Synthese von Entacapon-Prodrugs

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
‚Doktor der Naturwissenschaften'
der Universität Hamburg,
Fachbereich Chemie

vorgelegt von

Katharina Wehner
aus Celle

Hamburg 2007

Gutachter: Prof. Dr. D. Geffken

Prof. Dr. B. Meyer

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 20.06.2007

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Mai 2004 bis April 2007 am Institut für Pharmazie der Universität Hamburg unter der Leitung von **Herrn Prof. Dr. Detlef Geffken**, dem ich für die Überlassung des interessanten Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Betreuung der praktischen und theoretischen Arbeit herzlich danke.

Herrn **Prof. Dr. Bernd Meyer** gilt mein besonderer Dank für die Übernahme des Koreferats.

Weiteren Dank richte ich an die **Firma Schwarz BioSciences GmbH**, insbesondere Herrn Dr. Lauterbach, Herrn Dr. Schmidt und Herrn Dr. Paar für die Bereitstellung der Ausgangssubstanz und die Überlassung der umfangreichen Testergebnisse.

Mein besonderer Dank gilt darüber hinaus Herrn **Dr. H. Karimzadeh**, Herrn **T. Wolff**, Frau **M. Pein** und Frau **S. Jaeger** für ihre Hilfe beim Lesen der Korrekturen.

Dr. habil Thomas Kurz möchte ich für die nette Zusammenarbeit im Praktikum und seine Hilfsbereitschaft in chemischen „Notlagen“ danken.

Ferner danke ich den Mitgliedern meines Arbeitskreises und der Arbeitskreise von **Prof. Dr. H.-J. Duchstein**, **Prof. Dr. C. Kunick** (BS), **Prof. Dr. C. Leopold** und **JProf. Dr. D. Dartsch** für die angenehme Zeit und die vielfältige Hilfe, sowie allen Mitarbeitern des Instituts für Pharmazie und des Departments Chemie, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Meiner Familie, Timo und allen Freunden, die mich während des Studiums und der Promotion begleitet haben, danke ich für ihre Geduld, ihre Unterstützung und den jederzeit abrufbaren Zuspruch in den „harten Zeiten“.

Allen Lesern dieser Arbeit danke ich für ihr Interesse.

Der Panther

Im Jardin des Plantes, Paris

Sein Blick ist vom Vorübergehn der Stäbe
so müd geworden, dass er nichts mehr hält.
Ihm ist, als ob es tausend Stäbe gäbe
und hinter tausend Stäben keine Welt.

Der weiche Gang geschmeidig starker Schritte,
der sich im allerkleinsten Kreise dreht,
ist wie ein Tanz von Kraft um eine Mitte,
in der betäubt ein großer Wille steht.

Nur manchmal schiebt der Vorhang der Pupille
sich lautlos auf – Dann geht ein Bild hinein,
geht durch der Glieder angespannte Stille –
und hört im Herzen auf zu sein.

Rainer Maria Rilke

Für meine Familie

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

AADC	Aromatische Aminosäuredecarboxylase
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ACN	Acetonitril
ALDH	Aldehyddehydrogenase
Ar	Aryl-
aromat.	aromatisch
AUC	Area Under the Curve
Bn	Benzyl-
Boc	*tert*.-Butyloxycarbonyl-
bzw.	beziehungsweise
$CDCl_3$	Deuterochloroform
CDI	*N*,*N*´-Carbonyl-diimidazol
CO	Kohlenmonoxid
CO_2	Kohlenstoffdioxid
COMT	Catechol-*O*-methyltransferase
d	Tag
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DDC	Dopamindecarboxylase
DMAP	*N*,*N*-Dimethylaminopyridin
DMSO-d_6	Dimethylsulfoxid, deuteriert
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylessigsäure
DOPAL	3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyd
EDC-HCl	*N*-Ethyl-*N*´-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-HCl
EI	Elektronen Stoß Ionisation (electron impact)
ESI	Elektronen Spray Ionisation
g	Gramm
h	Stunde
H_2	Molekularer Wasserstoff
H_2SO_4	Schwefelsäure
HCl	Chlorwasserstoffsäure

$Hg(CH_3COO)_2$	Quecksilber(II)acetat
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HVA	Homovanilinsäure
Hz	Hertz
IPS	Idiopathisches Parkinson Syndrom
IR	Infrarot
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K_2CO_3	Kaliumcarbonat
Kap.	Kapitel
KBr	Kaliumbromid
Lit.	Literatur
logP-Wert	negativer dekadischer Logarithmus des Verteilungskoeffizienten
M	molar
MAO	Monoaminoxidase
MG	relatives Molekulargewicht
MHz	Megahertz
min	Minute
µl	Mikroliter
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mmol	Millimol
MPLC	Middle Pressure Liquid Chromatography
MS	Massenspektrometrie
$NaHCO_3$	Natriumhydrogencarbonat
NaI	Natriumiodid
NMDA	*N*-Methyl-D-aspatat
NMR	Nuclear magnetic resonance
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
3-OMD	3-*O*-Methyldopamin
p	Druck
P	Leistung
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
pK_s	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante

PMP	1,2,2,6,6-Pentamethylpiperidin
ppm	parts per million
proz.	Prozentig
q. s.	quantum satis (so viel, wie notwendig ist, um…)
R_t	Retentionszeit
RP	reverse phase
RT	Raumtemperatur
s. o.	siehe oben
s. u.	siehe unten
SC	Säulenchromatographie
Tab.	Tabelle
TBD	1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]dec-5-en
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilan
UV	Ultraviolett
Vgl.	vergleiche
z. B.	zum Beispiel
$ZnCl_2$	Zinkchlorid
ZNS	Zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 18

1.1. Morbus Parkinson 18

1.1.1. Klinik 18
1.1.2. Pathogenese 19

1.2. Therapie des Morbus Parkinson 22

1.2.1. Anticholinergika 22
1.2.2. NMDA-Rezeptorantagonisten 24
1.2.3. Dopaminagonisten 25
1.2.4. Monoaminoxidase-Hemmer 28
1.2.5. L-DOPA und seine Comedikation 29
1.2.5.1. Pharmakologische Grundlagen 29
1.2.5.2. Levodopa 31
1.2.5.3. Decarboxylasehemmer 36
1.2.5.4. COMT-Hemmer 37
1.2.6. Entacapon 39

1.3. Prodrugs 43

1.3.1. Definition 43
1.3.2. Beispiele 46
1.3.2.1. Alkyl- und Arylester 49
1.3.2.2. Alkyl- und Arylcarbamate 53
1.3.2.3. Alkyl- und Arylcarbonate 57
1.3.2.4. Ester anorganischer Säuren 59
1.3.2.5. Acyloxyalkylester 60
1.3.2.6. Codrugs 63

2. Aufgabenstellung 66

3. Prodrugs von Entacapon 69

3.1. Carbonate 69

3.1.1. Literatur 69
3.1.2. Synthese 70
3.1.2.1. Synthese von Carbonaten mit Chloroformiaten 70
3.1.2.2. Synthese des cyclischen Carbonats 75
3.1.2.3. Synthese der Carbonate durch Öffnung des cyclischen Carbonats 86

3.1.2.4. Synthese von Carbonaten mit freien Carboxylgruppen 91
3.1.3. Analytik 94
3.1.3.1. Analytik der 3-Monocarbonate 94
3.1.3.2. Analytik der 3,4-Biscarbonate 98
3.1.3.3. Analytik des cyclischen Carbonats 99

3.2. Carbamate 105

3.2.1. Literatur 105
3.2.2. Synthese 108
3.2.2.1. Synthese von Carbamaten unter Verwendung von Carbamoylchloriden 108
3.2.2.2. Synthese von Carbamaten unter Verwendung von Isocyanaten 111
3.2.2.3. Synthese von Carbamaten durch Aminolyse des cyclischen Carbonats 115
3.2.3. Analytik 117
3.2.3.1. Analytik der *N*-monosubstituierten Monocarbamate 117
3.2.3.2. Analytik der *N*,*N*-dialkylierten Monocarbamate 119
3.2.3.3. Analytik der *N*,*N*-dialkylierten 3,4-Biscarbamate 120

3.3. Ester 123

3.3.1. Synthese von Aminosäureestern 124
3.3.1.1. Synthese von *N*-geschützten Aminosäureestern unter Verwendung von Carbodiimiden 125
3.3.1.2. Synthese von *N*-geschützten Aminosäureestern unter Verwendung von *N*,*N*´-Carbonyldiimidazol 128
3.3.1.3. Analytik der *N*-Acetylaminosäureester des Entacapon 130
3.3.2. Synthese von Estern der Dicarbonsäuren 131
3.3.2.1. Analytik des Ethylmalonylesters des Entacapon 132

3.4. Ringschlussversuche 134

3.4.1. Literatur 135
3.4.1.1. Literatur zur Synthese der cyclischen Acetale 135
3.4.1.2. Literatur zur Synthese der cyclischen Ester 138
3.4.2. Syntheseversuche 140
3.4.2.1. Ringschlußversuche mit Dihalogenmethan-Derivaten 140
3.4.2.2. Ringschlußversuche mit Oxalyl- und Malonylchlorid 141

3.5. Weitere Entacapon-Prodrugs 143
3.5.1. Literatur 143
3.5.2. Syntheseversuche zur Herstellung von Orthokohlensäure-estern 144

4. Untersuchungen zur Stabilität der Prodrugs und deren Freisetzungseigenschaften 148

4.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften 149
4.1.1. Löslichkeit 149
4.1.2. Lipidlöslichkeit 150
4.1.3. Stabilität gegen chemische Hydrolyse 151

4.2. Untersuchung der enzymatischen Freisetzung und der Permeabilität von Biomembranen 155
4.2.1. Enzymatische Freisetzung des Entacapon 155
4.2.2. Permeabilität von Biomembranen 156

4.3. *In vivo*-Tests 159

4.4. Schlußfolgerungen und Ausblick 160

5. Experimentalteil 162

5.1. Verzeichnis der Geräte und Analysenmethoden 162

5.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV) 166

5.3. Analytische Daten der synthetisierten Verbindungen 170
5.3.1. Verbindungen aus Kapitel 3.1 170
5.3.2. Verbindungen aus Kapitel 3.2 240
5.3.3. Verbindungen aus Kapitel 3.3 277
5.3.4. Verbindungen aus Kapitel 3.5 281

5.4. Stabilitäts-, Freisetzungs- und Permeabilitätstests 283

5.5. Ergebnisse der *in vitro* Versuche 285

6. Zusammenfassung 292

7. Summary 295

8. Literaturverzeichnis 298

9. Gefahrstoffverzeichnis 310

Vorwort

Morbus Parkinson ist neben Alzheimer eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen des Alters. Über die Ätiologie, insbesondere jedoch über die Ursachen und die prädisponierenden Faktoren, die zur Ausbildung dieses Krankheitsbildes führen, ist trotz jahrzehntelanger, intensiver Forschung nur wenig bekannt.

Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt im 6. Lebensjahrzehnt mit einer Prävalenz von ca. 0,6% der 65 bis 69-jährigen und 2,6% der über 85-jährigen europaweit[1]. Jährlich kommen ca. 13 000 Neuerkrankungen hinzu, was einer Inzidenz von 20 Fällen/100 000 entspricht[2].

Die palliative Behandlung der Paralysis agitans erfolgt seit den frühen 60er Jahren überwiegend durch Substitution des Neurotransmitters Dopamin. Patienten, die an Morbus Parkinson erkranken, sind auf eine lebenslange Therapie mit dem Wirkstoff Levodopa angewiesen. Dessen Langzeitanwendung wird allerdings von einem fortschreitenden Wirkungsverlust und Spätkomplikationen, wie motorischen Fluktuationen und Dyskinesien, begleitet. Die nicht zu vertretende Kompromittierung der Lebensqualität von Patienten ist Antrieb der Forschung die Pharmakotherapie so zu optimieren, dass sie auch noch im Spätstadium der Erkrankung wirksam bleibt.

Mit der vorliegenden Arbeit soll ein Beitrag zu diesen Forschungsbemühungen geleistet werden.

1 Einleitung

1.1 Morbus Parkinson

1.1.1 Klinik

Das Parkinson-Syndrom – erstmals 1817 von dem englischen Arzt James Parkinson beschrieben[3] – ist eine der verbreitetsten neurologischen Erkrankungen des Alters in westlichen Ländern[1]. Diese regionale Häufung dürfte auf die gesteigerte Lebenserwartung in den Industriestaaten zurückzuführen sein, da die sogenannte Schüttellähmung vornehmlich bei Menschen im Alter von über 65 Jahren zu beobachten ist*.

Ein Niedergang der dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra und der daraus resultierende Mangel des Botenstoffes Dopamin im Gehirn erzeugen das für Morbus Parkinson typische Krankheitsbild[4]. Kardinalsymptom ist die sogenannte Trias, eine Kombination aus Rigor, Tremor und Akinesie. Hinzu kommen vegetative Störungen (z. B. Kreislaufschwäche) und kognitive Beeinträchtigungen, wie Bradyphrenie†, insbesondere in fortgeschrittenen Stadien der Krankheit[5].

Die ersten Krankheitszeichen treten erst nach Ausfall von 60-80% der nigrostriatalen Neurone auf[6], da der relative Dopaminmangel in frühen Stadien der Neurodegeneration durch die noch intakten dopaminergen Nervenzellen kompensiert werden kann. Das Idiopathische Parkinsonsyndrom (IPS) kann daher frühestens zu Beginn der syptomalen Phase diagnostiziert werden.

Die Diagnose der Neurodegeneration im präsymptomatischen Stadium war selbst mit bildgebenden Verfahren lange Zeit nicht möglich. Eine kürzlich entwickelte Sonographie-Variante (transkranielle Sonographie, TCS), die sich eine pathologische

* Anders als bei den parkinsonoiden Symptomkomplexen, z. B. dem medikamentös induzierten Parkinsonismus (durch Wirkstoffe wie Reserpin oder Dopaminantagonisten (Neuroleptika) ausgelöst) oder bestimmten Vergiftungen, ist der „echte“ Morbus Parkinson idiopathischen Ursprungs. Er wird deshalb auch als Idiopathisches Parkinson Syndrom (IPS) bezeichnet.
† Als Bradyphrenie bezeichnet man die Verlangsamung von Denkabläufen.

Eisenanreicherung in den betroffenen Hirnarealen zu Nutze macht, könnte jedoch den Durchbruch in der Frühdiagnostik und besonders in der Wirkstoffforschung bedeuten[7].

Unbehandelt führt Morbus Parkinson zu einer verminderten Lebenserwartung[8]. Dies liegt weniger an der Progredienz der Krankheit, sondern vielmehr an den Komplikationen, die eine langfristige Immobilisierung mit sich bringt (z. B. Aspirationspneumonien oder Lungenembolien). Mit den heute zur Verfügung stehenden Therapieverfahren ist die Lebenserwartung von Parkinsonpatienten vergleichbar mit der des Bundesdurchschnitts[9].

1.1.2 Pathogenese

Die Ätiologie der chronisch, progredienten Neurodegeneration ist bis dato ungeklärt, sodass kurative Therapieansätze fehlen. Aktuelle Hypothesen sehen neben einer genetischen Prävalenz den Schlüssel in oxidativem Stress in den Neuronen[10], dem Auftreten von neurotoxischen Proteinen[11] und Defekten in der mitochondrialen Atmungskette[12].

Der Einfluss der genetischen Prävalenz zeigt sich in dem familiär gehäuften Vorkommen früh auftretender Formen des Morbus Parkinson, die bereits im Alter zwischen 20 und 40 zu klinischen Symptomen führen. Beteiligte Gene sind die sog. PARK-Gene*, von denen in den vergangenen zehn Jahren sechs Vertreter identifiziert wurden.

Zu den neurotoxischen Proteinen zählt das 1997 entdeckte α-Synuklein[11], welches sogenannte Protofibrillen durch Aggregation in den Neuronen bildet. Diese führen nach heutigem Kenntnisstand höchstwahrscheinlich durch Permeabilisierung von Biomembranen zum Zelltod[14].

* PARK1 codiert das Protein α-Synuklein, PARK2 das Eiweiß Parkin. Die Gene PARK5-8 sind ebenfalls für die Biosynthese von Proteinen zuständig, die eng mit der Pathogenese des IPS verknüpft sind[13].

Als neuroprotektiver Faktor hingegen wurde das Eiweiß Parkin entdeckt. Es schützt Neuronen vor oxidativem Stress und beschleunigt den Abbau von neurotoxischen Substratproteinen (u.a. α-Synuklein)[15]. Der Zusammenhang zwischen Parkin und den sog. Lewy-Körperchen* ist noch umstritten[18]. Defekte in der Expression des parkincodierenden Gens beschleunigen den Verlauf der Neurodegeneration.

Der Einfluss oxidativen Stresses in der Pathogenese und Progredienz des Morbus Parkinson wird auf die Entstehung von Sauerstoffradikalen beim Abbau von Dopamin† zurückgeführt. Der von *Olanow*[10] postulierte Mechanismus ist auf S. 35 erläutert.

Da eine kurative Therapie des Morbus Parkinson nach dem heutigen Stand der Wissenschaft noch nicht zur Verfügung steht, ist die Optimierung der Lebensbedingungen des Erkrankten zentrale Aufgabe der Patientenbetreuung. Zusätzlich zur medikamentösen Behandlung können physiotherapeutische und neurochirurgische Maßnahmen („Hirnschrittmacher“) ergriffen werden.

Das Ziel der medikamentösen Dauertherapie der Paralysis agitans ist eine Regulation des Neurotransmittergleichgewichts. Die Substitution des Botenstoffs Dopamin im zentralen Nervensystem (ZNS) ist dabei eine Variante. Auch die Gabe von dopaminergen Wirkstoffen, Inhibitoren der catecholaminabbauenden Enzyme und Muscarinrezeptor-Antagonisten zur Behandlung der sogenannten Plus-Symptome (Tremor), gehören zum Repertoire der Parkinson-Therapie in frühen Stadien der Krankheit.

---

* Lewy-Körperchen sind zytoplasmatische Aggregate, die in Neuronen von Parkinsonpatienten gefunden wurden. Sie enthalten, neben den α-Synukleinfibrillen und anderen neurotoxischen Proteinen, die Enzyme Ubiquitin und Parkin. Ihre Rolle in der Ätiologie des Morbus Parkinson ist umstritten. Wahrscheinlich dienen sie als „Entsorgungsdepot“ für verklumpte Proteine, die vom Proteasom der Zelle nicht abgebaut werden können[16]. Nach neuesten Erkenntnissen könnten die Proteinaggregate auch die Primärursache von neurodegenerativen Erkrankungen, wie Alzheimer und Parkinson sein. *Kramer und Mitarbeiter* konnten im Februar 2007 zeigen, dass sich α-Synuklein-Aggregate besonders in den präsynaptischen Regionen der Neuronen befinden. Es wird vermutet, dass ihre Anwesenheit zu gravierenden Einschränkungen in der synaptischen Übertragungsleistung führt, die dem Untergang der Neurone vorausgeht[17].

† Darüber hinaus wird postuliert, dass Dopamin die Protofibrillen des α-Synukleins durch kovalente Bindung stabilisieren kann und somit deren Neurotoxizität unterstützt[19].

Die Darstellung der modernen medikamentösen Parkinsontherapie ist Thema des folgenden Kapitels.

1.2 Therapie des Morbus Parkinson

1.2.1 Anticholinergika

Auf zellulärer Ebene hat der Mangel von Dopamin im Striatum direkte Auswirkungen auf die Funktion der Basalganglien. Diese modulatorische Schleife, die den Informationsfluss zwischen der Großhirnrinde und den Motoneuronen des Rückenmarks reguliert, besteht aus einem direkten und einem indirekten Pfad. Beide Wege werden mit unterschiedlichen Effekten von Dopamin angesteuert*. Die Informationsweiterleitung innerhalb der Pfade erfolgt über das Zusammenwirken cholinerger, glutamaterger und GABAerger Vorgänge[21].

Vereinfachend können die Verhältnisse auf neuronaler Ebene als Mangel an (inhibitorischem) Dopamin und Überschuss der (exzitatorischen) Botenstoffe Glutamat und Acetylcholin zusammengefasst werden. Die Verwendung von Anticholinergika zur Behandlung des Morbus Parkinson ist somit zur Regulation des verschobenen Neurotransmittergleichgewichts geeignet†.

Die Therapie mit ZNS-gängigen Muscarinrezeptorantagonisten beeinflusst hauptsächlich die Symptome Rigor und Tremor und zeichnet sich durch ein ungünstiges Nebenwirkungsprofil aus (anticholinerge Effekte). Verbunden mit einer vergleichsweise geringen antiparkinsonoiden Potenz ist der Anwendungsbereich dieser Medikamente auf die Behandlung früher Stadien des Morbus Parkinson mit ausgeprägtem Ruhetremor und cholinergen Symptomen beschränkt[21].

Die Entwicklung von dementiellen Störungen (Parkinson-Demenz) in späteren Stadien muss aufgrund der neurodegenerativen Ätiologie

* Die Einteilung der Dopaminrezeptoren erfolgt in zwei Gruppen (D_1- und D_2-artige), die gegensätzliche Effekte auslösen[20]. Während der direkte Pfad durch exzitatorische D_1-Rezeptoren vertreten ist und den Informationsfluss vom Thalamus zum Cortex erhöht, liegen die Verhältnisse im indirekten Pfad entgegengesetzt (inhibitorische D_2-Rezeptoren, Verminderung der neuronalen Aktivität). Ein Dopaminmangel führt zur Inhibition des direkten und Aktivierung des indirekten Pfads mit dem beschriebenen symptomalen Ergebnis.

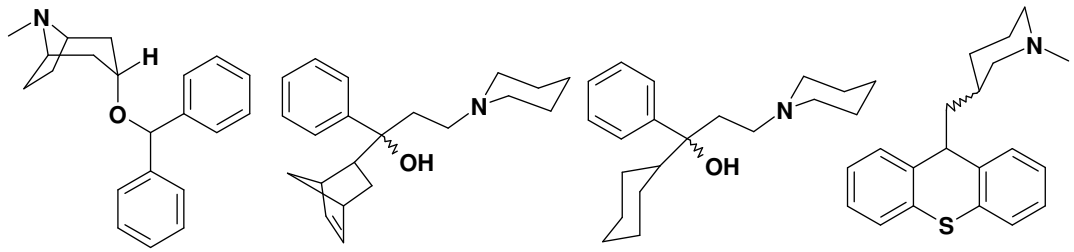
† Der exakte Wirkmechanismus ist nicht vollständig geklärt.

des IPS als direkte Folgeerkrankung angesehen werden. Die potentielle Beschleunigung dieses Effektes durch Anticholinergika macht diese Stoffgruppe für ältere Menschen obsolet[22].

Trotz der genannten Einschränkungen hat diese historisch bedeutsame Variante* der Parkinsontherapie[24] bis heute, insbesondere vor dem Hintergrund der verzögerten Levodopagabe in der modernen IPS-Behandlung (vgl. Kapitel 1.2.5.2), ihre therapeutische Berechtigung.

Ein Vertreter der in der Parkinsontherapie angewendeten ZNS-gängigen Muscarinrezeptorantagonisten ist das Atropinanalogon **Benzatropin**†, dessen Tropan-Heterocyclus über eine Etherbrücke mit Benzhydrol verbunden ist. Ferner werden die Aminopropanolderivate **Biperiden** (Akineton®) und **Trihexyphenidyl** (Artane®) sowie der Wirkstoff **Metixen** (Tremarit®), der ein basisch substituiertes Thioxanthenderivat darstellt (vgl. Abb. 1-1), eingesetzt.

Bornaprin, Pridinol und Procyclidin haben in den vergangenen Jahren deutlich an Relevanz verloren und werden somit in aktuellen Lehrbüchern der Pharmakologie nicht mehr erwähnt[21].



