. *J. Med. Chem.* (in Druck).

### Poster und Vorträge

Menghin, S.; Kramer, K.; Pertz, H. H.; Elz, S.; Schunack, W. Synthesis and Pharmacology of Heteroarylalkyl Analogues of Suprahistaprodifen as Potent H<sub>1</sub>-Receptor Agonists. 31th Annual Meeting of the European Histamine Research Society, Eger, Ungarn, 22. - 26. Mai 2002 (Poster).

Bruysters, M.; Menghin, S.; Schunack, W.; Teunissen, A.; Timmerman, H.; Smit, M.; Leurs, R. Mutational Analysis of the Agonist Binding Site of the Human Histamine H<sub>1</sub> Receptor. 31th Annual Meeting of the European Histamine Research Society, Eger, Ungarn, 22. - 26. Mai 2002 (Vortrag als Coautor).

Menghin, S.; Pertz, H. H.; Elz, S.; Schunack, W. *N<sup>α</sup>*-Substituted Derivatives of Histaprodifen as Ligands for Histamine H<sub>1</sub> Receptors. DPhG Jahrestagung 2002, Berlin, 10. - 12. Oktober 2002 (Poster). *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, 335 (Suppl. 1), 90 (C70).

Menghin, S.; Kramer, K.; Pertz, H. H.; Schunack, W.; Elz, S. Arylalkyl and Heteroarylalkyl Analogues of Suprahistaprodifen are Potent Histamine H<sub>1</sub>-Receptor Agonists *In Vitro*. 43. Frühjahrstagung der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie, Mainz, 12. - 14. März 2002 (Poster). *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm.* **2002**, 365 (Suppl. 1), R29 (P101)

Menghin, S.; Kramer, K.; Pertz, H. H.; Elz, S.; Schunack, W. New Derivatives of Histaprodifen: Synthesis and Pharmacology of Highly Potent Histamine H<sub>1</sub>-Receptor Agonists. 4th European Graduate Student Meeting 2002 DPhG/EUFEPS, Frankfurt/Main, 8. - 10. Februar 2002 (Poster).

Menghin, S.; Pertz, H. H.; Kramer, K.; Elz, S.; Schunack, W. Development of Novel Derivatives of Histaprodifen as Potent Partial Agonists at Histamine H<sub>1</sub> Receptors. DPhG Jahrestagung 2001, Halle/Saale, 11. - 13. Oktober 2001 (Poster). *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2001**, 334 (Suppl. 2), 42 (C41).

Menghin, S.; Kramer, K.; Elz, S.; Pertz, H. H.; Schunack, W. Neue *N<sup>α</sup>*-substituierte Histaprodifen-Derivate als potente H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten. „Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor“ DPhG Landesgruppe Berlin-Brandenburg, Berlin, 10. Juli 2001 (Poster).

Menghin, S.; Schunack, W.; Elz, S.; Kramer, K.; Pertz, H. H. New *N<sup>α</sup>*-Alkylated Derivatives of Histaprodifen as High Affinity Partial Agonists at Histamine H<sub>1</sub>-Receptors of Guinea-Pig Ileum. 30th Annual Meeting of the European Histamine Research Society, Turku, Finnland, 9. - 12. Mai 2000 (Poster).

Kramer, K.; Menghin, S.; Pertz, H. H.; Elz, S.; Schunack, W. Dimeric Histaprodifens and Analogues: Highly Potent Histamine H<sub>1</sub>-Receptor Agonists. 28th Annual Meeting of the European Histamine Research Society, Lyon, Frankreich, 20. - 23. Mai 1999 (Poster als Coautor).

## Analoge des Histaprodifens als potente und selektive Agonisten des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors

Die Entwicklung potenter Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten wurde aufgrund des mangelnden therapeutischen Nutzens lange vernachlässigt. Erst mit Entdeckung der Neurotransmitter-Funktion des Histamin und der damit einsetzenden Erforschung physiologischer und pathophysiologischer H<sub>1</sub>-vermittelter Effekte im zentralen Nervensystem wurde die Suche nach potenten Agonisten des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors deutlich verstärkt.

Basis für die Entwicklung der hier beschriebenen neuen Substanzklasse war Histaprodifen (2-(3,3-Diphenylpropyl)histamin), eine ursprünglich als G-Protein-Stimulator konzipierte Verbindung, die sich als voller Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonist mit hoher Potenz im Meerschweinchen-Ileum (111 % der Histamin-Wirkung) erwies. In der Folge zeigte sich, daß die Aktivität dieser Leitverbindung insbesondere durch Substitution des N<sup>α</sup>-Stickstoffs gesteigert werden konnte. In Analogie zu den schwachen H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten N<sup>α</sup>-(4-Phenylbutyl)histamin und N<sup>α</sup>-Bishistamin entstanden unter anderem die potenten partiellen H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten N<sup>α</sup>-(4-Phenylbutyl)histaprodifen (**2**, 950 % der Histamin-Wirkung) und N<sup>α</sup>-(2-(1*H*-Imidazol-4-yl)-ethyl)histaprodifen (Suprahistaprodifen, **3**), welches mit 3600 % der Histamin-Wirkung im Meerschweinchen-Ileum den bislang potentesten publizierten Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten darstellt. Diese Verbindungen dienten als Leitstrukturen für die Entwicklung der in dieser Arbeit beschriebenen N<sup>α</sup>-substituierten Histaprodifene.