Benzatropin **Biperiden** **Trihexyphenidyl** **Metixen**

Abb. 1-1: Anticholinergika in der modernen Therapie des IPS.

* Die älteste, belegte Behandlung von Parkinsonpatienten ist die „Bulgarisch-italienische Kur“, die sich der anticholinergen Wirkung der Tollkirsche (*Atropa belladonna*) bediente[23].

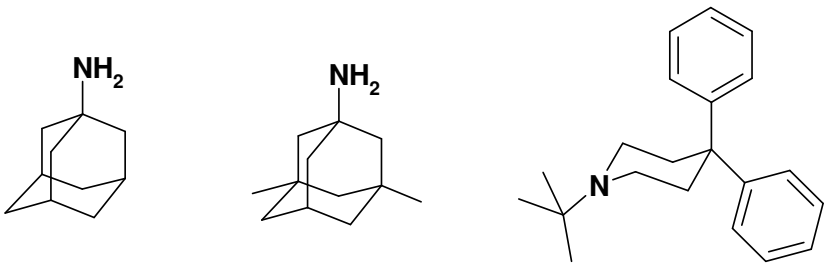
† Der Wirkstoff Benzatropin (engl. ‚benztropin') ist das potenteste der angewendeten Anticholinergika[24]. Es ist im englischsprachigen Bereich unter dem Namen Cogentin® im Handel. In der Roten Liste wird es nicht mehr geführt.

Trotz der Existenz potenterer Parkinson-Wirkstoffe mit günstigerem Nebenwirkungsprofil nimmt die Verordnung der synthetischen Anticholinergika erstaunlich langsam ab. Ein Grund könnte der niedrige Preis dieser Präparate sein[23].

1.2.2 NMDA-Rezeptorantagonisten

NMDA-Rezeptoren stellen eine Untergruppe der glutamatergen Rezeptoren dar und verdanken ihren Namen dem selektiven Agonisten *N*-Methyl-D-aspartat (NMDA)*. Ebenso wie die Anticholinergika greifen Antagonisten an diesem Rezeptortyp in das gestörte Neurotransmittergleichgewicht ein.

Die antiparkinsonoide Potenz des NMDA-Rezeptorantagonisten **Amantadin** (PK Merz®) wurde 1968 durch Zufall bei dessen Einsatz als Virustatikum entdeckt[26]. Sein zweifach methylierter Verwandter **Memantin** (Akatinol®) ist aufgrund der höheren Lipophilie besser ZNS-gängig (vgl. Abb. 1-2). Beide finden heute besondere Beachtung in der Therapie von akinetischen Krisen[22].



Amantadin **Memantin** **Budipin**

Abb. 1-2: NMDA-Rezeptorantagonisten.

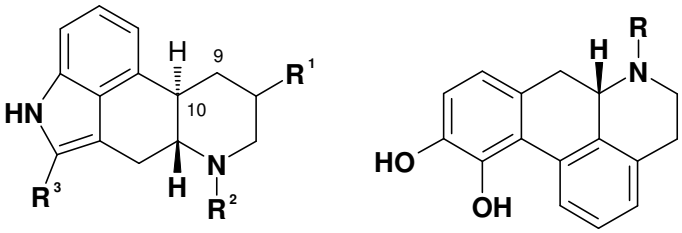
Ein weiterer Vertreter dieser Wirkstoffgruppe ist das **Budipin** (Parkinsan®), welches zusätzlich eine antagonistische Wirkung an

* NMDA ist kein physiologischer Botenstoff. Die selektive agonistische Wirkung an diesem Rezeptorsubtyp wurde in *in vitro*-Versuchen entdeckt[25].

m-Cholinorezeptoren zeigt und eine Steigerung der Dopaminausschüttung bewirkt[27]. Trotz dieser Häufung von synergistischen Wirkmechanismen ist Budipin nicht zum Goldstandard der Therapie erwachsen, da es die Gefahr von massiven, lebensbedrohlichen Arrhythmien birgt. Seine Verschreibung ist seit 2001 an strenge Auflagen gebunden[28].

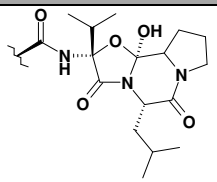
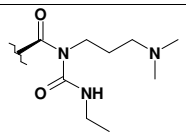
1.2.3 Dopaminagonisten

Ein weiterer Ansatz der Pharmakotherapie des Morbus Parkinson ist die direkte Stimulation der Dopaminrezeptoren im ZNS an. Die Wirkstoffe der ersten Generation leiten sich von den Mutterkornalkaloiden ab und werden deshalb in der Gruppe der ergot-artigen Dopaminagonisten zusammengefasst. Sie beinhaltet die partialsynthetischen Derivate **Bromocriptin** (Pravidel®), **Pergolid** (Parkotil®), und **Cabergolin** (Cabaseril®, vgl. Abb. 1-3)).
α-Dihydroergocryptin (Almirid®) und Lisurid (Dopergin®) sind von untergeordneter Bedeutung[29].



Apomorphin

Abb. 1-3: Grundgerüst der ergoten Dopaminagonisten und Apomorphin.

	R^1	R^2	R^3
Bromocriptin*		CH_3-	Br-
Pergolid	-CH_2-S-CH_3	Propyl-	H-
Cabergolid		Allyl-	H-

Tab. 1-1: Substitutionsmuster der ergoten Dopaminagonisten.

Leider ist die Selektivität der Ergolinderivate für die Dopaminrezeptoren begrenzt. Als Folge einer Stimulation adrenerger und serotoninerger Rezeptoren resultieren nicht zu vernachlässigende Nebenwirkungen†. Positiv ist hingegen die lange Plasmahalbwertzeit ($t_{1/2}$) einiger Vertreter zu bewerten (z. B. Pergolid $t_{1/2}$ = 13h), die eine einmal tägliche Verabfolgung ermöglicht.

Dopaminagonisten wie Bromocriptin besitzen in Kombination mit niedrig dosiertem L-DOPA in frühen Stadien der Krankheit einen Vorteil gegenüber einer L-DOPA-Monotherapie: Bei vergleichbarer antiparkinsonoider Potenz der beiden Therapieregime treten bei der Kombinationstherapie in späteren Stadien der Krankheit weniger Komplikationen aufgrund von Fluktuationen und peak-dose-Dyskinesien auf[31].

Eine Renaissance erlebte der als rigidisiertes Dopaminderivat anzusehende Dopaminagonist **Apomorphin‡** (Apo-go®, Abb. 1-3), der lange Jahre im deutschsprachigen Raum als Emetikum Anwendung fand. In Form eines Pens oder einer Infusionspumpe zur

* Bei diesem Derivat ist die Bindung 9/10 im Piperidinring dehydriert.

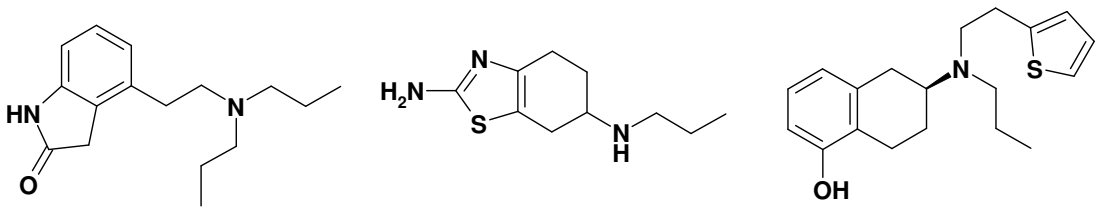
† Eine seltene aber gravierende Nebenwirkung der ergoten Dopaminagonisten ist die Entwicklung von Vasospasmen der Finger und Zehen bis zur Gangrän[30]. Dies unterstreicht die nahe Verwandtschaft zu den Mutterkornalkaloiden, die im Mittelalter weitläufige Vergiftungsepidemien (brandiger Ergotismus) verursachten.

‡ Apomorphin ist ein Umlagerungsprodukt des Morphin ohne opioide Wirkung.

subkutanen Applikation wird er seit 2002 zur Behandlung von Parkinsonpatienten eingesetzt, die trotz bestehender Dopaminagonisten- oder Levodopatherapie unter sog. Off-Phänomenen* leiden. Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen müssen nur zu Beginn der Therapie mit peripher wirksamen Dopaminantagonisten (z. B. **Domperidon** (Motilium®)) behandelt werden[32].

Neue, niedermolekulare Wirkstoffe mit agonistischer Potenz an zentralen Dopaminrezeptoren sind die Substanzen **Ropinirol** (Requip®) und **Pramipexol** (Sifrol®, vgl. Abb. 1-4). Sie zeigen eine hohe Selektivität gegenüber Rezeptoren der D_2-Klasse und haben keine zusätzlichen Effekte an anderen Rezeptortypen, wie die Ergot-Derivate, was das verbesserte Nebenwirkungsprofil widerspiegelt[33].

Ropinirol zeigt in seinem Indolingrundgerüst mit basisch substituierter Seitenkette noch eine geringfügige Verwandtschaft zu den ergoten Dopaminagonisten, wohingegen das Pramipexol als Aminothiazol-Derivat ein vollkommen neues Pharmakophor darstellt.



Ropinirol **Pramipexol** **Rotigotin**

Abb. 1-4: Niedermolekulare Dopaminagonisten.

Für die transdermale Applikation steht seit 2006 das Wirkstoffpflaster Neupro® mit dem neuen D_2-Agonisten **Rotigotin** zur Verfügung, welches konstante Wirkstoffspiegel erreichen soll†.

* Plötzlich auftretende Akinesie oder Freezing-Episoden (Off-Phasen).

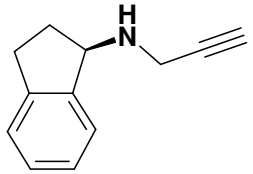
† Eine Studie mit 252 Patienten in frühen Stadien des IPS belegt die Wirksamkeit dieses transdermalen Therapieregimes[34].

Der Vorteil der Verwendung von Dopaminagonisten ist die fehlende Bioaktivierung im ZNS, wie sie bei der Behandlung mit Levodopa erfolgen muss (vgl. Kap. 1.2.5.1). Damit ist diese Variante der Pharmakotherapie unabhängig von den funktionellen Kapazitäten der nigro-striatalen Neurone und kann auch in späten Stadien der Krankheit angewendet werden[21].

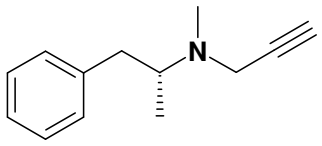
1.2.4 Monoaminoxidase-Hemmer

Die zentral wirksamen Monoaminoxidase-Hemmstoffe greifen in den Dopamin-Metabolismus ein und erhöhen die Konzentration des Transmitters im Neuron durch Inhibition eines Abbauwegs (vgl. Kap. 1.2.5.1)[35].

Die Monoaminoxidase (MAO) existiert in den zwei Isoformen A und B, von denen die MAO-B für katabole Vorgänge im Gehirn zuständig ist[36]. Die oxidative Verstoffwechselung des physiologisch gebildeten Dopamins* in den intakten Neuronen des Striatums wird durch **Selegilin** (Movergan®) und **Rasagilin** (Azilect®) irreversibel gehemmt. Die Wirkstoffe sind in der Lage die MAO-B selektiv durch kovalente Bindung an den reduzierten Cofaktor Flavin zu inhibieren[38].



Rasagilin



Selegilin

Abb. 1-5: Selektive MAO-B-Hemmer.

* MAO-B-Inhibitoren können auch als Komedikation mit Levodopa und Decarboxylasehemmern gegeben werden. Sie verzögern den Abbau des aus L-DOPA freigesetzten „exogenen“ Dopamins im ZNS und verlängern dessen Wirkdauer[37].

Für Selegilin und Rasagilin wird eine von der MAO-B-Hemmung unabhängige, neuroprotektive Wirkung* postuliert[39]. Ferner können sie den MTPT-induzierten Parkinsonismus† verhindern[36].

1.2.5 L-DOPA und seine Comedikation

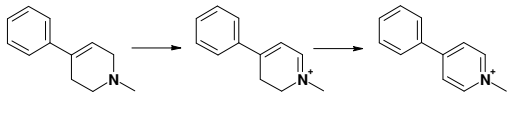
1.2.5.1 Pharmakologische Grundlagen

Dopamin steht als Wirkstoff für eine Substitutionstherapie bei Morbus Parkinson nicht zur Verfügung. Seine orale Verabfolgung hat aufgrund des pharmakokinetischen Profils (schlechte orale Bioverfügbarkeit (BV), hoher first-pass Effekt, weder aktive noch passive Überwindung der Blut-Hirn-Schranke) keinen messbaren Effekt (vgl. Kap. 1.3.2.3).

Die Gabe von **L-DOPA** (Dopaflex®) dient der Substitution des fehlenden Neurotransmitters. Um die Effekte, das Nebenwirkungsprofil und die heutzutage üblichen Kombinationstherapien von Levodopa nachvollziehen zu können, gilt es die Transportwege und die Verstoffwechselung dieses Wirkstoffs näher zu betrachten. Abb. 1-6 gibt dazu einen schematischen Überblick.

* Als verantwortliche Struktur wird derzeit die Propargylamino-Seitenkette angesehen. Der Mechanismus ist unklar.

† In Tierversuchen wird Morbus Parkinson durch Gabe des Pethidin-Umlagerungsproduktes **M**ethyl-4-**p**henyl**t**etrahydro**p**yridin (MPTP) ausgelöst.



MPTP MPDP+ MPP+

Das durch MAO-B-vermittelte Oxidation entstehende **M**ethyl-4-**p**henyl-**p**yridiniumion (MPP^+), welches sich durch Nutzung aktiver Transportmechanismen in dopaminergen Zellen anreichert, wirkt als Mitochondriengift und lässt innerhalb von Tagen die nigro-striatalen Neurone zugrunde gehen[40].

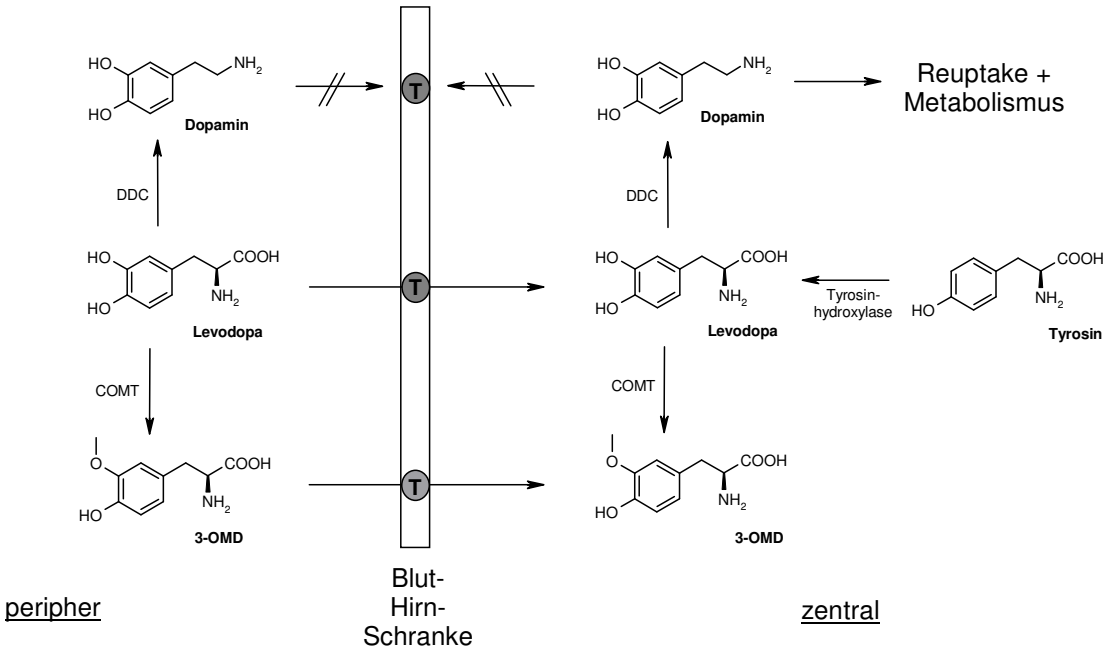


Abb. 1-6: Stoffwechsel des Levodopa (DDC: Dopamindecarboxylase, COMT: Catechol-*O*-methyltransferase, 3-OMD: 3-*O*-Methyldopa, T: Aminosäuretransporter, nach *Gütschow und Meusel*[41]).

Auch im physiologischen Stoffwechsel ist Levodopa der direkte Vorläufer des Dopamins und wird aus der essentiellen, proteinogenen Aminosäure Tyrosin gebildet. Die Hydroxylierung des Aromaten findet in den catecholaminergen Neuronen vermittelt durch das Enzym Tyrosinhydroxylase statt und stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Catecholamin-Biosynthese dar[42].

Die Methylierung der metaständigen OH-Gruppe durch das Enzym Catechol-*O*-methyltransferase (COMT) führt zu einem inaktiven Metaboliten (3-OMD), der ebenso wie Levodopa über Aminosäuretransporter ins ZNS gelangt.

Die Umwandlung von Levodopa in seine Wirkform Dopamin wird sowohl in der Peripherie als auch im zentralen Nervensystem durch das pyridoxalphosphatabhängige Enzym Dopamindecarboxylase (DDC, auch aromatische Aminosäuredecarboxylase AADC) katalysiert.

Das Schicksal des Dopamins nach Exkretion in den synaptischen Spalt ist maßgeblich durch Wiederaufnahme in die Neuronen und vesikuläre Speicherung geprägt (Reuptake, vgl. Abb. 1-7).

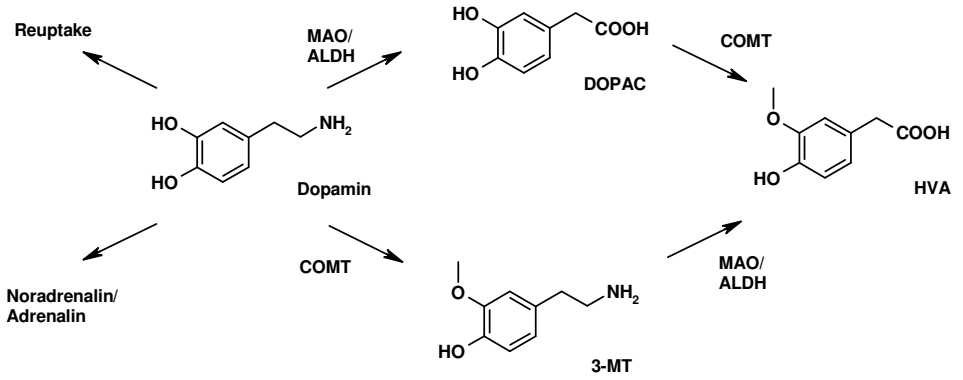


Abb. 1-7: Metabolisierung des Dopamins im ZNS (MAO: Monoaminoxidase, COMT: Catechol-*O*-methyltransferase, DOPAC: 3,4-Dihydroxyphenylessigsäure, 3-MT: 3-Methoxytyramin, HVA: Homovanillinsäure).

Enzymatische Verstoffwechselung des biogenen Amins findet in den Neuronen und Gliazellen durch die Monoaminodidase-B (MAO-B)* und die Catechol-*O*-methyltransferase (COMT) statt. Hauptmetabolit ist die Homovanillinsäure (HVA)[43, 44]. Des weiteren ist Dopamin ein Substrat der β-Hydroxylase zur Biosynthese der Neurotransmitter Noradrenalin und Adrenalin[45].

1.2.5.2 Levodopa

Das Potential von L-DOPA (3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-*L*-alanin), als Pharmakon gegen Parkinson, wurde 1957 von *Carlsson und Mitarbeitern*[46] publiziert. Auch knapp 40 Jahre nach seiner

* Die MAO-B katalysiert lediglich die oxidative Desaminierung zum 3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyd (DOPAL). Die Oxidation zur Carbonsäure läuft mit Hilfe eines weiteren Enzyms (Aldehyd-Dehydrogenase, ALDH) ab.

Markteinführung* ist Levodopa im Rahmen der Arzneimitteltherapie Mittel der ersten Wahl bei IPS[48]. Die so erzielte Substitution des physiologischen Botenstoffs beseitigt die Symptome von Parkinson-patienten (zumindest zu Beginn der Therapie) gänzlich[49].

Als Aminosäure wird Levodopa aktiv und nahezu vollständig (98%) aus dem Gastrointestinal-Trakt resorbiert†. Ebenso ist es in der Lage Transportmechanismen zur Überwindung der Blut-Hirn-Schranke zu nutzen. In den dopaminergen Neuronen wird es schließlich durch Decarboxylierung in seine Wirkform, das Dopamin, umgewandelt[51]. Es entspricht somit in seinen Eigenschaften einem klassischen Prodrug (vgl. Kap. 1.3.1).

Obwohl Levodopa lediglich eine Halbwertzeit von 1–3 Stunden hat, verlängert sich die Wirkdauer des Medikaments (zumindest zu Beginn der Therapie) durch die Speicherung von L-DOPA und der Wirkform Dopamin in den Neuronen[22].

Leider hat der Wirkstoff auch seine Schattenseiten, von denen an dieser Stelle das Nebenwirkungspotenzial und die Entwicklung von Spätkomplikationen kurz erörtert werden sollen:

Ohne entsprechende Komedikation erreicht nur ein Anteil von etwa 1% der applizierten Levodopadosis den Wirkort in den Neuronen des Striatums[52]. Der Grund ist die massive Verstoffwechselung durch De-carboxylasen und Methyltransferasen, welcher der Wirkstoff vor Passieren der Blut-Hirn-Schranke ausgesetzt ist. Bereits bei der Aufnahme aus dem Intestinum werden 50–70% der applizierten Levodopadosis durch die in der Darmwand lokalisierten Decarboxylasen inaktiviert[53]. Dies machte in den 60er Jahren, den Anfangszeiten der Levodopatherapie, eine Dosis von 4–8 g pro Tag notwendig, um die motorischen Symptome zu verbessern.

* Veranlasst durch die nach seiner Entdeckung schlagartig gestiegene Nachfrage, wurde das sog. Monsanto-Verfahren zur enantioselektiven Synthese des L-DOPA mittels chiralen Rhodium-katalysatoren von *William S. Knowles* entwickelt[47]. Für diese Leistung wurde er 2001 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet.

† Die Resorption von Levodopa ist in erheblichem Maße abhängig von der Nahrungsmittel-aufnahme. Hierbei spielt sowohl die Zusammensetzung (Anwesenheit anderer aromatischer Aminosäuren) als auch die Intervalle der Magenentleerung eine Rolle[50].

Die Freisetzung von Dopamin in der Peripherie durch die oxidative Decarboxylierung mittels aromatischer Aminosäuredecarboxylase (AADC) ist Ursache einer ganzen Reihe von Nebenwirkungen. In nahezu 50% aller Fälle kommt es durch dopaminerge Stimulation des Brechzentrums zu Übelkeit und Erbrechen. Des weiteren verursacht Dopamin Kreislaufregulationsstörungen, die sich in Hypotonie und Orthostase äußern[24].

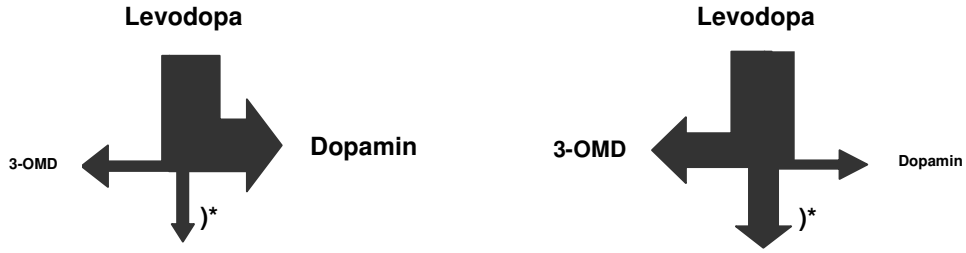


Abb. 1-8: Schicksal des Levodopa in der Peripherie ohne (links) und mit (rechts) Komedikation durch Decarboxylasehemmer.)* ist der Anteil der Levodopadosis, der die Blut-Hirn-Schranke passiert.

Vermieden wird die vorzeitige Verstoffwechselung zum Dopamin durch Komedikation mit Decarboxylasehemmern (Abb. 1-8, rechts)[54]. Die Tagesdosis von Levodopa kann durch diese Maßnahme auf 200–1200 mg reduziert werden.

Der zweite Enzymkomplex, der den Anteil von ZNS-gängigem L-DOPA durch Verstoffwechselung reduziert, ist die Catechol-*O*-methyltransferase, die den Wirkstoff durch Methylierung in Position 3 deaktiviert (vgl. Abb. 1-6). Ist der Abbau des L-DOPA über die AADC durch Komedikation mit Decarboxylasehemmern nicht möglich, wird die Metabolisierung zu 3-*O*-Methyldopa (3-OMD) zum Hauptmetabolisierungsweg (vgl. Abb. 1-8)[55].

Auch dieser Katabolismus lässt sich durch entsprechende Komedikation minimieren, womit der wirksame Anteil der Levodopadosis weiter gesteigert werden kann (vgl. Abb. 1-9).

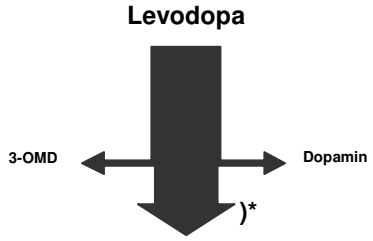


Abb. 1-9: Schicksal von Levodopa in der Peripherie bei Komedikation mit AADC- und COMT-Hemmern.)* ist der Anteil der Levodopadosis, der die Blut-Hirn-Schranke passiert.

Mit den beiden Wirkstoffgruppen der Decarboxyase- bzw. COMT-Inhibitoren befassen sich die folgenden Kapitel.

Zuvor soll allerdings auf eine weitere Problematik im Zusammenhang mit der L-DOPA-Therapie eingegangen werden:
Die Dauermedikation mit dem Dopaminvorläufer Levodopa verliert nach einer Latenz von mehreren Jahren langsam ihre Wirksamkeit[56]. Es treten mit zunehmender Häufigkeit erst Wearing-off-Episoden* und später On-Off-Phänomene mit peak-dose-Dyskinesien† auf, welche den Wirksamkeitsverlust der Medikation klinisch sichtbar machen und die Lebensqualität des Patienten stark beeinträchtigen[57]. Diesen Komplikationen ist nur begrenzt mit einer Dosissteigerung entgegenzuwirken.

Grund für diese Spätkomplikationen ist der fortschreitende Untergang der dopaminergen Neurone, infolgedessen auch die Fähigkeit zur Speicherung und enzymatischen Umwandlung des Levodopas verloren geht[58]. Erschwerend kommt die Tatsache hinzu, dass die dauerhafte Gabe von Levodopa diesen Zelluntergang wahrscheinlich stark beschleunigt. Dies liegt zum einen an der bereits erwähnten Autotoxizität des Dopamins: Dessen MAO-abhängige Verstoffwechselung setzt Wasserstoffperoxid (H_2O_2) frei, welches in einer

* Verkürzung des therapeutischen Effekts der Medikation. Die Symptome der Erkrankung treten vor dem nächsten regulären Einnahmezeitpunkt auf.
† Episoden der Überbeweglichkeit in den Zeiten der höchsten Blutspiegel.

Fenton-Reaktion mit zweiwertigem Eisen freie Hydroxylradikale (OH•) erzeugen kann (vgl. Abb. 1-10)[10].

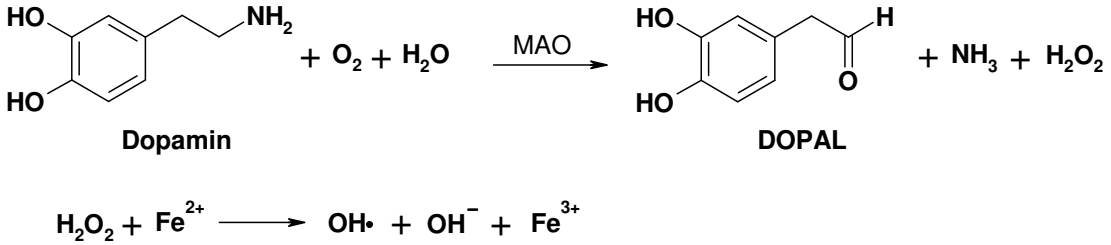


Abb. 1-10: Freisetzung von Sauerstoffradikalen bei der Verstoffwechselung von Dopamin nach *Olanow*[10].

Zum anderen wird die pulsatile Anflutung des Dopamins als Ursache für den fortschreitenden Zelluntergang diskutiert*.

Ziel der modernen Pharmakotherapie ist demnach 1.) eine Verzögerung der Therapie mit Levodopa, indem in frühen Stadien der Krankheit auf andere Behandlungsprinzipien zurückgegriffen wird und 2.) die Erzielung möglichst konstanter Wirkstoffspiegel in einer sich anschließenden Levodopa-Therapie. Dieses Konzept wird mit dem Kürzel CDS (continuous dopaminergic stimulation; kontinuierliche, dopaminerge Stimulation) prägnant zusammengefasst[29].

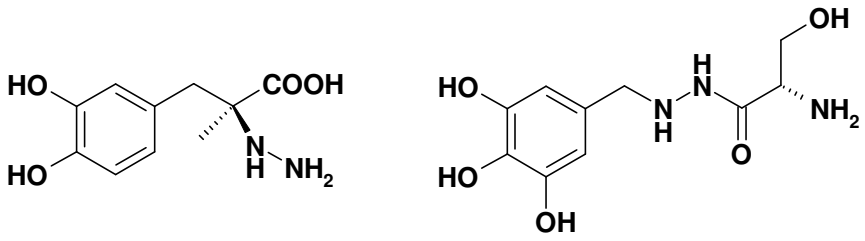
Maßnahmen zur Umsetzung von Punkt 2 dieses Konzepts sind die Anwendung von Formulierungen mit modifizierter Wirkstofffreisetzung oder die Wahl eines alternativen Applikationsweges, der die Möglichkeit zur Erzielung eines konstanten Wirkstoffspiegels bietet (z. B. Dauerinfusionen[60]).

Zur Glättung der Levodopa-Plasmaspiegelkurve ist eine adäquate Komedikation mit COMT- und Decarboxylasehemmern unerlässlich.

* Es soll sich bei diesem Pathomechanismus um eine Adaption der Neuronen auf Rezeptorebene als Antwort auf die schwankenden Dopaminspiegel handeln[59].

1.2.5.3 Decarboxylasehemmer

Die Wirkstoffe **Carbidopa** (in Nacom®) und **Benserazid** (in Madopar®) verdrängen Levodopa aus dem aktiven Zentrum der aromatischen Aminosäuredecarboxylase und verhindern auf diese Weise die Freisetzung von Dopamin in der Peripherie. Sie wirken dort als Suizid-Inhibitoren, indem sie mit dem Coenzym Pyridoxal unter Ausbildung einer stabilen Hydrazon-Bindung reagieren. Im Falle des Benserazids geht dieser Reaktion die Abspaltung des Serinrests voraus[61].



Carbidopa **Benserazid**

Abb. 1-11. Decarboxylase-Hemmstoffe.

Die Bioverfügbarkeit des L-DOPA kann durch additive Gabe eines Decarboxylasehemmers verdoppelt werden[62]. Der Anteil der Levodopadosis, der die Blut-Hirn-Schranke passiert, wird sogar verzehnfacht (1% ohne AADC-Hemmer, 10% mit Komedikation)[63]. Dies führt zu einem deutlichen Rückgang der Nebenwirkungen und ermöglicht eine Reduktion der Levodopadosis um ca. 70%[24].

Aufgrund ihrer Polarität können die Decarboxylasehemmer die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden und behindern somit den AADC-vermittelten Bioaktivierungsmechanismus am Wirkort nicht[54].

1.2.5.4 COMT-Hemmer

Die Catechol-*O*-methyltransferase (COMT)[*] ist für den enzymkatalysierten Abbau der Catecholamine[66] und anderer physiologischer Substanzen mit Brenzcatechin-Partialstruktur, wie Catecholestrogene[67] aber auch Ascorbinsäure zuständig[68]. Zu ihren Substraten gehört neben den Neurotransmittern Adrenalin, Noradrenalin[†] und Dopamin[70] auch das L-DOPA.

Die Übertragung einer Methylgruppe auf eine der phenolischen OH-Funktionen[‡] wandelt Levodopa in den inaktiven Metaboliten 3-*O*-Methyldopa (3-OMD) sowie Dopamin in das 3-Methoxytyramin (3-MT) um[70]. *S*-Adenosyl-L-methionin (SAM) liefert als Cofaktor den notwendigen C1-Baustein[66].

Das Stoffwechselprodukt 3-*O*-Methyldopa (3-OMD) neigt aufgrund seiner langen Halbwertzeit zur Akkumulation[24] und konkurriert darüber hinaus mit Levodopa um die aktiven Transportmechanismen im ZNS[72]. Ferner zeigen IPS-Patienten ohne COMT-Hemmer-Komedikation bis zu zweifach erhöhte Plasmaspiegel von Homocystein[§], welches im Verdacht steht, kardiovaskuläre Störungen und neuronale Schäden zu provozieren[73,74].

L-DOPA wird, wie bereits erläutert, bei gleichzeitiger Gabe von Decarboxylasehemmstoffen bevorzugt über die COMT abgebaut[55]. Um eine Metabolisierung des Levodopa vor Erreichen des Wirkortes zu vermeiden, wurden selektive COMT-Hemmer, wie **Tolcapon** (Tasmar®) und **Entacapon** (Comtess®) entwickelt. Ein dritter COMT-

[*] Die Tatsache, dass die Catechol-*O*-methyltransferase in zwei Isoformen existiert[64], und ferner einem genetischen Polymorphismus unterliegt[65], ist für diese Arbeit unerheblich, soll jedoch der Vollständigkeit halber Erwähnung finden.

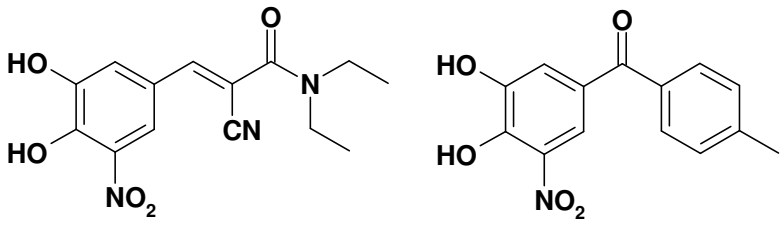
[†] Die Hemmung der Catechol-*O*-methyltransferase birgt aufgrund des geringen Beitrags des Enzyms zum physiologischen Stoffwechsel der Catecholamine kein Risiko.[69]

[‡] Die Regioselektivität der *O*-Methylierung wurde von *Creveling und Mitarbeitern* untersucht, die bei den physiologischen Catecholaminen eine bevorzugte Metabolisierung der OH-Gruppe in Position 3 fanden[71]. Diese Selektivität wird mit der Anwesenheit hydrophober Aminosäuren in einem benachbarten Teil des aktiven Zentrums begründet, welche die für eine para-Methylierung erforderliche Einbettung des Substratmoleküls in das Enzym verhindern.

[§] Homocystein ist ein Abbauprodukt des bei der *O*-Methylierung benötigten *S*-Adenosyl-*L*-methionins.

Inhibitor, das Nitecapon, besitzt trotz nachgewiesener Wirksamkeit keine klinische Relevanz[68].

Eine Komedikation mit COMT-Hemmern ermöglicht es, die Dosis des Arzneistoffs L-DOPA bei gleicher Wirksamkeit weiter zu senken und führt zu einer Glättung der Levodopa-Plasmaspiegelkurve[29].



Entacapon **Tolcapon**

Abb. 1-12: COMT-Hemmer.

Der Wirkstoff Tolcapon hat neben der peripheren Hemmung der COMT eine zentrale Wirkkomponente*, da er aufgrund seiner höheren Lipophilie in der Lage ist die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden[76]. Der Wirkstoff wurde jedoch im Jahre 1998 wegen des Auftretens schwerer Leberfunktionsstörungen in Europa vom Markt genommen[77]. In den USA wird Tolcapon weiterhin unter strengen Auflagen bezüglich der Kontrolle der Leberwerte zur Behandlung von Parkinsonismus verwendet[78]. Für Entacapon ist eine derartige Toxizität nicht beschrieben.

* Die Hemmwirkung auf die COMT im ZNS ist hinsichtlich ihres Nutzens umstritten[75]. Zwar ist die Verzögerung der Dopamin-Inaktivierung im ZNS generell wünschenswert, jedoch würde Blockierung dieses Abbauweges die Relevanz der Dopaminverstoffwechselung über die MAO mit den bereits beschriebenen Risiken der oxidativen Schädigung durch radikalische Sauerstoff-spezies stärken.

1.2.6 Entacapon

Entacapon [(*E*)-2-Cyano-*N*,*N*-diethyl-3-[3,4-dihydroxy-5-nitrophenyl]-propenamid] ist derzeit der einzige in Europa zugelassene Catechol-*O*-methyltransferase-Inhibitor. Er ist aufgrund seines pharmakokinetisches Profils, welches dem von Levodopa ähnelt*, für eine Tripeltherapie mit L-DOPA und einem Decarboxylasehemmstoff bei Morbus Parkinson geeignet. Seit 2003 steht in Deutschland eine fixe Dreierkombination aus Levodopa, Carbidopa und Entacapon unter dem Namen Stalevo® zur Verfügung[81].

Komedikation einer L-DOPA/Decarboxylasehemmer-Kombination mit Entacapon zeigte in klinischen Studien eine signifikante Erhöhung der Plasma-AUC von Levodopa sowie eine Minimierung des Plasmaspiegels von 3-*O*-Methyldopa[82]. Eine Verbesserung der Lebensqualität von Patienten mit „end-of-dose"-Dyskinesien konnte in Studien anhand einer Verlängerung den sog. On-Phasen (symptomfreie Intervalle) gezeigt werden[83].

Die Hemmung der Catechol-*O*-methyltransferase durch Entacapon erfolgt durch Einlagerung in das aktive Zentrum des Enzyms, wobei der Hemmstoff selber nicht methyliert wird[84]. Sie ist vollständig reversibel[85].

Die Nitrobrenzcatechinstruktur hat sich für diesen Zweck als vorteilhaft erwiesen, da die Nitrofunktion durch ihren elektronenziehenden Effekt die Deprotonierung der orthoständigen OH-Gruppe begünstigt und darüber hinaus als Wasserstoffbrückenakzeptor fungiert[86]. Ferner steigert eine raumfüllende, hydrophobe Seitenkette die Affinität zum Enzym. Dieses verfügt über eine „hydrophobe Mauer", die das Substrat im aktiven Zentrum fixiert[68]. Abb. 1-13 verdeutlicht die optimale Einpassung des Inhibitors in das aktive Zentrum.

* Pharmakologische Kenngrößen von
Entacapon: t_{max} = 0,9 ± 0,4 h, $t_{1/2}$ = 1,4 ± 0,3 h[79] und
Levodopa: t_{max}: 1,4 ± 1,0 h, $t_{1/2}$: 1,1 ± 0,2 h[80].

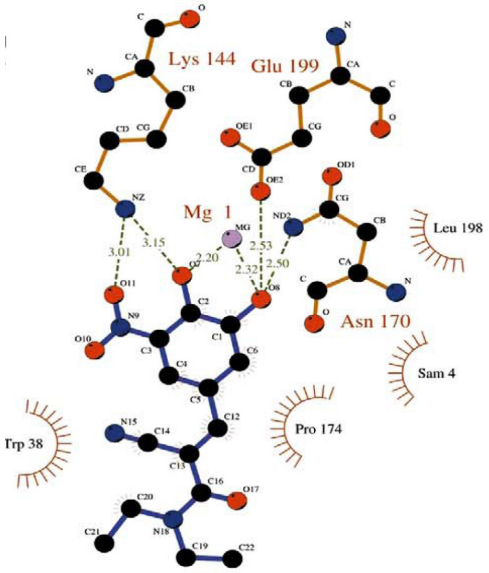


Abb. 1-13: Von *Tervo und Mitarbeitern* erstelltes Modell der Einbettung des Inhibitors (Entacapon) in das aktive Zentrum der COMT[86].

Die kurze Halbwertzeit von Entacapon von ca. 1,5 h macht eine regelmäßige, mehrmalige Applikation über den Tag verteilt notwendig. Eine Verstoffwechselung des COMT-Hemmers findet in großem Ausmaß bereits bei der ersten Leberpassage statt. Hauptmetaboliten im Urin sind Glucuronidierungs- und Sulfatierungsprodukte des *E*-Isomers sowie das aktive *Z*-Isomere des Entacapon. Die prozentualen Anteile der Metaboliten werden in der Literatur unterschiedlich beziffert[87, 88].

Eine durchschnittliche Bioverfügbarkeit von 25% mit starken interindividuellen Schwankungen (29-46%) wurde von *Keränen und Mitarbeitern* ermittelt[55]. Therapeutische Anwendung findet lediglich das *E*-konfigurierte Isomer, obwohl das *Z*-Isomer *in vivo* über ähnliche Hemmeigenschaften gegenüber der COMT verfügt[55].

Die Wasserlöslichkeit im sauren und neutralen Milieu liegt bei weniger als 0,05 µg/ml. In seiner Eigenschaft als schwache Säure mit einem

pK_a-Wert von 4,5* verbessert sich die Löslichkeit bei steigenden pH-Werten infolge Dissoziation[68].

Die Deprotonierung bei neutralen bis basischen pH-Werten, wie sie am Resorptionsort anzutreffen sind, ist wahrscheinlich ein Grund für die schlechte orale Bioverfügbarkeit[89]. Auch die Passage der Blut-Hirn-Schranke bei pH 7,4 erfolgt aufgrund der polaren Struktur nicht. Für die Wechselwirkung mit dem Targetenzym ist die Dissoziation allerdings notwendig, da die im physiologischen Medium vorliegende Phenolat-Struktur eine besonders hohe Affinität zum aktiven Zentrum der COMT hat[86].

Die Einführung des Arzneistoff Entacapon stellte eine Bereicherung der Pharmakotherapie des Morbus Parkinson dar. Die Anwendungssicherheit wurde (im Gegensatz zu der des Tolcapon) auch in Phase IIIb-Studien nicht widerlegt. Die pharmakokinetischen Eigenschaften des Wirkstoffs, die eine mehrmals tägliche Applikation erforderlich machen, zeigen jedoch deutlichen Verbesserungsbedarf an.

Neben den in diesem Kapitel vorgestellten Angriffspunkten der Pharmakotherapie des IPS, spielen zusätzlich GABA-erge, glutamaterge und adenosinvermittelte Signalübertragungen in den Basalganglien eine Rolle. Xenobiotika, die diese Signalwege im ZNS modulieren, stehen derzeit im Fokus der Arzneimittelentwicklung[90].

Darüber hinaus beschäftigt sich die universitäre und industrielle Forschung mit der Optimierung der medikamentösen Behandlung des Morbus Parkinson mit den bereits zur Verfügung stehenden Wirkstoffen. Die vorliegende Arbeit soll einen Teil zu diesen Bemühungen beitragen, indem sie eine anwendungsbezogene Anpassung der pharmakokinetischen Eigenschaften des COMT-Hemmers Entacapon durch Einbettung in ein Prodrug zu verwirklichen anstrebt. In der Literatur sind zu diesem Thema bereits einige Veröffentlichungen zu finden, die Basis dieser Arbeit sind und an den entsprechenden Stellen ausführlich vorgestellt werden.

* Die ortho-ständige Nitrofunktion übt einen starken -I und -M-Effekt auf die benachbarte OH-Gruppe aus und verursacht somit den ungewöhnlich niedrigen pK_a-Wert des Phenols.

Der folgende Abschnitt befasst sich mit der Vorstellung allgemeiner Prodrugprinzipien und soll einen Überblick über die Möglichkeiten einer derartigen Modifizierung für den vorliegenden Fall schaffen.

1.3 Prodrugs

1.3.1 Definition

Bei der Entwicklung von Arzneimitteln wird üblicherweise erst in einer späten Phase, nach ausgedehnten *in vitro* Screeningversuchen zur Ermittlung der Pharmakodynamik, ein pharmakokinetisches Profil von potenten Wirkstoffen erstellt. So gut die pharmakodynamischen Eigenschaften einer Verbindung sein mögen, sie kommen nicht zum Tragen, wenn die pharmakokinetischen Parameter eine mangelhafte Präsenz des Stoffes am Wirkort bescheinigen.

Potente Wirkstoffe mit schlechter Bioverfügbarkeit oder kurzer Wirkdauer sind in der Anwendung genauso problematisch, wie Arzneimittel mit mangelhafter Selektivität oder Verträglichkeit. Auch die Überwindung physiologischer Barrieren, wie beispielsweise der Blut-Hirn-Schranke kann ein limitierender Faktor in der Verwendung eines Xenobiotikums sein, welches alle weiteren Wirksamkeits-kriterien erfüllt. Die Mehrzahl der vielversprechenden Wirkstoffe würde daher auf der Stufe der *in vivo*-Testungen aus dem Entwicklungsprozess ausscheiden.

Die medizinische Chemie verfolgt zwei Strategien, um derartige Wirkstoffe, deren physikochemische Eigenschaften die Anwendung erschweren, erfolgreich weiterzuentwickeln. Zur Verbesserung der therapienotwendigen, pharmakokinetischen Eigenschaften ist die Synthese von Analoga mit modifizierten physikochemischen Parametern eine Variante. Eine Weitere ist die Formulierung sogenannter Prodrugs.

Der Begriff Prodrug wurde 1958 von *Albert* zur Beschreibung von nicht oder nur schwach wirksamen Substanzen geprägt, die *in vivo* in ihre eigentliche Wirkform, einen aktiven Metaboliten, überführt werden[91].

Prodrugs verhalten sich auf biochemischer Ebene wie Trojanische Pferde. Sie sind hinsichtlich ihrer pharmakokinetischen Eigenschaften der Muttersubstanz überlegen und erhöhen die Konzentration des

Wirkstoffs am Wirkort*. Der Ort der Biotransformationsreaktion, die den aktiven Metaboliten hervorbringt, ist dabei nicht festgelegt.

Ein klassisches Schema zur Verdeutlichung des Prodrug-Prinzips ist in Abb. 1-14 wiedergegeben. Im Mittelpunkt dieses Schemas steht die verbesserte Permeation einer Barriere. Dies kann die Blut-Hirn-Schranke, die Darmmukosa oder die Biomembran der Targetzelle sein.