Ausgehend von N<sup>α</sup>-(4-Phenylbutyl)histaprodifen (**2**) konnten durch systematische Modifizierungen wichtige Struktur-Wirkungsbeziehungen ermittelt werden.

Als strukturelles Erfordernis für hohe Aktivität und Affinität erwies sich ein ω-ständiger Aromat oder Heteroaromat, der über einen Alkyl-Spacer mit dem N<sup>α</sup>-Stickstoff des Histaprodifens verknüpft ist. Verbindungen ohne aromatische Struktur (**97** – **112**) zeigten vollständigen Verlust der agonistischen Potenz.

Die Aktivität der Verbindungen variierte mit der Länge des Alkyl-Spacers. Voraussetzung für eine agonistische Aktivität ist ein Abstand von mindestens zwei CH<sub>2</sub>-Einheiten; die Methylen-verbrückten Verbindungen **44** und **92** erwiesen sich als H<sub>1</sub>-Antagonisten. Das Wirkoptimum wurde bei Verwendung eines Butyl-Spacers erreicht.

Die Anwesenheit eines basischen Stickstoff-Atoms in der ω-ständigen funktionellen Gruppe bewirkte einen starken Anstieg der intrinsischen Aktivität auf E<sub>max</sub>-Werte > 90 %.

Bei heteroaromatischer Substitution wurde die Aktivität am Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor zudem vom Abstand des Heteroatoms zur Alkyl-Seitenkette beeinflusst. In der Pyridylalkyl-Serie erwies sich eine Nachbarschaft des Pyridin-Stickstoffs zur Seitenkette als besonders vorteilhaft. Die Aktivität nahm in der Wichtung *ortho*- > *meta*- > *para*-Pyridylalkyl ab. Das 2-Pyridylbutyl-Derivat **94** erwies sich mit 30-facher Histamin-Wirkung und einer intrinsischen Aktivität von 90 % als nahezu äquipotent mit der Leitverbindung Suprahistaprodifen (**3**).

Die hier vorgetellten potenten partiellen Agonisten eröffnen neue Perspektiven zur Untersuchung (patho)physiologischer, H<sub>1</sub>-vermittelter Prozesse im zentralen Nervensystem. Daneben können sie einen wichtigen Beitrag zur molekularpharmakologischen Charakterisierung des Rezeptorproteins sowie zur Bestimmung von Speziesunterschieden leisten. Die neu gewonnenen Struktur-Wirkungsbeziehungen ermöglichen zudem eine gezieltere Entwicklung weiterer potenter und selektiver Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten.

## Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

Name: Sonja Menghin  
Geboren: 28. Juni 1974 in Nürnberg  
Eltern: Wilfried Menghin, Archäologe  
Waltraud Menghin, geb. Liersch, medizinisch-technische Assistentin  
Familienstand: ledig

### **Schul- und Berufsausbildung**

1980 - 1984 Dunant-Grundschule, Nürnberg  
1984 - 1990 Wilstätter-Gymnasium, Nürnberg  
1990 -1993 Ulrich-von-Hutten-Oberschule, Berlin  
Juni 1993 Allgemeine Hochschulreife  
  
Okt. 1993 - Okt. 1997 Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin  
Okt. 1997 2. Staatsexamen  
Nov. 1997 - April 1998 Pharmaziepraktikum bei der Firma Schering, Berlin  
Mai 1998 - Okt. 1998 Pharmaziepraktikum in der Königsberger-Apotheke, Berlin  
Nov. 1998 3. Staatsexamen  
Febr. 1999 Approbation  
Febr. 1999 Beginn der vorliegenden Dissertation am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin unter Anleitung von Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. W. Schunack

### **Berufsausübung und wissenschaftlicher Werdegang**

Nov. 1998 - Okt. 1999 Teilzeittätigkeit in der Königsberger-Apotheke, Berlin  
Dez. 1998 - Juli 2002 Lehraufträge am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin  
Mai 1999 - April 2003 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin  
  
seit Nov. 2000 Teilzeittätigkeiten in der St. Rochus-Apotheke und der Wiesbadener-Apotheke, Berlin  
seit Nov. 2003 Assistentin des Herstellungsleiters bei Dr. Mann Pharma, Berlin