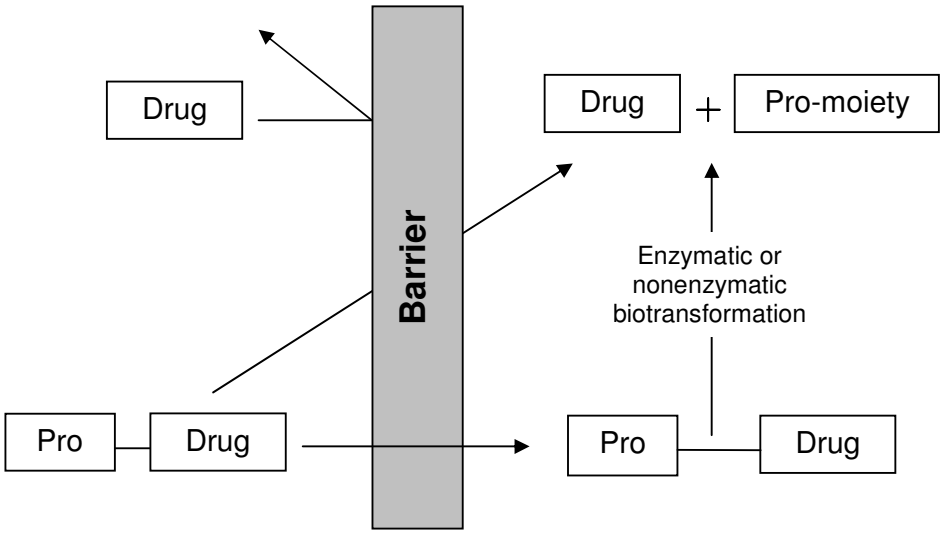


Abb. 1-14: Prodrug-Prinzip nach *Bundgaard*[93].

Weitere Anwendungsbeispiele von Prodrugs zielen nicht auf die verbesserte Passage einer physiologischen Barriere ab sondern dienen der Maskierung eines schlechten Geruchs oder Geschmacks. Die Steigerung der Compliance, die sich durch die größere Akzeptanz des Arzneimittels ergibt, erfüllt jedoch in letzter Instanz dasselbe Ziel.

* Die idealen physikochemischen Eigenschaften zur vollständigen Resorption eines Wirkstoffs oder eines Prodrugs sind maßgeblich vom Applikationsort und von der Applikationsart abhängig. So muss eine Substanz zur transdermalen Verabreichung hinreichend lipophile Eigenschaften zur Überwindung der dermalen Barriere besitzen[92], während von einem Wirkstoff zur parenteralen Anwendung meist eine überdurchschnittliche Wasserlöslichkeit erwartet wird. Darüber hinaus erfüllt ein ideales Prodrug die durch die gewählte Applikationsform vorgegebenen Stabilitätskriterien (Beständigkeit in Lösung bei unterschiedlichen pH-Werten und ausreichende Lagerstabilität).

Die Umwandlung des Prodrugs in seine Wirkform, auch Bioreversibilität genannt, kann durch physikochemische oder enzymatische Prozesse erfolgen und sollte möglichst vollständig sein, da der Anteil an nicht umgewandeltem Prodrug die zur Verfügung stehende Wirkstoffmenge reduziert.

Unterschiede in der Art der Freisetzung können zur Differenzierung zweier grundlegend verschiedener Prodrugtypen herangezogen werden:

- Prodrugs, die über einen zusätzlichen Rest verfügen, der hydrolytisch entfernt werden kann und
- Prodrugs, die eine komplexere, metabolische Bioaktivierung durchlaufen

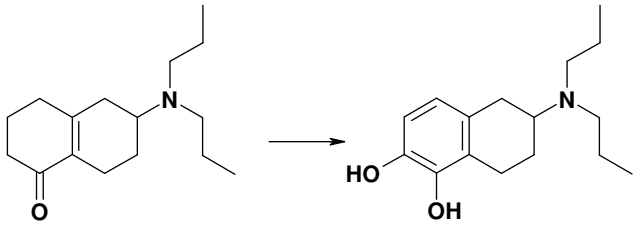
Der Arzneimittelschatz offenbart viele Beispiele beider Prodrugprinzipien, von denen einige ausgewählte Vertreter, sowie deren Freisetzungsmechanismen in dem folgenden Kapitel vorgestellt werden.

1.3.2 Beispiele

Wirkstoffe, die durch eine komplexe, metabolische Giftungsreaktion in ihre eigentliche Wirkform überführt werden, sind Vertreter unterschiedlichster Indikationsgebiete. Ihre Vorstellung wird im Rahmen dieser Arbeit kurz ausfallen, da sie für die zu bearbeitende Aufgabenstellung (vgl. Kap. 2) von untergeordneter Relevanz sind.

Der bekannteste Vertreter, das **Levodopa** (Dopaflex®), welches durch eine enzymatische Decarboxylierungsreaktion in den aktiven Metaboliten Dopamin überführt wird, ist bereits in Kapitel 1.2.5.1 vorgestellt worden*.

Eine oxidative Giftung erfährt der neue, vielversprechende Dopaminagonist **S-PD 148903**, der sein weltweites Patent 2001 erhielt[95].



S-PD 148903 **S-5,6-diOH-DPAT**

Abb. 1-15: Oxidative Bioaktivierung des D1/D2-Agonisten-Prodrugs S-PD 148903[96].

Der Aminohexahydronaphthalinon-Grundkörper† wird nach der Passage der Blut-Hirn-Schranke im ZNS in den aktiven Metaboliten S-5,6-diOH-DPAT überführt[98], der ein Strukturanalogon des bereits

* Etilevodopa, der Ethylester des L-DOPA, hat eine verbesserte Bioverfügbarkeit und ist ein Prodrug eines Prodrugs. Er besitzt jedoch keine klinische Relevanz[94].

† Um eine Verlängerung der Wirkzeit zu erreichen, entwickelten *Venhuis und Mitarbeiter* ein Oximprodrug des cyclischen Ketons. Die Freisetzung des aktiven Metaboliten erfolgt kaskadenartig, indem das Keton nach erfolgter Resorption durch Hydrolyse in Freiheit gesetzt wird und sich nach Passage der Blut-Hirn-Schranke die oxidative Giftung nach Abb. 1-15 anschließt[97].

vorgestellten Dopaminagonisten **Rotigotin** (Neupro®) darstellt (vgl. Abb. 1-15). Als Zwischenstufe wird ein α-hydroxyliertes Enon angenommen[96]. Das cyclische Catecholamin inkorporiert die Struktur des Dopamins und wirkt als D1/D2-Agonist.

Ein weiteres Beispiel ist die Giftungsreaktion des Zytostatikums **Cyclophosphamid** (Endoxan®):
der erste Schritt der Bioaktivierung ist eine enzymatische Ringhydroxylierung zum Halbaminal, welches anschließend unter Freisetzung des biologisch aktiven Agens spontan zerfällt (Abb. 1-16).

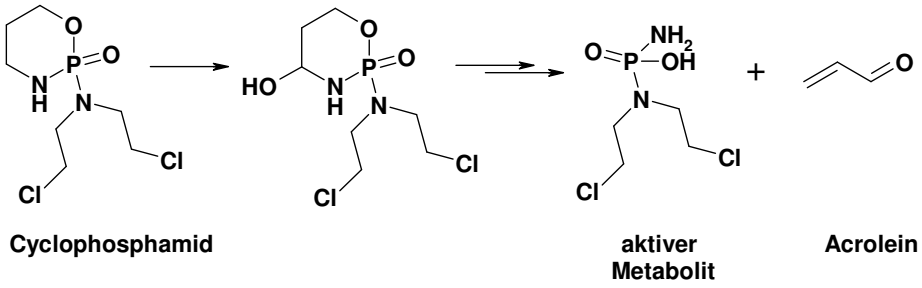


Abb. 1-16: Vereinfachte Darstellung der Bioaktivierung von Cyclophosphamid (nach *Neumann*[99]).

Besonders interessant ist der säurekatalysierte Bioaktivierungsmechanismus des H^+/K^+-ATPase-Hemmers **Omeprazol** (Nexium®, vgl. Abb. 1-17). Die metabolische Umwandlung des Sulfinylbenzimidazol-Derivats, die in den Belegzellen der Magenwand stattfindet, erfüllt gleichzeitig die Kriterien des sog. Drug-Targeting*, da sich der Wirkstoff pH-abhängig in diesem Gewebe anreichert.

Die säurekatalysierte Giftungsreaktion findet nur in den Belegzellen und Sekretionskanälchen (pH = 0,8) statt. Erst auf der Stufe des Sulfenamids, welches im Gleichgewicht mit der Sulfensäure steht, ist der Wirkstoff in der Lage, das Targetenzym durch Ausbildung einer Disulfidbrücke mit einem Cysteinrest irreversibel zu hemmen[100].

* Der Begriff Drug-Targeting beschreibt eine aktive oder passive Anreicherung des Wirkstoffs in dem Gewebe, in dem die Wirkung stattfinden soll.

Um eine vorzeitige Bioaktivierungsreaktion im sauren Milieu des Magens zu verhindern, müssen Omeprazol-Zubereitungen in magensaftresistenten Darreichungsformen angewendet werden.

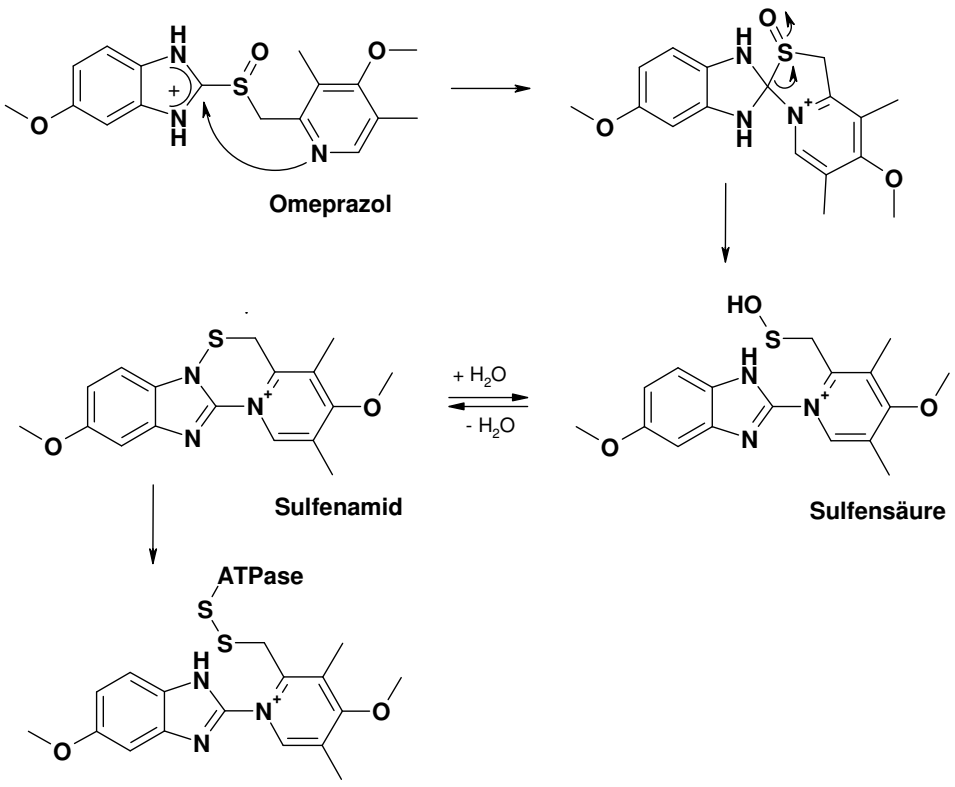


Abb. 1-17: Bioaktivierung des H^+/K^+-ATPase-Hemmers Omeprazol (nach *Shin*[100]).

Prodrugvertreter, die durch hydrolytische oder enzymatische Abspaltung eines Rests in die aktive Form überführt werden*, werden (geordnet nach Stoffklassen der abzuspaltenden Reste) anhand einzelner Vertreter vorgestellt:

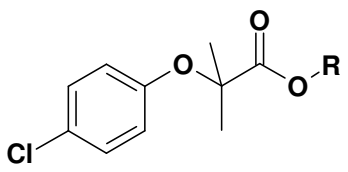
* Diese Art von Prodrug-Resten sind vergleichbar mit den sog. Schutzgruppen, die in der organischen Synthese (insbesondere in der Peptidchemie) Anwendung finden, um einzelne Teile eines Moleküls selektiv vor den Einwirkungen bestimmter Reaktionsbedingungen zu schützen.

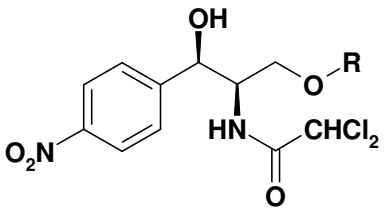
1.3.2.1 Alkyl- und Arylester

Estergruppen werden in der pharmazeutischen Chemie häufig zur Formulierung von Prodrugs verwendet. Dies liegt unter anderem an der Vielzahl der Esterasen, die in unterschiedlichen Geweben eine enzymatische Freisetzung der aktiven Komponente bewirken können. Ferner trägt die säure- oder basenkatalysierte Hydrolyse zur Bioaktivierung der Prodrugs bei. Estergruppen können sowohl zur Maskierung einer alkoholischen Funktion als auch zum reversiblen Schutz einer Säuregruppe herangezogen werden.

Wirkstoffe mit einer Säurefunktion liegen beim neutralen bis schwach basischen pH-Wert des Dünndarms in der polaren, deprotonierten Form vor. So sind diese nicht in der Lage, Biomembranen durch passive Diffusion zu überwinden, was sich in einer schlechten Bioverfügbarkeit dieser Substanzen niederschlägt.

Das Prodrug **Clofibrat**[*] (Regelan®), das zur Senkung des Triglycerid- und Cholesterinspiegels eingesetzt wurde, ist ein klassischer Vertreter dieser Prodrug-Klasse (Abb. 1-18). Die Bioverfügbarkeit des Esters liegt bei ca. 99%[101].





R = -H **Clofibrinsäure**
R = -C_2H_5 **Clofibrat**

R = -H **Chloramphenicol**
R = -C=O$(CH_2)_{14}CH_3$ **Chloramphenicolpalmitat**

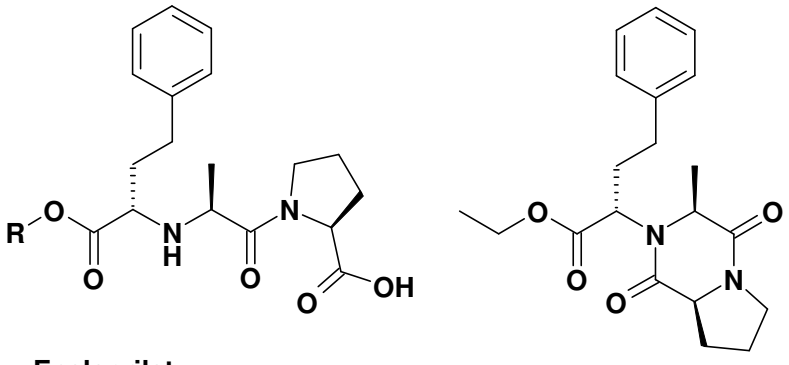
Abb. 1-18: Clofibrinsäure und Chloramphenicol mit ihren Esterprodrugs.

[*] Die Wirkstoffgruppe der Fibrate wurde in den 60er Jahren des vergangenen Jahrhunderts entwickelt und stellte ein Meilenstein in der Behandlung der Hypercholesterinämie und den damit verbundenen Folgeerkrankungen dar. Eine erhöhte Mortalität und der Verdacht der Kanzerogenität zwangen den Hersteller diese Wirkstoffe vom Markt zu nehmen.

Chloramphenicol (Paraxin®) wird ebenfalls in Form eines Prodrugs auf den Markt gebracht. Der lipophile Palmitinsäureester wurde nicht zur Verbesserung des pharmakokinetischen Profils entwickelt, sondern dient der Maskierung des bitteren Geschmacks. Die Spaltung des Fettsäureesters findet bereits im Zwölffingerdarm statt* und hat keinen Einfluss auf das Schicksal des Wirkstoffs *in vivo*[103].

Hemmstoffe des Angiotensin-Konversions-Enzymes (ACE-Hemmer) zur Behandlung der Hypertonie gehören zum großen Teil zur Gruppe der Esterprodrugs, die durch enzymatische Hydrolyse in der Leber eine für die Wirkung essentielle Säurestruktur freigeben. Die freie Säure wird nicht resorbiert (orale Bioverfügbarkeit <10%)[104].

Exemplarisch ist in Abb. 1-19 das **Enalapril**† (Xanef®) dargestellt. Die Säuregruppe der Prolinpartialstruktur stört die Resorption nicht, da aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu Dipeptiden aktive Transportmechanismen zur Resorption aus dem Dünndarm genutzt werden[105]. Im Gegenteil: Eine Veresterung der Säuregruppe begünstigt aufgrund der gesteigerten Carbonylaktivität eine intramolekulare Kondensationsreaktion zum inaktiven Diketopiperazin[106].



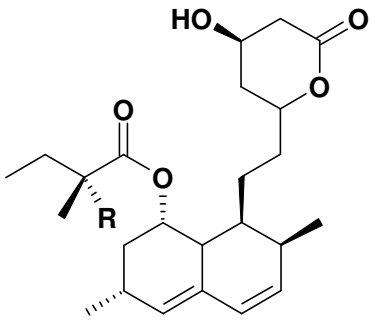
R = -H **Enalaprilat**
R = -C_2H_5 **Enalapril**

Diketopiperazin

Abb. 1-19: Der ACE-Hemmer Enalaprilat mit seinem Prodrug, sowie das intramolekulare Kondensationsprodukt (rechts).

* Es muss jedoch auf das Vorliegen unterschiedlicher Polymorphe des Palmitinsäureesters hingewiesen werden, die ein sehr unterschiedliches Freisetzungsverhalten zeigen[102].
† Dieses besitzt eine gegenüber der freien Säure sechsfach gesteigerte Bioverfügbarkeit[104].

Die Statine **Lovastatin** (Mevinacor®) und **Simvastatin** (Zocor®) beinhalten in ihrer Wirkform eine β-Hydroxycarbonsäurefunktion als Strukturanalogon zur Mevalonsäure*, deren Synthese sie hemmen. In der Prodrug-Form ist diese Funktionalität in einen Lactonring inkorporiert, welcher die aktive, ringoffene Form im Zielorgan (Leber) hydrolytisch freigibt[107].



R = -H	**Lovastatin**
R = $-CH_3$	**Simvastatin**

Abb. 1-20: Cholesterolsynthese-Enzym-Hemmstoffe (CSE-Hemmer).

Systematische Derivatisierungen von Arzneistoffen mit alkoholischen oder phenolischen Gruppen im Sinne der vorgestellten Esterprodrugs zeigten den Einfluss von Kettenlänge und Verzweigungsgrad des Prodrug-Rests auf das Freisetzungsprofil des Arzneistoffs. Sie führten zur Formulierung qualitativer Struktur-Wirkungs-Beziehungen. So zeigt die Hydrolysegeschwindigkeit unverzweigter Acylprodrug-Derivate ein Maximum bei mittleren Kettenlängen des Acylrests. In der homologen Reihe der Esterprodrugs des β-Blockers **Propranolol** (Dociton®) zeichnete sich der Hexansäureester durch eine besonders hohe Umwandlungsgeschwindigkeit aus[108].

Eine Verzweigung des Acylsubstituenten führt zur Verzögerung der Hydrolyse. So ist der Pivalinsäureester des **Oxprenolols** (Trasicor®)

* Mevalonsäure ist eine Zwischenstufe der physiologischen Cholesterolbiosynthese. Statine hemmen den anabolen Prozess auf dieser Stufe durch Interaktion mit dem Enzym Hydroxymethylglutaryl-CoenzymA-Reduktase (HMG-CoA-Reduktase).

um den Faktor 100 stabiler als dessen unverzweigtes Analogon (Valeriansäureester)[109].

Eine Möglichkeit zur Synthese wasserlöslicher Esterderivate ist die Verwendung von Aminosäuren als Acylkomponente. Der Valin-Ester des **Aciclovir**s (Zovirax®) ist unter dem Namen **Valaciclovir** (Valtrex®) in peroralen Zubereitungen im Handel. Die Prodrug-Formulierung zeigt eine 3-fach gesteigerte Bioverfügbarkeit des Virustatikums bei nahezu vollständiger Bioreversibilität[110].

Die hydrophile Aminogruppe verleiht dem Prodrug die gewünschte Wasserlöslichkeit, bringt jedoch auch eine sehr geringe Hydrolysestabilität in wässrigen Lösungen mit sich. Maßgebliche Ursache ist der autokatalytische Effekt, den die Aminogruppe auf die benachbarte Esterfunktionalität ausübt (vgl. Abb. 1-21). Darüber hinaus ist der elektronenziehende Effekt der Stickstofffunktion nicht zu unterschätzen.

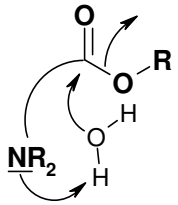
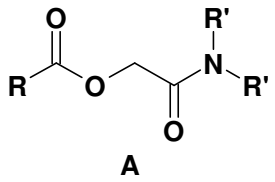


Abb. 1-21: Mechanismus der autokatalysierten Hydrolyse von Aminosäure-Estern nach *Bundgaard*[111].

Eine Untersuchung von Esterprodrugs antiinflammatorischer Wirkstoffe ergab eine besondere Biolabilität von *N*,*N*-disubstituierten Glykolamid-Estern der allgemeinen Struktur **A** (vgl. Abb. 1-22). *Bundgaard und Mitarbeiter* zeigten, dass die Halbwertzeiten derartiger Prodrugs bei wenigen Sekunden bis Minuten liegen und somit für die Formulierung bioreversibler Prodrugs vielfach besser geeignet sind, als die z. T. sehr stabilen, einfachen Alkylester[112].



A

R = Grundgerüst des Wirkstoffs
R' = $-C_2H_5$, $-CH_3$

Abb. 1-22: Ester von *N*,*N*-disubstituierten Glykolamiden.

Die Insertion eines Stickstoffatoms in α-Stellung zur Carbonylgruppe führt zur Gruppe der Alkylaminocarbonylderivate (Carbamate), welche für die Prodrugentwicklung interessante Eigenschaften aufweist.

1.3.2.2 Alkyl- und Arylcarbamate

Eine reversible Maskierung von aliphatischen Alkoholen durch Einbindung in eine Urethanstruktur ist nicht möglich, da diese Verbindungen a priori zu stabil sind[113].

Anders ist die Situation im Falle von Arzneimitteln mit aromatischen OH- oder NH_2-Gruppen. Ihre Einbettung in Carbamatprodrugs liefert Verbindungen, die einer chemischen und/oder enzymatischen Hydrolyse zugänglich sind. Von besonderem Interesse sind in diesem Kapitel Arzneistoffe, deren phenolische OH-Gruppe in eine Urethanstruktur inkorporiert ist.

Je nach Substitution des Stickstoffatoms innerhalb der Carbamatstruktur werden unterschiedliche Hydrolysemechanismen postuliert. Hierdurch lassen sich die signifikanten Unterschiede bzgl. der Freisetzungsgeschwindigkeit der Carbamatprodrugs erklären. *N*,*N*-disubstituierte Carbamate werden nach einem nukleophilen Angriff von Hydroxylionen durch Spaltung der C-O-Bindung in eine freie Carbaminsäure überführt (vgl. Abb. 1-23, Reaktionsweg*), welche unter Freisetzung von CO_2 spontan in die entsprechende Aminkomponente zerfällt[114].

N-monosubstituierte Carbamate können darüber hinaus einem Hydrolysemechanismus analog Abb. 1-23 (rechts) mit einem Isocyanat-Intermediat unterliegen. Dieser Hydrolysemechanismus verläuft schneller als der beschriebene Zerfall der *N*,*N*-disubstituierten Vertreter[114].

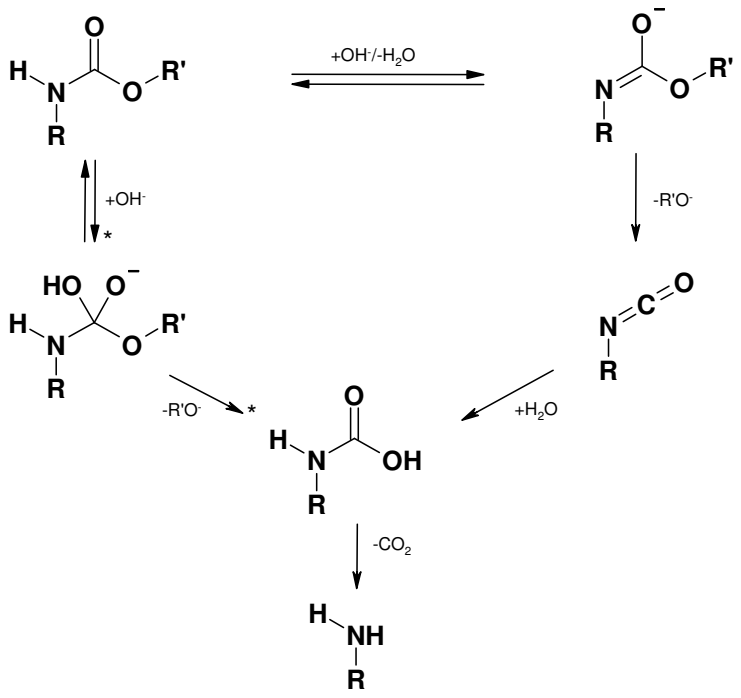
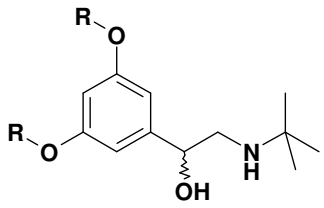


Abb. 1-23: Basenkatalysierte Freisetzung von *N*-monosubstituierten Carbamaten (*N*,*N*-disubstituierte Carbamate werden ausschließlich analog dem linken Hydrolysemechanismus* freigesetzt, H = R) [114].

Eine weitere interessante Eigenschaft der Carbamate ist ihr inhibitorisches Verhalten gegenüber Cholinesterasen. Die Cholinesteraseinhibitoren **Pyridostigmin** (Kalymin®) und **Neostigmin** (Neostig®) beispielsweise verfügen über eine *N*,*N*-Dimethylcarbamat-Struktur als Pharmakophor. Da die enzymatische Freisetzung des Arzneistoffs aus einem Carbamatprodrug durch Esterasen erfolgt, zu denen auch die Cholinesterasen zählen, bleibt eine Hemmung der Enzymaktivität für das Freisetzungsprofil nicht ohne Auswirkungen, wie das folgende Beispiel illustriert.

Der Resorcin-Rest des oral applizierbaren β_2-Sympathomimetikums **Terbutalin** (Bricanyl®) unterliegt bei der ersten Leberpassage in großem Umfang einer Phase-II-Verstoffwechselung. Um diesen first-pass-Effekt zu umgehen und eine längere Wirkdauer zu gewährleisten*, wurde das Bis-(*N*,*N*-dimethylcarbamat)-Prodrug **Bambuterol** (Bambec®, vgl. Abb. 1-24) entwickelt. Neben seinem verbesserten Nebenwirkungsprofil kommt ein daraus resultierendes, vereinfachtes Einnahmeschema der Compliance zugute[115].



R = -H	**Terbutalin**
R = -C=ON$(CH_3)_2$	**Bambuterol**
R = -C=OCH$(CH_3)_2$	**Ibuterol**

Abb. 1-24: Terbutalin und seine Prodrugs.

Bambuterol zeigt die erwartete cholinesteraseinhibitorische Aktivität insbesondere gegenüber der Butyrylcholinesterase (Pseudocholinesterase, EC 3.1.1.8). Untersuchungen von *Tunek und Mitarbeitern* ergaben, dass das Prodrug durch reversible Carbamoylierung des aktiven Zentrums seine eigene Metabolisierung hemmt† und damit die Freisetzungszeit zusätzlich verlängert[118].

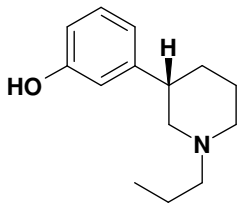
Im Vergleich der Halbwertzeiten der beiden isosteren Terbutalin-Prodrugs Ibuterol (Bisisobutansäure-Ester, $t_{1/2}$<1h) und Bambuterol

* Asthma-Anfälle treten besonders häufig in den frühen Morgenstunden auf. Eine verlängerte Wirkdauer wird angestrebt, damit die vor dem Schlafengehen eingenommene Wirkstoffmenge auch zu dieser Zeit noch wirksam ist.

† Die Enzymhemmung des Bambuterols gegenüber der Butyrylcholinesterase übertrifft mit einem IC_{50}-Wert von 3 nM die Hemmaktivität des unselektiven Cholinesterasehemmers Physostigmin (13 nM[116]). Der inhibitorische Effekt auf die Acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7) ist 10 000-fach geringer (IC_{50}: 30 µM). Eine Hemmung dieser spezifischen Cholinesterase, infolgedessen der Abbau des Neurotransmitters Acetylcholin verzögert würde, führt zu einer Exazerbation des asthmatischen Leidens[117], was unbedingt vermieden werden soll.

(Bis-(*N*,*N*-dimethylcarbamat), $t_{1/2}$>10h) zeigt sich der Effekt der Enzymhemmung sehr deutlich. Ein weiterer Faktor, der zu dieser Diskrepanz hinsichtlich der Plasmahalbwertzeiten beiträgt, ist die höhere Hydrolysestabilität des Urethans im Vergleich zum Ester, da die Insertion eines resonanzfähigen Heteroatoms die Reaktivität der Carbonylfunktion senkt[119].

Ein sehr dominanter first-pass Metabolismus des Wirkstoffs **Preclamol**[*] ((-)-3-(3-Hydroxyphenyl)-*N*-propylpiperidin, (-)-3-PPP) veranlasste eine Gruppe schwedischer Forscher zur Entwicklung potentieller Prodrugs, indem sie die phenolische OH-Gruppe in eine Urethan-Struktur inkorporierten. Die Formulierung von qualitativen Struktur-Wirkungs-Beziehungen zeigte die Überlegenheit *N*-mono-substituierter Carbamate gegenüber ihren disubstituierten Analoga. Letztere erwiesen sich als zu stabil gegenüber einer Giftungsreaktion *in vivo*[121].



Preclamol

Abb. 1-25: (-)-3-(3-Hydroxyphenyl)-*N*-propylpiperidin.

Die gezeigten Beispiele der Carbamat-Prodrugs illustrieren die Stabilitätsunterschiede der *N*-mono- und *N*,*N*-disubstituierten Vertreter. Generelle Aussagen bezüglich der Anwendbarkeit dieser Substanzklassen können jedoch nicht getroffen werden. Die Variabilität hinsichtlich des Substitutionsmusters der Prodrug-Gruppe eröffnet eine Bandbreite an Freisetzungsprofilen, die darüber hinaus

[*] Der präsynaptische Dopaminautorezeptoragonist wurde ursprünglich als Antipsychotikum entwickelt, bevor seine Wirksamkeit bei Patienten mit Morbus Parkinson getestet wurde[120].

maßgeblich von den physikochemischen Eigenschaften der Muttersubstanz geprägt werden.

1.3.2.3 Alkyl- und Arylcarbonate

Die Einbindung alkoholischer oder phenolischer Funktionen in einen gemischten Diester der Kohlensäure führt zur Substanzklasse der Carbonate.

Der Freisetzungsmechanismus der Carbonate erfolgt basen- oder enzymkatalysiert analog der Hydrolyse der *N*,*N*-disubstituierten Carbamate (vgl. Abb. 1-26). Neben dem aktiven Metaboliten (ROH) werden CO_2 und ein Alkohol (R'OH) freigesetzt (vgl. Abb. 1-26).

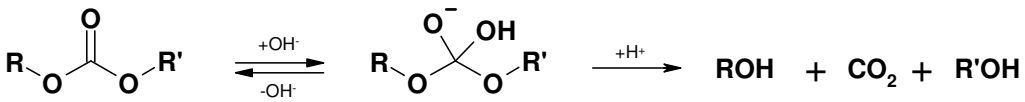
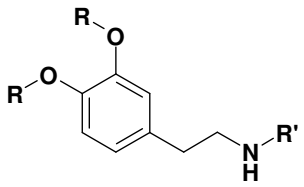


Abb. 1-26: Mechanismus der basenkatalysierten Degradierung von Carbonat-Prodrugs nach *Dittert und Mitarbeitern*[114].

Die beobachteten Geschwindigkeitskonstanten liegen zwischen denen der *N*-mono- und *N*,*N*-disubstituierten Carbamate[114].

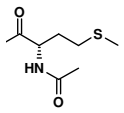
Die Catecholstruktur und das primäre Amin des **Dopamin**s* stehen nach systemischer Applikation im Fokus der katabolen Umwandlung durch COMT bzw. MAO (vgl. Kap. 1.2.5.1). Darüber hinaus wird in einer Phase-II-Reaktion, katalysiert durch die Sulfotransferase, eine Sulfatgruppe von dem Coenzym Phosphoadenosin-5'-phosphosulfat (PAPS) auf eine OH-Gruppe übertragen und somit ein renal eliminierbarer Metabolit erhalten.

* Dopamin wird zur Behandlung drohender Schockzustände, hypotensiver Episoden sowie bei bevorstehendem Nierenversagen angewendet. Zu diesem Zweck stehen parenteral applizierbare Lösungen, jedoch keine oral verfügbaren Zubereitungen, zur Verfügung. Die Verstoffwechselung des biogenen Amins findet bereits in erheblichem Umfang im Intestinum und beim ersten Durchtritt durch die Leber statt (orale BV: 3%).



R, R' = -H

R = -(C=O)OC$_2$H$_5$, R' =



Dopamin

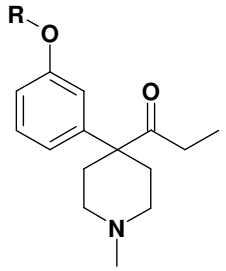
***N*-(*N*-Acetyl-L-methionyl)-*O*,*O*-bis-ethoxycarbonyldopamin**

Abb. 1-27: Dopamin und sein oral verfügbares Prodrug[122].

Beide Strukturelemente des Dopamins wurden von *Murata und Mitarbeitern* durch Einfügen unterschiedlicher Funktionalitäten geschützt (vgl. Abb. 1-27)[122]. Die Catecholstruktur ist in dem erhaltenen Prodrug Teil eines unsymmetrischen Kohlensäureesters und zeigt schon nach 30 min eine vollständige Bioreversibilität im Plasma. Die stabilere Amidfunktion, in die das primäre Amin des Neurotransmitters eingebunden ist, wird enzymatisch gespalten. Die Kombination der Prodrugprinzipien führt zu einem oral applizierbaren Wirkstoff, der nach einer Stunde einen maximalen Plasmaspiegel hervorruft und die Bioverfügbarkeit des Dopamins verzehnfacht (orale BV: ca. 30%)[122].

Carbonate des Opioidanalgetikums **Ketobemidon**[*] (Ketogan®) zeigen eine Plasmahalbwertzeit von wenigen Sekunden, ermöglichen aber durch Erhöhung der Lipophilie eine Resorption des Wirkstoffes über die Mundschleimhaut. Die buccale Anwendung des Prodrugs zeigt einen schnelleren Wirkungseintritt und umgeht den first-pass-Metabolismus, dem die Muttersubstanz unterliegt[123].

[*] Das Analgetikum ist besonders in den skandinavischen Ländern weit verbreitet.



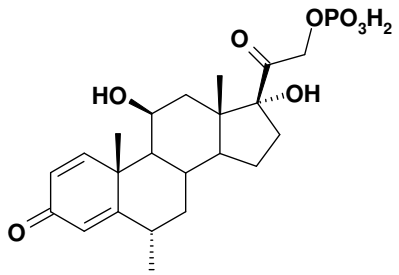
R = H-	**Ketobemidon**
R = $C_2H_5O(C=O)$- oder $(CH_3)_2CHO(C=O)$-	**Carbonatprodrugs des Ketobemidon**

Abb. 1-28: Ketobemidon und sein Ethyl- bzw. Isopropylcarbonat-Prodrug.

1.3.2.4 Ester anorganischer Säuren

Eine Veresterung mit Phosphorsäure oder Schwefelsäure erhöht üblicherweise die Wasserlöslichkeit von Arzneistoffen. Auf diese Weise werden parenterale Zubereitungen lipophiler Wirkstoffe zugänglich, die deren Indikationsspektrum erweitern.

Ein Beispiel ist das Monophosphat des **Methylprednisolons** (Advantan®). Als parenterale Zubereitung wird es zur Behandlung des anaphylaktischen Schocks oder des Status asthmaticus verwendet. Der Ester der anorganischen Säure ist gut wasserlöslich und wird im Plasma mit einer Halbwertzeit von 3-4 min in das Glucocorticoid umgewandelt, was den Anforderungen der notfallmedizinischen Indikation gerecht wird[124].



Methylprednisolon-21-phosphat

Abb. 1-29: Wasserlösliches Prodrug des Glucocorticoids Methylprednisolon.

Auch die Catecholstruktur des **Entacapon** (Comtess®) wurde reversibel in einen Phosphorsäureester überführt. Dessen Trinatriumsalz zeigte pH-abhängig eine 20 bis 1700-fache Steigerung der Wasserlöslichkeit gegenüber der Muttersubstanz[125]. Studien an Zelllinien zeigten allerdings keine Verbesserung der resorptiven Eigenschaften des Prodrugs[126].

1.3.2.5 Acyloxyalkylester

Die Einführung einer basischen Aminofunktion in die Seitenkette des Antibiotikums Benzylpenicillin erweiterte dessen Wirkspektrum in Hinblick auf gramnegative Keime und brachte eine für die Magenpassage ausreichende Säurestabilität mit sich. Das erhaltene **Ampicillin** (Unacid®) ist daher theoretisch ein oral anwendbares Penicillin, die zwitterionische Struktur, die bei den pH-Verhältnissen am Resorptionsort vorliegt, bringt jedoch eine stark eingeschränkte Bioverfügbarkeit mit sich[103]. Eine Maskierung der Carbonsäurepartialstruktur verbessert die orale Bioverfügbarkeit*.

Mit **Pivampicillin**[128] (Miraxid®) und **Bacampicillin**[129] (Ambacamp®) wurde in den 70er Jahren das Prinzip des doppelten bzw. dreifachen Esterprodrugs verwirklicht (vgl. Abb. 1-30) und die Bioverfügbarkeit des Antibiotikums in klinisch relevantem Ausmaß gesteigert[130].

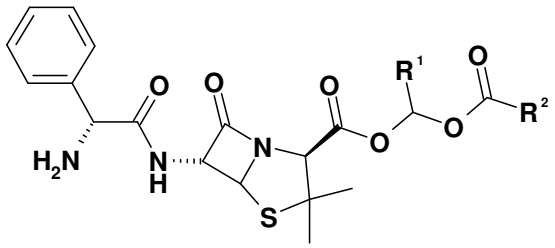


Abb.1-30: Grundkörper der Ampicillin-Prodrugs.

* Einfache Aryl- und Alkylester von Penicillin-Derivaten weisen eine zu hohe Stabilität gegenüber enzymatischer Hydrolyse in humanem Plasma auf und werden *in vivo* nicht in die Wirkform überführt[127].

	R^1	R^2
Pivampicillin	H-	$-C(CH_3)_3$
Bacampicillin	$-CH_3$	$-O-C_2H_5$

Tab. 1-2: Substitutionsmuster von Pivampicillin und Bacampicillin.

Agersborg und Mitarbeiter untersuchten die Degradierung acetalischer Prodrugs am Beispiel des Penamecillins*[132]. Der Mechanismus ist in Abb. 1-31 wiedergegeben und zeigt für das Beispiel des Pivampicillins eine zweistufige Freisetzung (links). Der erste Schritt ist die Hydrolyse der exponierten Pivalinsäureesterstruktur durch *in vivo* ubiquitär anzutreffende, unspezifische Esterasen. Dieser enzymatischen Hydrolyse schließt sich ein spontaner Zerfall des gebildeten Hydroxymethylesters (Acylal) unter Entbindung von Formaldehyd an (R^1 = H).

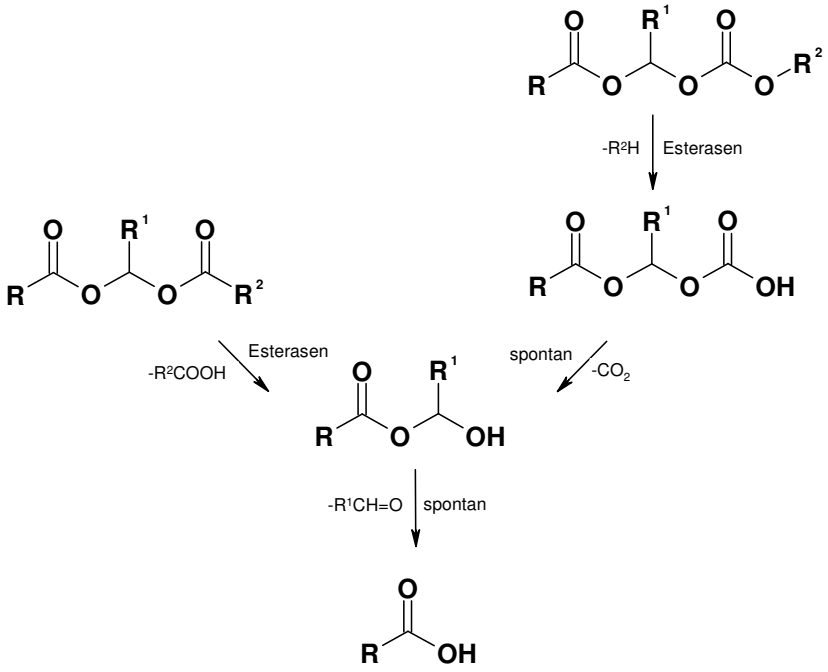


Abb. 1-31: Mechanismus der Bioaktivierung von Acylal-Prodrugs[132].

* Penamecillin ist der Acetoxymethylester des Benzylpenicillins. Er findet vornehmlich im osteuropäischen Raum Verwendung[131].

Im Bacampicillin erfolgt die Bioaktivierung dreistufig unter Freisetzung von Ethanol, Kohlendioxid und Acetaldehyd (vgl. Abb. 1-31, rechts). Der Typ des Alkyloxycarbonyloxyalkyl-Prodrugs birgt den Vorteil, dass das aus toxikologischer Sicht bedenkliche Spektrum der Nebenprodukte, die beim Abbau der Pivaloyloxycarbonylgruppe (POM-Gruppe) freigesetzt werden (Formaldehyd, Pivalinsäure), ein wenig begünstigt wird*.

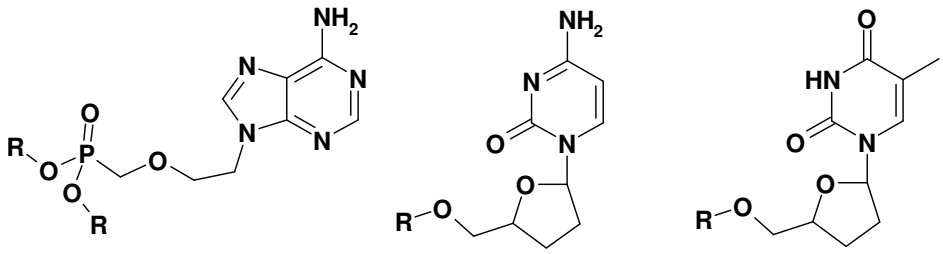
Ein weiteres Beispiel für die Anwendung des Doppel-Prodrug-Prinzips ist das Virustatikum **Adefovir**† (9-(2-Phosphonyl-methoxyethyl)-adenin, PMEA), welches eine orale Bioverfügbarkeit von weniger als 1% besitzt[135]. Konjugation zweier POM-Gruppen mit der Phosphonsäurestruktur ergibt das **Adefovirdipivoxil** (Hepsera®). Dessen Bioverfügbarkeit ist in entsprechender technologischer Formulierung auf 59% gesteigert und kann somit oral verabfolgt werden[134].

Nicht nur Säurefunktionen können mittels dieser kaskadenartig freisetzenden Prodrug-Reste geschützt werden, sondern auch OH-Gruppen:

Undheim und Mitarbeiter synthetisierten vor dem Hintergrund der mangelhaften ZNS-gängigkeit von Reverse-Transkriptase-Inhibitoren, 5'-Pivaloyloxymethylether des 2',3'-Didesoxycytidins (ddC, **Zalcitabin**, Hivid®) und -thymidins (ddT). Die Prodrugs der Pyrimidinnukleosid-Analoga (vgl. Abb. 1-32) zeigten bei der gewünschten Steigerung der Lipophilie, die für den Übertritt über die Blut-Hirn-Schranke notwendig ist, nur eine geringe Einbuße in Bezug auf ihre IC_{50}-Werte[136]. *In vivo* Studien stehen aus.

* Die Freisetzung von Acetaldehyd ist nicht vollkommen risikolos. Erhöhte Blutspiegel sind aber im allgemeinen unbedenklich, wie der Konsum von Alkohol zeigt[133]. Die Menge Acetaldehyd, die bei der Verstoffwechselung des in einem Glas Bier enthaltenen Alkohols intermediär entsteht, entspricht etwa der zehnfachen Menge Acetaldehyd, die aus einer Tagesdosis Bacampicillin freigesetzt wird.

† Adefovir selbst kann ebenfalls als Prodrug betrachtet werden. Nach Aufnahme in die vom Hepatitis-B-Virus befallene Wirtszelle, wird es in den aktiven Metaboliten Adefovir**di**phosphat überführt. Dieser vermag die viruseigene DNA-Polymerase zu hemmen, wodurch es zum Kettenabbruch der entstehenden DNA-Sequenz kommt[134].



R = H-	**Adefovir**	**Zalcitabin**	**ddT**
R = $(CH_3)_3C(C=O)OCH_2$-	**Adefovirdipivoxil**	**POM-Zalcitabin**	**POM-ddT**

Abb. 1-32: Die nukleosidanalogen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) mit ihren Prodrugs.

1.3.2.6 Codrugs

Der Begriff „Codrug“ beschreibt einen Sonderfall der Prodrugs. Die Verbindung zweier synergistisch wirkender Arzneistoffmoleküle durch direkte Kondensation oder durch Verknüpfung über einen Spacer erzeugt eine Substanz, die *in vivo* beide Wirkstoffe freisetzen kann.

Die Entwicklung von Codrugs ist an gewisse Voraussetzungen gebunden, welche diejenigen der Prodrugentwicklung weit übersteigen. Neben der offensichtlichen Grundvoraussetzung des gleichen Indikationsgebiets, muss auch ein möglichst äquimolares Dosierungsverhältnis der zu verknüpfenden Substanzen gegeben sein. Insgesamt ist die Entwicklung eines Codrugs zweier Wirkstoffe um so erfolgversprechender, je ähnlicher die pharmakokinetischen Profile der beiden sind.

Das resultierende Codrug muss analog zu den Prodrugs die pharmakokinetischen Eigenschaften der Muttersubstanzen übertreffen und bioreversibel in Bezug auf beide Wirkstoffe sein.

Diese hohen Ansprüche an die Codrug-Entwicklung erklären vermutlich die geringe Anzahl der bisher veröffentlichten Beispiele. In

der Literatur sind bislang vornehmlich die Indikationsgebiete Infektionskrankheiten und Ophthalmologie vertreten.

Für die lokale Therapie des Glaukoms wurde ein Codrug aus einem β-Blocker und einem Hemmer des $Na^+/K^+/2Cl^-$-Symports entwickelt. Die Veresterung des sekundären Alkohols im **Atenolol**molekül (Tenormin®) mit der Carbonsäurefunktion des Diuretikums **Etacrynsäure** (Hydromedin®) führt zu einer Verbindung, die über eine ausreichende Stabilität in Lösung verfügt, die Cornea in therapeutisch relevantem Ausmaß passiert und den erhöhten intraokulären Druck erfolgreich senken kann[137]. *In vivo*-Studien stehen aus.

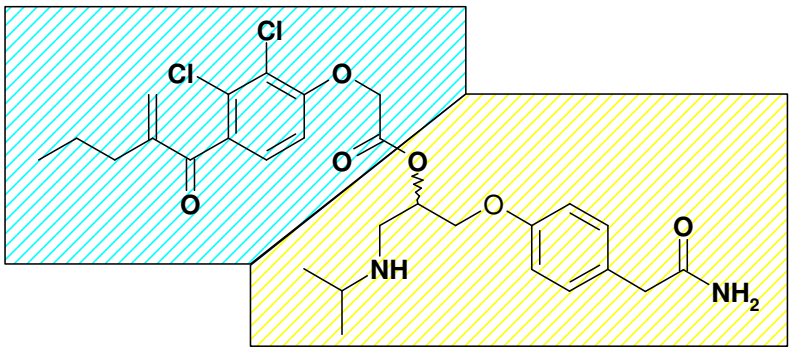


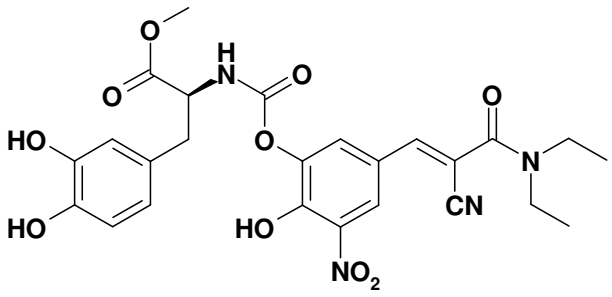
Abb. 1-33: Codrug aus Atenolol (gelb) und Etacrynsäure (blau).

Weitere Vorstöße in der Codrug-Forschung sind im Bereich der Antibiotika unternommen worden, so zum Beispiel in der Synthese eines Esters aus **Fleroxacin** (Quinodis®) und **Desacetylcefotaxim**[*] (Ro 23-9424)[138]. Die Verbindung zweier Antibiotika mit unterschiedlichen Wirkmechanismen soll in erster Linie bestehende Resistenzen umgehen.

Auch Entacapon ist im Sinne eines Codrugs derivatisiert worden. Die phenolische OH-Gruppe ist hier über eine Carbamat-Brücke mit der Aminofunktion des Levodopamoleküls verbunden (vgl. Abb. 1-34). Das erhaltene Entacapon/Levodopa-Codrug zeigte sich ausreichend

[*] Desacetylcefotaxim ist ein aktiver Metabolit des Cephalosporins Cefotaxim (Claforan®).

stabil gegen chemische Hydrolyse und entband beide Wirkstoffe nach Inkubation in einem Leber-Homogenisat[139].



Entacapon-Levodopa-Codrug

Abb. 1-34: Codrug von Entacapon.

2 Aufgabenstellung

Die schlechte Bioverfügbarkeit des in der Behandlung des Morbus Parkinson eingesetzten COMT-Inhibitors Entacapon (**1**) bewog die Firma Schwarz BioSciences GmbH im Jahr 2004 zu einem gemeinsamen Forschungsprojekt mit dem Arbeitskreis von Prof. Dr. D. Geffken (Universität Hamburg).

Die Erschließung von Prodrugs des Arzneistoffs zur Verbesserung der Resorption war Ziel dieses Projektes[*]. Im Idealfall sollte ein Entacaponderivat gefunden werden, welches den Wirkstoff *in vivo* vollständig und gleichmäßig mit ausreichender Geschwindigkeit über einen langen Zeitraum im Sinne einer sustained-release-Freisetzung entbindet.

Gegenstand dieser Arbeit ist die Synthese, Isolierung und analytische Charakterisierung unterschiedlich modifizierter Entacaponderivate für *in vitro* und *in vivo*-Testungen.

Für die Prodrug-Derivatisierung bietet sich insbesondere die Brenzcatechingruppierung an, wobei sowohl beide phenolische Hydroxylgruppen als auch nur eine reversibel verändert werden sollen.

Neben den im Arzneischatz häufig anzutreffenden einfachen Prodrugvertretern wie Estern (**8** und **9**) sollen auch komplexere Systeme wie Carbonate (**2** und **3**) und Carbamate (**5, 6** und **7**) synthetisiert werden (vgl. Abb. 2-1).

Eine Rigidisierung des Systems durch Verschluss der beiden Hydroxylgruppen mit einer 1-3 Kohlenstoffatome enthaltenden Kette ist ebenfalls Teil der Aufgabenstellung (**10**).

[*] *Forsberg und Mitarbeiter* konnten in einer Bioverfügbarkeitsstudie mit unterschiedlichen Entacapon-Formulierungen zeigen, dass die Verbesserung der Resorption eine Steigerung des pharmakodynamischen Effekt, also der COMT-Hemmung, bewirkt[140].

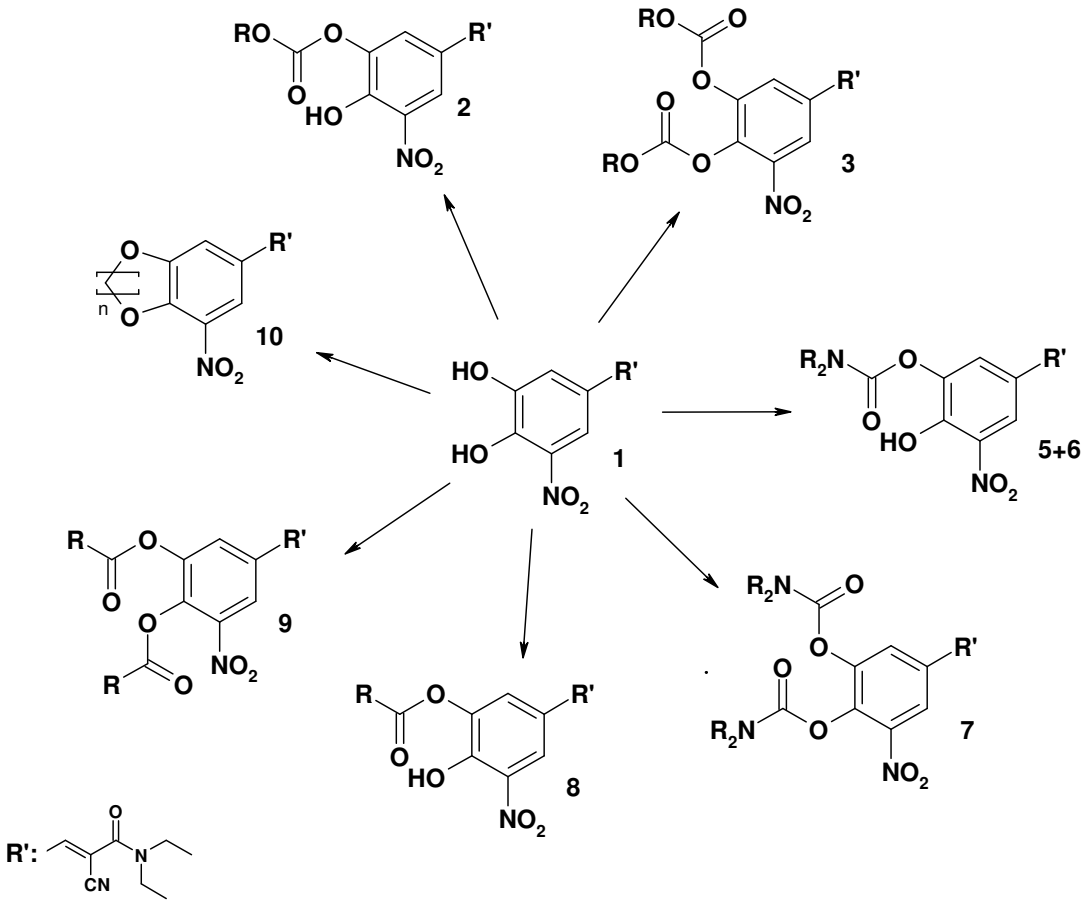


Abb. 2-1: Geplante Prodrugs des Entacapons (**1**) (n = 1-3).

Da die Aufnahme des Prodrugs nach dem derzeitigen Stand des Wissens im Darmlumen erfolgt, wird insbesondere eine Erhöhung der Lipidlöslichkeit bei pH-Werten >7 angestrebt. Eine Steigerung der Wasserlöslichkeit bei niedrigen pH-Werten kann sich ebenfalls positiv auf das Resorptionsverhalten eines Arzneistoffs auswirken[*].

Im Zuge der Synthesen sollen verschiedene Strategien miteinander verglichen werden: Ausbeuten, Toxizitätsprofil der Edukte und möglicher Verunreinigungen sowie Handhabung und Dauer der

[*] Lipinskis „Rule of five“ besagt, dass sich die Wahrscheinlichkeit der schlechten Resorption eines Arzneistoffs oder eines Prodrugs drastisch erhöht, wenn die folgenden molekularen Maßzahlen überschritten werden:

- Molekülmasse >500 g/mol
- Anzahl der Wasserstoffbrückendonatoren >5
- Anzahl der Akzeptoren >10
- berechneter logP-Wert >5[141]

jeweiligen Synthesen werden im Hinblick auf eine spätere Produktion in größerem Maßstab gegeneinander abgewogen.

Die folgenden Kapitel stellen – geordnet nach Stoffgruppen – die Ergebnisse dieses Forschungsprojektes vor und geben einen Überblick über die Eigenschaften ausgewählter, vielversprechender Prodrugvertreter.

3 Prodrugs von Entacapon

3.1 Carbonate*

3.1.1 Literatur

Eine Arbeitsgruppe der finnischen Universität in Kuopio hat sich bereits in den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts mit dem Thema der Entacapon-Prodrugs beschäftigt.

Unter anderem konnten *Leppänen und Mitarbeiter* einen Vertreter der sog. Carbonate – das *tert.*-Butylcarbonat (**2-1**) – durch Umsetzung von Entacapon (**1**) mit Di-*tert.*-butyl-dicarbonat (Boc-Anhydrid, **I**) isolieren (vgl. Abb. 3-1). Das Prodrug zeigte gegenüber der Muttersubstanz eine um den Faktor 3 gesteigerte Wasserlöslichkeit und entband Entacapon im physiologischen Medium quantitativ[142].

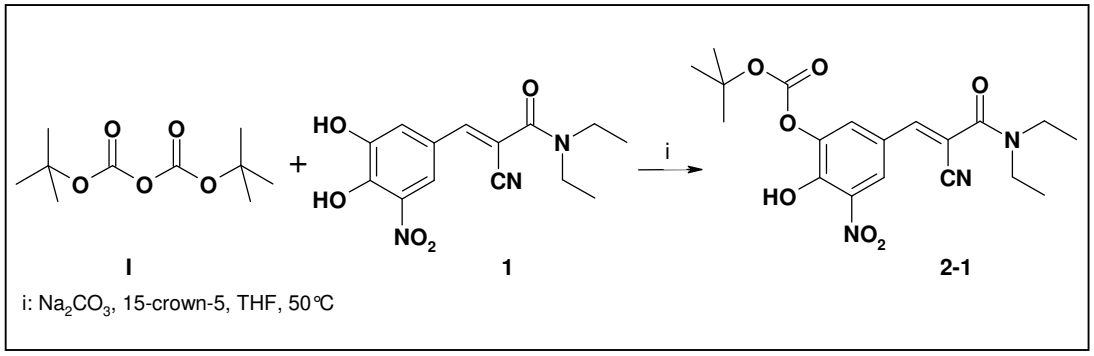


Abb. 3-1: Synthese des *tert.*-Butylcarbonats (**2-1**) nach *Leppänen und Mitarbeitern*[142].

Aufgrund der zu geringen Reaktivität des Pyrocarbonats gelang die Synthese des an beiden OH-Gruppen substituierten Vertreters unter diesen Reaktionsbedingungen allerdings nicht.

* Die Carbonate werden nach IUPAC als Kohlensäureester benannt. Um die Darstellung dieser Substanzklasse nachvollziehbar zu gestalten, werden die Derivate als Alkyl- bzw. Arylcarbonate des Entacapon bezeichnet, selbst wenn sich in dem hinzugefügten Substituenten eine Struktur höherer Wertigkeit befindet. Die nach IUPAC benannten 2-Alkyloxycarbonyloxyphenyl-substituierten Kohlensäurealkylester werden im Interesse der besseren Verständlichkeit in diesem Kapitel als „Biscarbonate“ bezeichnet.

3.1.2 Synthese

Die Ergebnisse der finnischen Arbeitsgruppe gaben den Anstoss zu der Synthese weiterer Carbonat-Prodrugs mit aliphatischen, aromatischen und funktionalisierten Resten. Ferner wurde die Darstellung der Biscarbonate geplant.

Da die Auswahl an käuflichen Dicarbonaten (analog dem Boc-Anhydrid) als unzureichend eingestuft wurde und die Stoffgruppe der Biscarbonate laut *Leppänen und Mitarbeitern* auf diesem Wege nicht zugänglich war, sollte die Darstellung weiterer Carbonatprodrugs unter Verwendung von Chlorameisensäureestern erfolgen.

3.1.2.1 Synthese von Carbonaten mit Chloroformiaten

Die Umsetzung von Entacapon mit Chlorameisensäureestern sollte theoretisch (aufgrund der gesteigerten Reaktivität des Reagenzes im Vergleich zum Pyrocarbonat) die in Position 3 oder 4* monosubstituierten Vertreter sowie die 3,4-bissubstituierten Derivate ergeben†.

Tatsächlich konnten durch geeignete Syntheseführung sowohl die in 3-Position monoacylierten Derivate als auch die Biscarbonate gewonnen werden. Monocarbonat-Prodrugs mit einer Funktionalisierung in Position 4 konnten nicht hergestellt werden.
Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen der Arbeit von *Leppänen und Mitarbeitern*, die bei der Darstellung von monoacylierten Derivaten des Entacapon (Carbonate und Ester) ebenfalls nur die in Position 3 acylierten Vertreter erhielten[142]. Die Arbeitsgruppe konnte die regioselektive Derivatisierung mittels Röntgenkristallstrukturanalyse belegen[144]. Das Verschiebungsmuster der NMR-Signale, der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen monoacylierten Entacapon-Prodrugs deckt sich mit den kernresonanz-

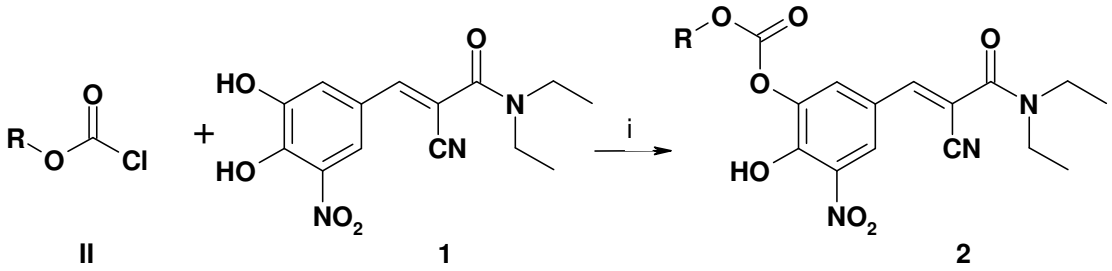
* Die Nummerierung bezieht sich auf den Entacapon-Grundkörper und wird der Übersichtlichkeit halber im Verlauf der Arbeit beibehalten. Im Prodrug ist die Nummerierung wegen der Einfügung einer Gruppe höherer Priorität verschoben. Die Ringposition 3 entspricht dann Position 1.

† *Goodman und Mitarbeiter* zeigten am Beispiel der Umsetzung von Isoprenalin – einem unselektiven β-Sympathomimetikum – mit einem Überschuss Ethylchlorformiat die erschöpfende Ethoxycarbonylierung aller Hydroxylgruppen des Moleküls[143].

spektroskopischen Daten der finnischen Arbeitsgruppe, weshalb von einer regioselektiven Derivatisierung des COMT-Hemmers in Position 3 ausgegangen werden kann*.

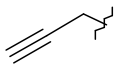
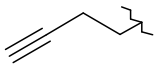
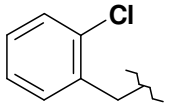
Analog ermittelten *Sin und Mitarbeiter* im Zuge der Synthese von neuen Retinsäurederivaten eine regioselektive Acylierung von 4-Nitrocatechol an der zur Nitrogruppe metaständigen Phenolfunktion[145].

Setzt man Entacapon (**1**) in Gegenwart der organischen Hilfsbase 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) bei moderatem Überschuss des Acylierungsreagenzes um, so erhält man die in Position 3 monoacylierten Derivate (**2**, vgl. Abb. 3-2). Die Synthese erfordert eine genaue Überwachung des Reaktionsverlaufes, da sich bei längerer Reaktionszeit das bisacylierte Produkt in nicht unerheblichen Umfang bildet und somit die Ausbeute des Monocarbonats verringert.



i: DBU, THF

Abb. 3-2: Synthese von Monocarbonaten mit Chlorameisensäureestern.

	R		R
2-2		**2-4**	
2-3		**2-5**	

Tab. 3-1: Monocarbonate aus der Umsetzung von Entacapon mit Chlorformiaten.

* Eine theoretische Untermauerung dieser Feststellung liefert die Stabilitätsbetrachtung des cyclischen Carbonats auf S.100.

Die Isolierung von aromatischen Carbonaten mit halogensubstituiertem Phenylkern (**2-X**, Abb. 3-3) gelang aufgrund ihrer Instabilität gegenüber Feuchtigkeit nicht. Bereits während der säulenchromatographischen Reinigung war eine Zersetzungsreaktion zu beobachten. Vermutet wird eine autokatalysierte Hydrolysereaktion. Die guten Eigenschaften als Abgangsgruppe der mit elektronenziehenden Substituenten versehenen Phenole begünstigt den Reaktionsverlauf. Die Zerfallsreaktion findet somit schon unter den milden Bedingungen der Säulenchromatographie in großem Umfang statt, was eine befriedigende Reinigung dieser Produkte unmöglich macht.

Der Mechanismus der Hydrolyse von Diphenylcarbonaten unter Beteiligung der zweiten phenolischen OH-Gruppe wurde von *Fife und Mitarbeitern* für das Carbonat des 4-Nitrobrenzcatechins postuliert[146] und ist in Abb. 3-3 für ein Entacaponprodrug (**2-X**) dargestellt.

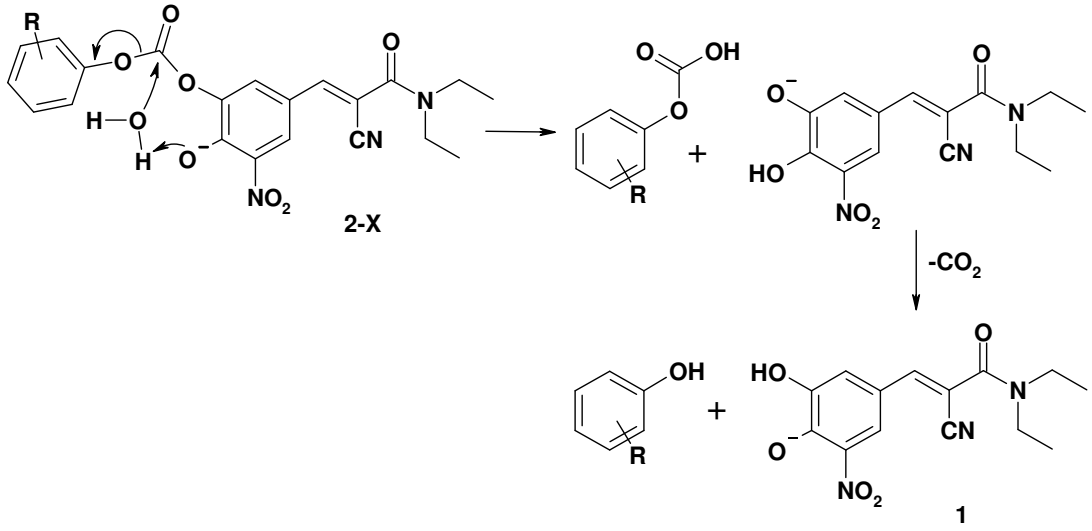
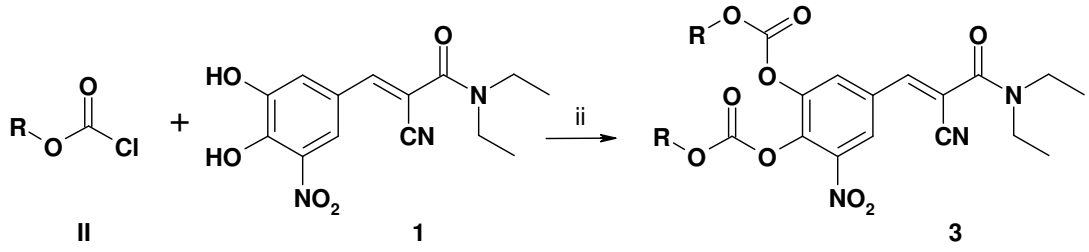


Abb. 3-3: Mechanismus der autokatalysierten Hydrolyse von Phenylcarbonaten analog *Fife und Mitarbeiter*[146].

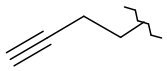
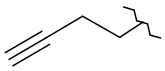
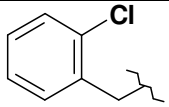
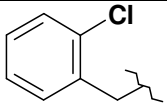
Die Verwendung eines größeren Überschusses an Chlorameisensäureester und eine längere Reaktionszeit führten zur Bildung des an

beiden phenolischen OH-Gruppen acylierten Derivats (**3**, vgl. Abb. 3-4 und Tab. 3-2).



ii: DBU, THF

Abb. 3-4: Synthese der Biscarbonate (**3**).

	R	R
3-1		
3-2		

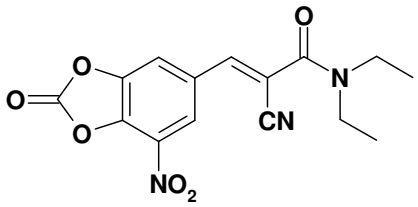
Tab. 3-2: Biscarbonate aus der Umsetzung von Entacapon mit Chlorformiaten.

Stabilitätstests der Firma Schwarz BioSciences GmbH ergaben eine mangelhafte Löslichkeit der erhaltenen Biscarbonate. Die monoacylierten Vertreter der Carbonate hingegen zeigten ein vielversprechendes physikochemisches Profil und sollten daher in größerer Zahl hergestellt werden.

Die vorgestellte Synthesemethode dieser Verbindungen musste jedoch aus zwei Gründen überdacht werden: Zum einen fand während der Umsetzung von Entacapon mit Chlorformiaten immer eine störende Nebenreaktion zu den Biscarbonaten statt, welche überdies oft nur schwer abzutrennen waren. Zum anderen war die Auswahl käuflicher Chlorameisensäureester begrenzt.

Beide Nachteile konnten durch eine alternative Synthesestrategie umgangen werden. Diese beinhaltet die Bildung eines hochreaktiven,

cyclischen Carbonats* (**4**) und dessen Ringöffnung durch Alkoholyse. Diese Strategie wird im folgenden Kapitel ausführlich vorgestellt.



4

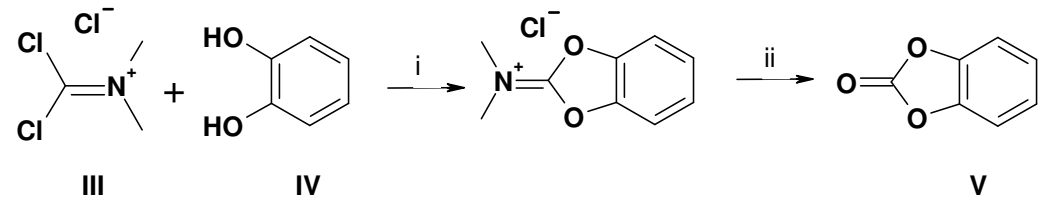
Abb. 3-5: Das cyclische Carbonat des Entacapon (**4**).

* Der Begriff „cyclisches Carbonat“ wird im Folgenden der Übersichtlichkeit halber an Stelle der IUPAC-konformen Benennung (*E*)-2-Cyano-*N*,*N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid verwendet

3.1.2.2 Synthese des cyclischen Carbonats

Viehe-Salz

Die Umsetzung von Dichlormethylen-dimethyliminium-chlorid (**III**), auch Viehe-Salz genannt*, mit Brenzcatechin (**IV**) wurde bereits 1971 von *Viehe und Janousek* untersucht[148]. Diese postulierten das cyclische Iminiumchlorid als reaktiven Zwischenzustand und charakterisierten es durch seine leichte Hydrolysierbarkeit zum ortho-Phenylencarbonat (**V**) (vgl. Abb. 3-6).



III **IV** **V**

i: CH_2Cl_2, 40 °C; ii: H_2O

Abb. 3-6: Reaktion des Phosgeniminiumsalzes (**III**)† mit Brenzcatechin zum Benzodioxolon-Derivat (**V**) über das cyclische Iminiumsalz[148].

Diese Ergebnisse konnte im Rahmen eines Vorversuches mit 4-Nitrobrenzcatechin nach einer Synthesevorschrift von *Stick und Mitarbeitern*[151] bestätigt werden. Das Produkt – ein weißes amorphes Pulver – zeigte im ^{1}H-NMR-Spektrum jedoch eine zunächst nicht spezifizierbare Verunreinigung‡.

Versuche, das cyclische Carbonat des Entacapon (**4**, Abb. 3-5) auf analoge Art und Weise herzustellen, lieferten eine farblose, stabile Verbindung. Die Strukturaufklärung mittels kernresonanzspektros-

* Benannt nach dem belgischen Chemiker Prof. H. G. Viehe. Dieser widmete der Untersuchung des Reaktionsverhaltens der Iminiumsalze einen großen Teil seiner Forschungsarbeit[147].

† Das Salz kann als chloriertes Mannich-Reagenz angesehen werden und ist demnach ein hochreaktiver Baustein zur Synthese von C-C oder C-Heteroatombindungen[149]. In neuesten Publikationen wird Viehe-Salz zur Synthese von Heterocyclen eingesetzt. So beispielsweise in einer Veröffentlichung von *Kiselyov*[150], der unter Einsatz dieses altbekannten Reagenzes eine neue Methode zur Erschließung von Pyrimidinen etablieren konnte.

‡ Hier entstand analog der Umsetzung von Entacapon mit Viehe-Salz das Bis-(*N*,*N*-dimethylcarbamat).

kopischer Untersuchung ergab das Bis-*N,N*-dimethylcarbamat des Entacapon (**7-1**, vgl. Abb. 3-7).

Ein Wechsel des Lösungsmittels (THF) und die Verwendung von verdünnter Salzsäure an Stelle von Wasser zur Hydrolyse des intermediär gebildeten, cyclischen Iminiumsalzes ergab ebenfalls ein unerwartetes Syntheseprodukt. Hier ließ sich das *N,N*-Dimethyl-monocarbamat (**6-1**) in Form grüner Kristalle isolieren (Abb. 3-7).

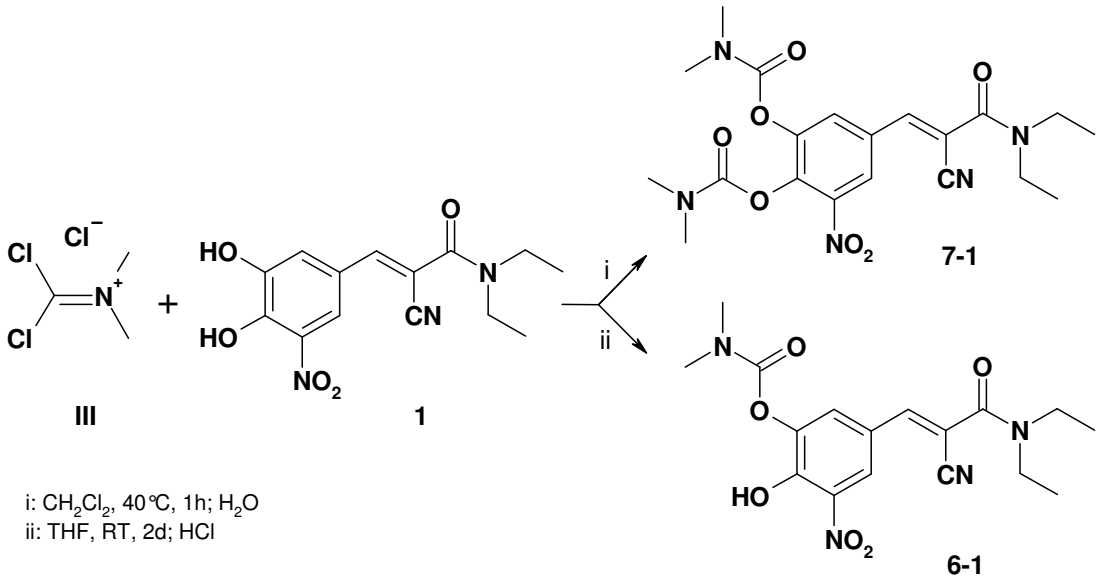


Abb. 3-7: Bildung von Carbamaten bei der Umsetzung von Entacapon mit Viehe-Salz.

Den Mechanismus dieser Reaktion postulierten *Shing und Mitarbeiter*[152] im Zusammenhang mit der Synthese des Quassinoids Quassimarin[*]. Das cyclische Iminiumsalz addiert eine OH-Gruppe unter Ausbildung einer stickstoffanalogen Orthokohlensäurestruktur, die anschließend unter Protonenkatalyse eine Ringöffnung zum Urethan vollzieht.

[*] Quassinoide sind pentacyclische Diterpenbitterstoffe (C_{20}), die aus dem Bitterholz (Quassia amara) stammen. Quassimarin und andere Vertreter werden derzeit auf ihre antileukämische Potenz untersucht.

Die Entstehung des Biscarbamats als Nebenprodukt der Umsetzung von Catecholen mit Viehe-Salz fand in der Literatur bislang keine Erwähnung. Neben der beschriebenen Bildung der Monocarbamate wurde bei Reaktionen von *cis*- und *trans*-Cyclohexan-1,2-diolen[151] oder Cyclohexen-1,2-diolen[153] unter bestimmten Reaktionsbedingungen lediglich ein Austausch einer OH-Gruppe gegen einen Chloridsubstituenten beobachtet. Ein derartiges Produkt wurde im vorliegenden Fall jedoch nicht erhalten.

Eine mögliche Erklärung für die Bildung des Biscarbamats ist der Angriff eines weiteren Moleküls des überschüssigen Dichlormethylenammoniumsalzes an der freien OH-Gruppe des Monocarbamats (**6-1**) und die darauffolgende Hydrolyse des Iminiumsalzes (**VI**). Denkbar ist ferner eine durch Wasserzugabe verursachte partielle Hydrolyse des Phosgeniminiumsalzes zum *N*,*N*-Dimethylcarbamoylchlorid (**VII**) und anschließende Carbamoylierung von **6-1** (siehe Abb 3-8).

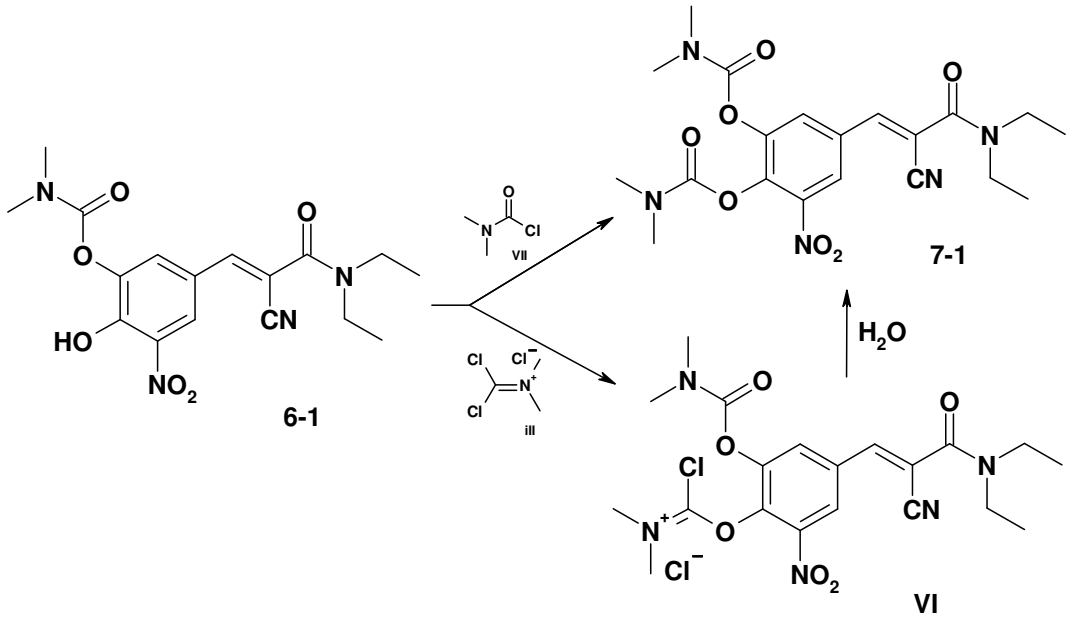


Abb. 3-8: Mögliche Mechanismen zur Bildung des Biscarbamats (**7-1**)*.

* Zur Analytik der Carbamate vgl. Kapitel 3.2.3.3.

Ein letzter Versuch, diese Reaktion zur Erzeugung der gewünschten Carbonate nutzbar zu machen, bestand in der direkten Umsetzung des in situ gebildeten cyclischen Carbonats* mit einem Alkohol. Im Infrarotspektrum konnte jedoch keine Produktbildung nachvollzogen werden, so dass folgendes Fazit für diese Strategie gezogen wurde:

Die Synthese cyclischer Carbonate mit Viehe-Salz ist, wie anhand des 4-Nitrobrenzcatechins gezeigt werden konnte, prinzipiell durchführbar. Die unerwünschte Reaktionen zu den Carbamaten (**6-1** und **7-1**) erwies sich jedoch als derart dominant, dass eine Umsetzung von Entacapon zu den gemischten Kohlensäureestern nicht zu realisieren war.

Kohlenmonoxid

Die Umsetzung von Phenol zu Diphenylcarbonat (**VIII**) mit Kohlenmonoxid in Anwesenheit eines Metall-Carbonyl-Komplexes (**IX**) wurde durch *Hallgren und Matthews*[154] untersucht (vgl. Abb. 3-9).

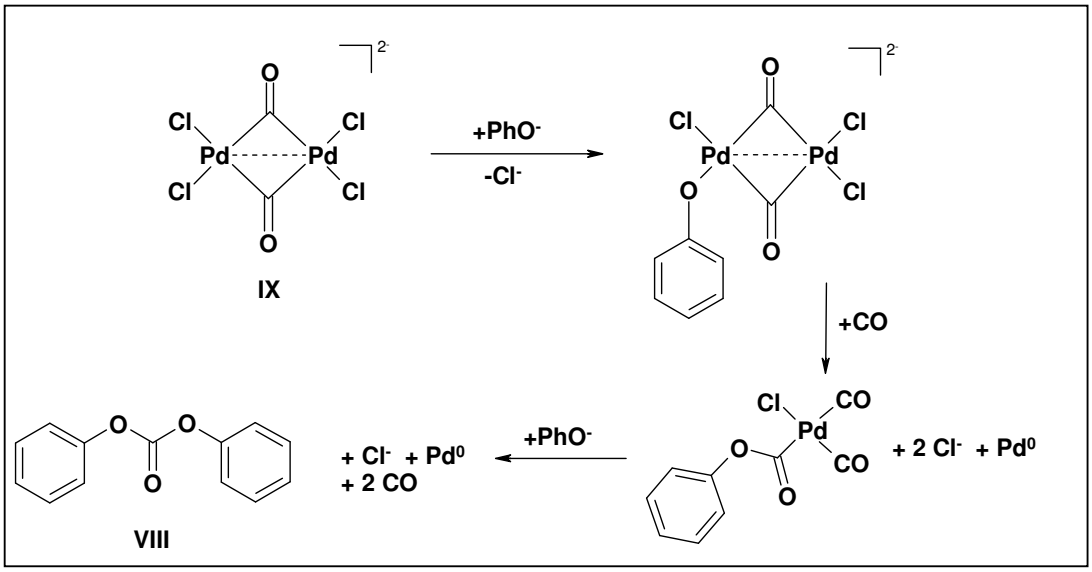


Abb. 3-9: Mechanismus der Palladiumcarbonylchlorid†-vermittelten Carbonatbildung nach *Hallgren und Matthews*[154].

* Dessen Bildung konnte reaktionsbegleitend im Infrarotspektrum (1870 cm^{-1}) beobachtet werden.

† Die Darstellung der Komplexbindungen ist der Originalveröffentlichung nachempfunden.

Für das unsubstituierte Brenzcatechin konnte die Arbeitsgruppe die Bildung des cyclischen Carbonats in einer Ausbeute von 90% ohne Nebenreaktionen erreichen.

Essentiell für diese Umsetzung, die formal eine Oxidation des Kohlenmonoxids darstellt, ist ein Palladium-(I)-komplex mit CO-Ligand, welcher als dimerisiertes Dianion (**IX**) vorliegt (siehe Abb. 3-9)[155]. Dieser liefert als Carbonylgruppenüberträger den C1-Baustein für die Ringschlussreaktion und wird in stöchiometrischen Mengen eingesetzt.

Die Herstellung des palladiumhaltigen Edukts (Pd(CO)Cl) erfolgte nach einer Vorschrift von *Colton und Mitarbeitern*[156]. Eine gesättigte Palladium(II)chloridlösung in konzentrierter Salzsäure wurde für 24 h einer Kohlenmonoxidatmosphäre ausgesetzt*. Die anschließende Zugabe von Ameisensäure ergab das gewünschte Produkt als gelben, amorphen Niederschlag (Abb. 3-10).

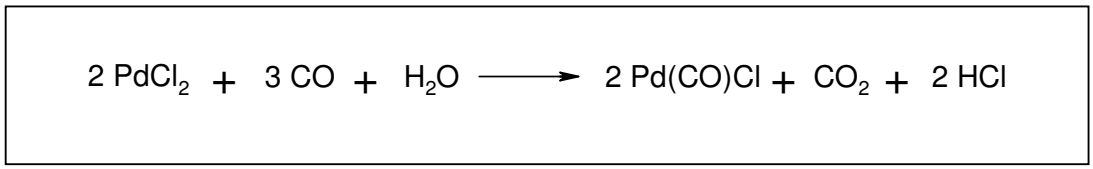
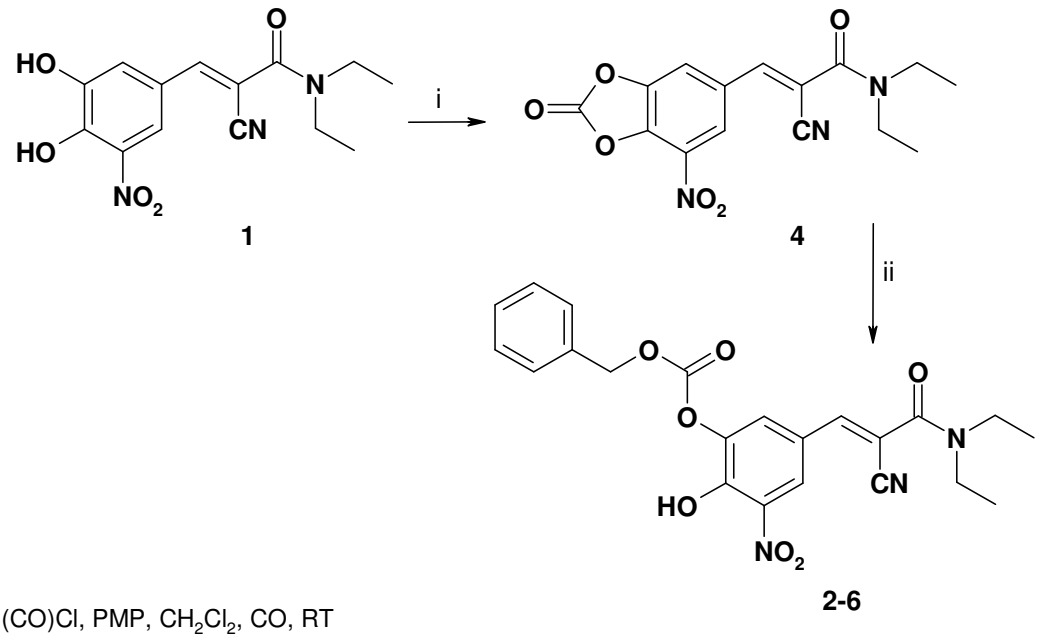


Abb. 3-10: Reduktion des Palladium(II)chlorids zum Palladium(I)carbonylchlorid nach *Colton und Mitarbeitern*[156].

Die Umsetzung von Entacapon (**1**) mit dem Carbonylgruppenübertragungsreagenz Pd(CO)Cl wurde analog der eingangs vorgestellten Methode von *Hallgren und Matthews*[154] unter Kohlenmonoxidatmosphäre und Basenkatalyse durchgeführt. Nach einer Reaktionszeit von 30 min fiel das elementare Palladium quantitativ in Form eines schwarzgrünen Niederschlags aus. Zugabe von Benzylalkohol zu dem Reaktionsansatz überführte das in situ gebildete cyclische Carbonat (**4**) in den ringoffenen Kohlensäureester (**2-6**) (vgl. Abb. 3-11).

* Zu diesem Zweck wird eine Apparatur verwendet, bei der ein mit Kohlenmonoxid gefüllter Ballon an der Öffnung eines Dreihalskolbens befestigt wird.



1 4 2-6

i: Pd(CO)Cl, PMP, CH_2Cl_2, CO, RT
ii: Benzylalkohol

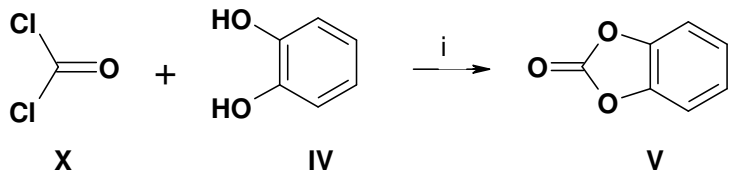
Abb. 3-11: Ringöffnung des durch Reaktion mit Palladium(I)carbonylchlorid erhaltenen cyclischen Carbonats (**4**).

Die Reaktion erzeugte das erwartete Produkt und zeigte verfahrenstechnische Vorteile, wie die einfache Abtrennung des verbrauchten Reagenzes und das Fehlen von toxischen Nebenprodukten. Die erzielte Ausbeute von 10% (bezogen auf Entacapon) war nicht zufriedenstellend[*].

Phosgen

Die Bildung des cyclischen Carbonats unter Verwendung von Phosgen (**X**) geht zurück auf *Alfred Einhorn*[†], der unsubstituiertes Brenzcatechin in natronalkalischer Lösung cyclisierte[158].

[*] Den größten Anteil des isolierten Rohprodukts stellte nicht umgesetztes Entacapon dar.
[†] Der in Hamburg geborene Chemiker entwickelte 1905 das erste synthetische Lokalanästhetikum Procain (Novocain)[157].



X IV V

i: H_2O/NaOH, Toluen; Kühlung

Abb. 3-12: Carbonatsynthese nach *Einhorn*[158].

Aufgrund der extremen Hydrolyseempfindlichkeit des analogen Entacaponvertreters und der schlechten Löslichkeit des Edukts in Wasser* erbrachte die Reaktion im 2-Phasenmedium (Toluen/Wasser/NaOH†) nur geringe Ausbeuten des cyclischen Carbonats (**4**).

Erfolgreichere Versuche fanden hingegen in wasserfreiem Lösungsmittel statt: Die Umsetzung in Toluen ohne Verwendung einer Hilfsbase erforderte drastische Bedingungen und lange Reaktionszeiten. Eine Modifizierung der Synthesevorschrift analog *Stenseth und Mitarbeitern*[160] ermöglichte eine Verkürzung der Reaktionszeit von ca. 48 h auf 2 h durch den Zusatz von zwei Äquivalenten Pyridin bei gemäßigten Umsetzungsbedingungen. Das entstandene Hydrochlorid der Hilfsbase lies sich nach Beendigung der Reaktion durch Filtration abtrennen, wodurch die spätere Reinigung der gemischten Carbonate deutlich erleichtert wurde.

Die Verwendung von Dichlormethan als Lösungsmittel konnte die Ausbeuten der Carbonate aufgrund der verbesserten Löslichkeit der Edukte in diesem Lösungsmittel weiter steigern.

Auf eine Isolierung des cyclischen Carbonats aus dem Reaktionsgemisch wurde aus Gründen der Labilität (vgl. Kap. 3.1.3.3) verzichtet, sodass das Intermediärprodukt ohne Aufreinigung der Ring-

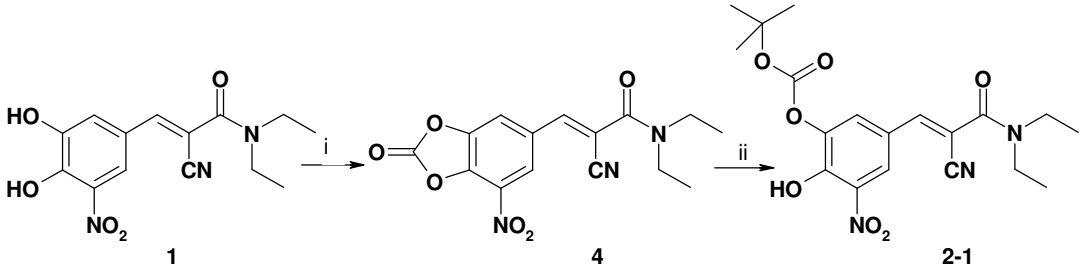
* Die Wasserlöslichkeit von Entacapon liegt bei unter 0,05 µg/ml im sauren und neutralen Milieu. In seiner Eigenschaft als Säure mit einem pK_a-Wert von 4,5 verbessert sich die Löslichkeit bei steigenden pH-Werten infolge Dissoziation auf 7 mg/ml[159].

† Phosgen ist in einer 20%igen Lösung in Toluen erhältlich. Von der Verwendung des hochtoxischen Gases wurde aus arbeitsschutztechnischen Gründen Abstand genommen.

öffnung durch den entsprechenden Alkohol zugänglich gemacht wurde (vgl. Kap 3.1.2.3).

Diphosgen

Die Umsetzung von Entacapon (**1**) mit Diphosgen analog der vorgestellten Phosgenreaktion verlief zwar unter Ausbildung des gewünschten Carbonatprodrugs, jedoch waren die Ausbeuten schlechter als die Ergebnisse der phosgenvermittelten Ringschluss-reaktion. So lieferte die Umsetzung des durch Reaktion mit Phosgen erhaltenen cyclischen Carbonats (**4**) mit *tert.*-Butanol eine 2,5fach höhere Ausbeute als die analoge Herstellung des *tert.*-Butylcarbonats (**2-1**) mit Diphosgen (vgl. Abb. 3–13)[*].



i: Phosgen, Pyridin, DCM/Toluen, 0°C **oder** Diphosgen, Pyridin, DCM, 0°C
ii: *tert.*-Butanol, Ethylacetat

Abb. 3-13: Synthesevarianten zur Herstellung des *tert.*-Butylcarbonats (**2-1**).

Synthesevariante	Ausbeute
Phosgen	106 mg
Diphosgen	42 mg

Tab. 3-3: Absolute Ausbeuten der Synthesevarianten für (**2-1**).

[*] Reaktionsbedingungen der Synthese: 1,5 mmol Entacapon werden in 15 ml Dichlormethan gelöst und 5 mmol Diphosgen unter Eiskühlung zugetropft. Nach Zugabe von 3 mmol Pyridin wird 1h unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird zur Entfernung des überschüssigen Diphosgens im Vakuum eingeengt (Abzug!), in Ethylacetat aufgenommen und filtriert. Die Umsetzung des auf diese Weise erhaltenen cyclischen Carbonats mit *tert.*-Butanol erfolgt analog AAV 6 (vgl. Kap. 5.2).

N,N'-Carbonyl-diimidazol

N,N'-Carbonyl-diimidazol (CDI) wurde von *Coe und Mitarbeitern*[161] im Zusammenhang mit der Synthese potentieller Nicotinrezeptor-agonisten zur Verschließung einer Brenzcatechinstruktur verwendet (Abb. 3-14).

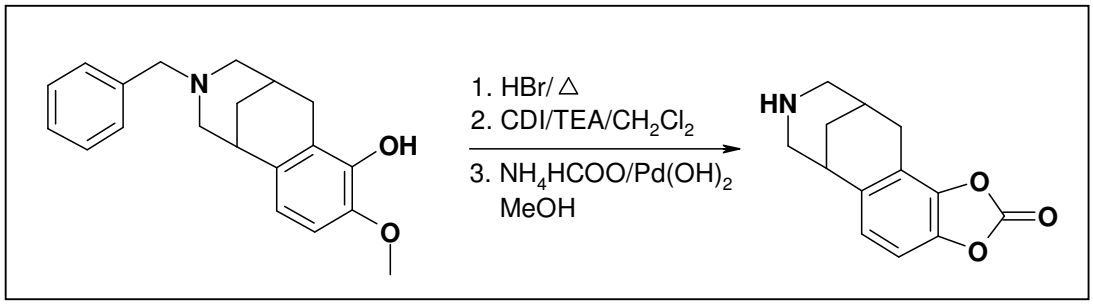
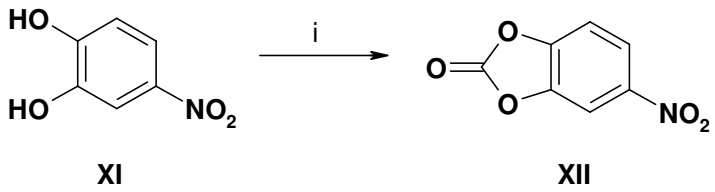


Abb. 3-14: Synthese eines cyclischen Carbonats nach *Coe und Mitarbeitern*[161].

Mangels detaillierter Reaktionsparameter in der Literatur wurden für die Synthese des cyclischen Carbonats die Standardbedingungen zur Knüpfung von Peptidbindungen analog der Azolid-Methode nach *Anderson und Paul* gewählt[162]. Eigene orientierende Versuche zur Anwendbarkeit dieser Methode bei Nitrobrenzcatechinen lieferten das 5-Nitro-1,3-benzodioxol-2-on (**XII**) in guter Ausbeute (82%).



XI **XII**

i: CDI,CH_2Cl_2/$HCl_{(aq)}$, RT

Abb. 3-15: Synthese des 5-Nitro-1,3-benzodioxol-2-ons (**XII**).

Die Isolierung des analogen Entacapon-Intermediats wurde aus den bereits genannten Stabilitätsgründen nicht verfolgt. Jedoch verlief die Synthese der gemischten Kohlensäureester durch Öffnung des in situ

erzeugten* cyclischen Carbonats (**4**) überaus erfolgreich. Die Darstellung des Intermediats **4** erfolgte im 2-Phasengemisch (Dichlormethan/verd. Salzsäure). Nach Abtrennung des wässrigen Anteils wurde das in der organischen Phase verbliebene cyclische Carbonat mit Alkoholen zu Monocarbonaten (**2**) umgesetzt (vgl. Abb. 3-16).

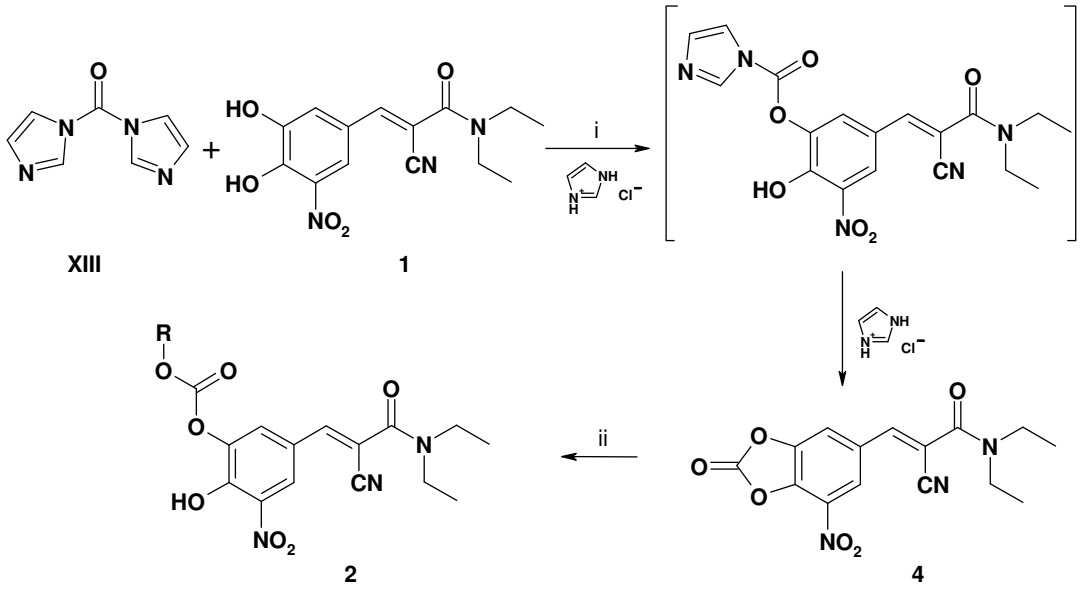


Abb. 3-16: Synthese von Monocarbonaten (**2**) mittels CDI (**XIII**).

Obschon die ersten Versuche erfolgreich waren, wurde eine Optimierung der Reaktionsbedingungen vorgenommen. Die Reaktionszeit, der Zeitpunkt der Salzsäurezugabe während der Ringschlussreaktion und das Verhältnis von Entacapon zu CDI wurden variiert und die Einflüsse der Parameterwechsel durch Quantifizierung der Folgereaktion zum gemischten Kohlensäureester ermittelt.

Ein Steigerung des Anteils des *N,N'*-Carbonyldiimidazols im Reaktionsgemisch von 2,2 auf 5 Äquivalente zeigte keinen positiven Effekt auf die Ausbeuten des Carbonats. Ähnlich verhielt es sich mit

* Dessen Entstehung wurde durch die charakteristische Carbonylbande bei 1870 cm^{-1} im Infrarotspektrum nachvollzogen.

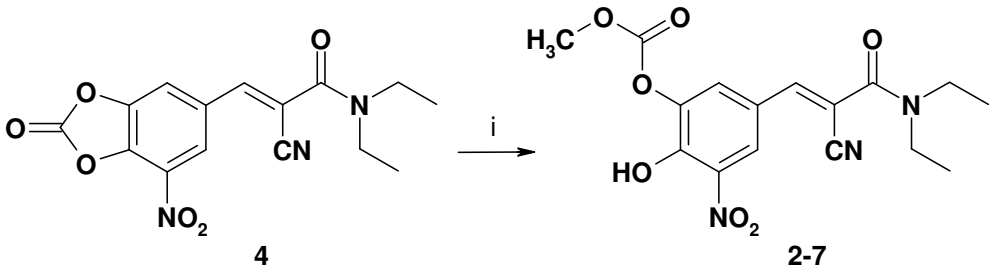
einer Verlängerung der Reaktionszeit. Eine deutliche Steigerung der Ausbeute war jedoch bei der Variation des Zeitpunktes der Salzsäurezugabe zur Abtrennung des Imidazols zu verzeichnen. So konnte die Ausbeute durch verzögerte Zugabe (30 min nach Reaktionsbeginn) verdoppelt werden[*].

[*] Die absolute Ausbeute der Folgereaktion zum Carbonatprodrug **2-17** (vgl Tab. 3-4) betrug im Falle der sofortigen Salzsäurezugabe 100 mg (15% rel. Ausbeute in Bezug auf die eingesetzte Entacaponmenge) bzw. 197 mg (30%) bei verzögerter Salzsäurezugabe.

3.1.2.3 Synthese der Carbonate durch Öffnung des cyclischen Carbonats

Die Umsetzung des ortho-Phenylencarbonats (**V**, Abb. 3-12) mit Alkoholen und anderen Nukleophilen wurde 1898 von dem bereits erwähnten deutschen Chemiker *Alfred Einhorn* untersucht[158].

Sie läuft gemäß der in Abb. 3-17 für die Umsetzung mit Methanol exemplarisch dargestellten Reaktionsgleichung ab und liefert ausschließlich die bereits in Kapitel 3.1.2.1 vorgestellten 3-Monocarbonate (**2**).



4 **2-7**

i: CH_3OH, RT

Abb. 3-17: Umsetzung des cyclischen Carbonats (**4**) mit Methanol zum Methylcarbonat (**2-7**).

Pläne, das Intermediat (**4**) in großen Mengen auf Vorrat zu synthetisieren, mussten zwar nach ersten Versuchen verworfen werden, trotzdem ermöglichte die Synthese des cyclischen Carbonats den Zugang zu einer breiten Palette an Produkten. Vorteilhaft ist darüber hinaus die einfache und günstige Beschaffung der Edukte.

Auch bei dieser Variante der Monocarbonatsynthese wurden ausschließlich die in Position 3 substituierten Derivate erhalten. *Laufer und Mitarbeiter* machten bei der Umsetzung des 5-Nitrobenz-1,3-dioxol-2-ons (**XII**) mit Nukleophilen eine analoge Beobachtung (vgl. Abb. 3-18). Sie postulierten als Ursache der Regioselektivität der Ringöffnungsreaktion eine Stabilisierung der intermediär auftretenden negativen Ladung am zur Nitrogruppe paraständigen Sauerstoffatom[163]. Übertragen auf die Verhältnisse im Entacapon-Molekül

erfolgt eine Stabilisierung der negativen Ladung bevorzugt in Position 4, infolgedessen die Bildung der 3-Monocarbonate begünstigt ist.

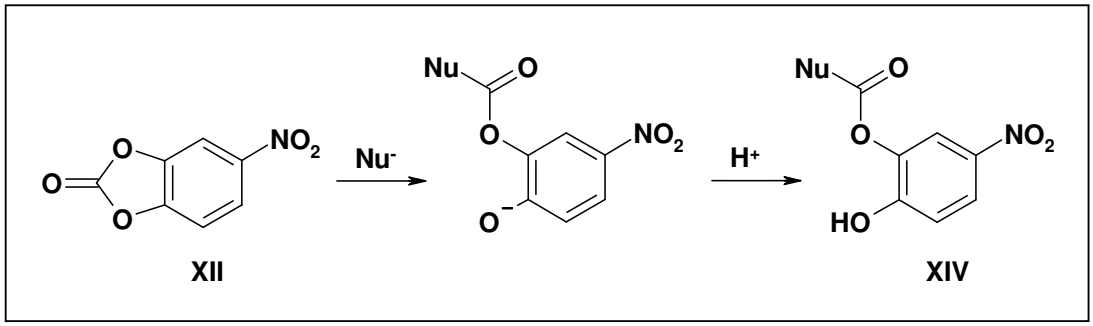


Abb. 3-18: Regioselektive Öffnung des Dioxolon-Ringes nach *Laufer und Mitarbeitern*[163].

Tabelle 3-4 zeigt die im Zuge dieser Arbeit durch Ringöffnung des cyclischen Carbonats gewonnenen Carbonate.

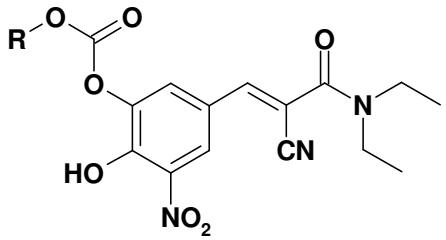
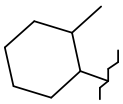
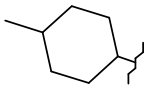
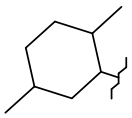
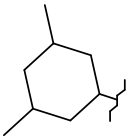
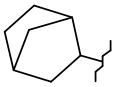
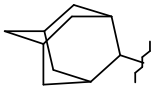
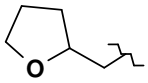
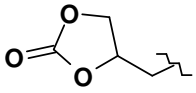
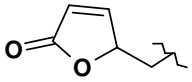
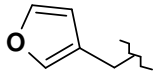
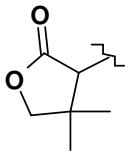
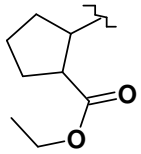
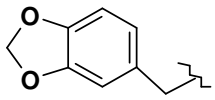
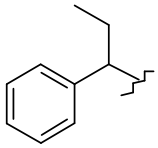
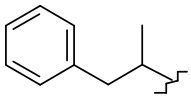
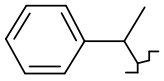
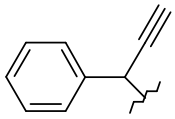
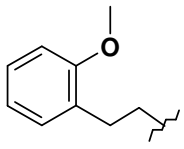
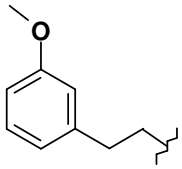
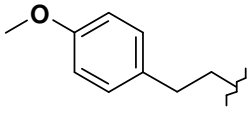
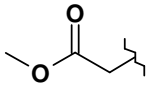
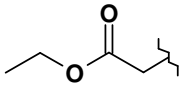
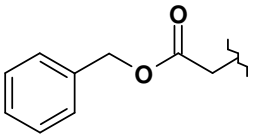
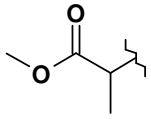
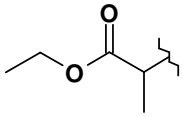
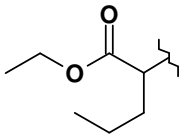
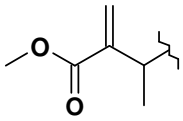
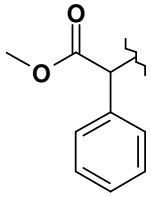
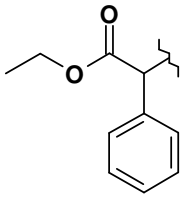
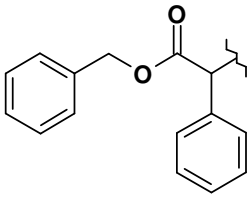
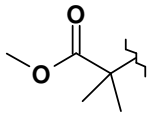
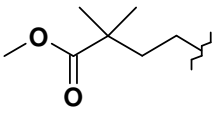
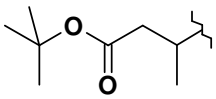
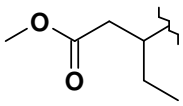
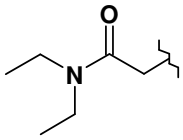
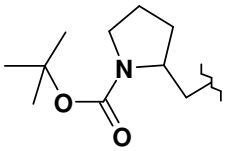
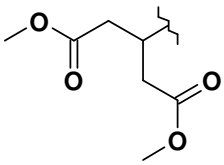
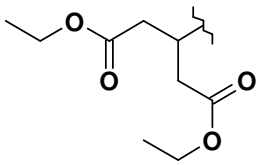
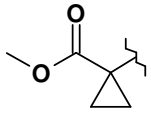
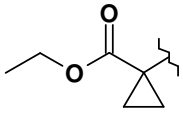


Abb. 3-19: 3-Monocarbonate des Entacapon (**2**).

	R		R
2-1	*tert.*-Butyl-	**2-6**	Benzyl-
2-7	Methyl-	**2-8**	Ethyl-
2-9	n-Propyl-	**2-10**	Isopropyl-
2-11	n-Butyl-	**2-12**	2-Methylpropyl-
2-13	n-Pentyl-	**2-14**	1-Methylbutyl-
2-15	1-Ethylpropyl-	**2-16**	1-Methylpentyl-
2-17	1-Ethylbutyl-	**2-18**	2-Ethylhexyl-
2-19	Allyl-	**2-20**	4-Methoxybenzyl-
2-21	2-Phenethyl-	**2-22**	Phenyl-

	R		R
2-23	Cyclopentyl-	**2-24**	Cyclohexyl-
2-25		**2-26**	
2-27		**2-28**	
2-29		**2-30**	
2-31		**2-32**	
2-33		**2-34**	
2-35		**2-36**	
2-37		**2-38**	
2-39		**2-40**	
2-41		**2-42**	
2-43		**2-44**	
2-45		**2-46**	

	R		R
2-47		**2-48**	
2-49		**2-50**	
2-51		**2-52**	
2-53		**2-54**	
2-55		**2-56**	
2-57		**2-58**	
2-59		**2-60**	
2-61		**2-62**	
2-63		**2-64**	

Tab. 3-4: Durch Öffnung des cyclischen Carbonats dargestellte Kohlensäureester des Entacapon (**2**).

Die Umsetzungsgeschwindigkeit der Ringöffnung hängt maßgeblich mit den Eigenschaften des verwendeten Alkohols zusammen. Reaktionen mit primären Alkoholen waren bereits nach wenigen Stunden abgeschlossen und lieferten gute Ausbeuten, wohingegen die sterisch abgeschirmten tertiären Alkohole zum Teil mehrere Tage auf das cyclische Carbonat einwirken mussten und dabei lediglich geringe Mengen des gewünschten Kohlensäureesters erzeugten.

Eine Beschleunigung dieses Reaktionsschritts kann durch vorsichtige Zugabe von organischen Basen wie Triethylamin (TEA), Diazabicycloundecen (DBU), Triazabicyclodecen (TBD) oder festem Kaliumcarbonat erfolgen.

Um die Reaktionsgeschwindigkeit sekundärer und tertiärer Alkohole zu beschleunigen hat sich die Anwendung von Natriumalkoholaten an Stelle der Alkohole ebenfalls als vorteilhaft erwiesen. Deren Herstellung erfolgte nach *Liebig*[164] aus dem entsprechenden wasserfreien Alkohol und elementarem Natrium unter Kühlung.

3.1.2.4 Synthese von Carbonaten mit freien Carboxylgruppen

Versuche, das cyclische Carbonat mit Hydroxycarbonsäuren (Glykolsäure (**XV**), Milchsäure u. a.) umzusetzen, führten nicht zum gewünschten Ergebnis (vgl. Abb. 3-20). Das durch Ringöffnung gebildete Carbonat hydrolysierte in Anwesenheit einer freien Carboxylfunktionalität schon im Zuge der Aufarbeitung.

Benzylester dienen als reversible Schutzgruppe für Carbonsäurefunktionen. Sie lassen sich mittels katalytischer Hydrierung mit molekularem Wasserstoff über Palladium/Kohle-Katalysatoren (Pd-C) abspalten.

Die Umsetzung des cyclischen Carbonats (**4**) mit Benzylglykolat (**XVI**) erbrachte das entsprechend geschützte Carbonat (**2-47**, vgl. Tab. 3-4), welches zum einen auf seine Prodrug-Eigenschaften hin untersucht wurde und zum anderen zur Darstellung des entsprechenden Carbonats mit freier Säurefunktion diente.

Hydrierungsversuche bei geringen H_2-Druck zeigten keine nennenswerten Umsetzungen, während sich bei erhöhtem Wasserstoffdruck eine Zerstörung der gesamten Prodrugfunktionalität vollzog[*].

Die Freisetzung von benzylisch geschützten Säurefunktionen unter Verwendung einer Lewissäure, wie bspw. Bortrichlorid, wurde von *Schmidt und Mitarbeitern* im Zuge der Totalsynthese des Naturstoffs Didemnin[†] durchgeführt[167]. Hier gelang die selektive Abspaltung der Schutzgruppe auch in Gegenwart stark hydrolyseempfindlicher Strukturen wie α-Chloressigsäureester.

Die Umsetzung des Benzylglykolat-Carbonats (**2-47**) mit Bortrichlorid in der Kälte lieferte das Carbonatprodrug der Glykolsäure (**2-65**) in guten Ausbeuten (vgl. Abb. 3-20).

[*] Die Versuche zur Hydrierung mit H_2 über Palladium/Kohle-Katalysator wurde nach einer Vorschrift von *Schlüter* in trockenem Tetrahydrofuran durchgeführt[165].

[†] Didemnin ist ein aus der Seescheide (*Tridemnunm solidum*) gewonnenes Cyclopeptid, welches sich aufgrund seiner antitumoralen Eigenschaften derzeit in der klinischen Prüfung befindet[166].

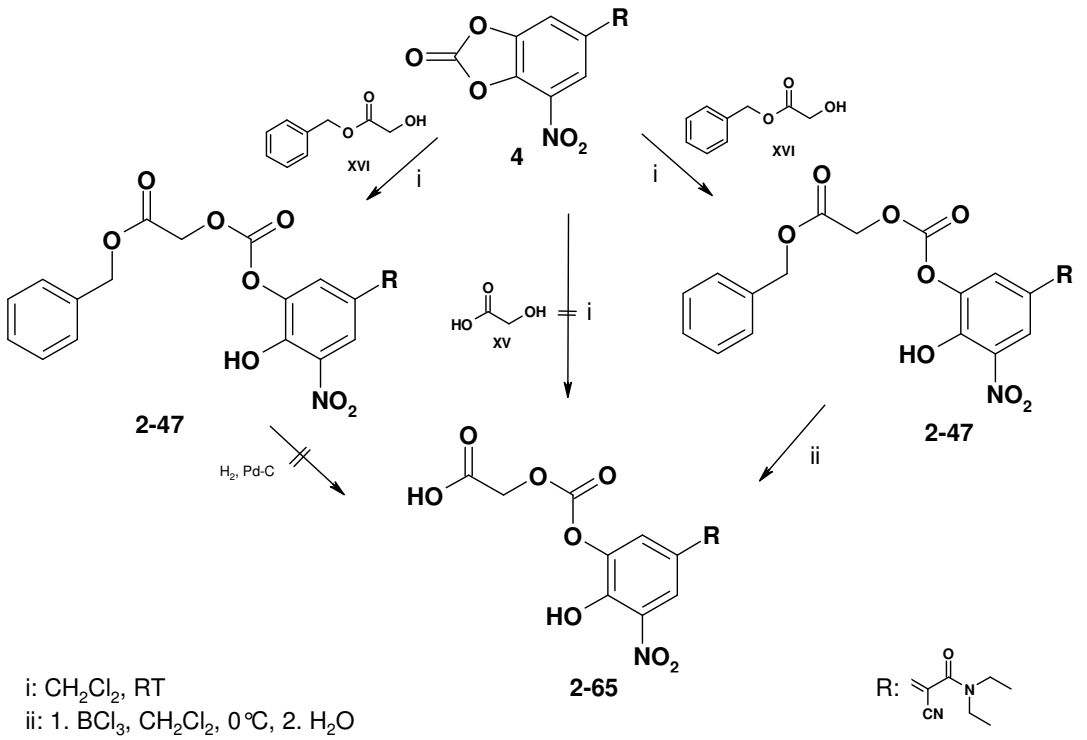


Abb. 3-20: Übersicht der Syntheserouten zur Herstellung von Carbonaten mit freier Carbonsäurefunktionalität.

Als Reaktionsmechanismus wird von *Tsuji und Mitarbeitern* folgender Ablauf angenommen[168].

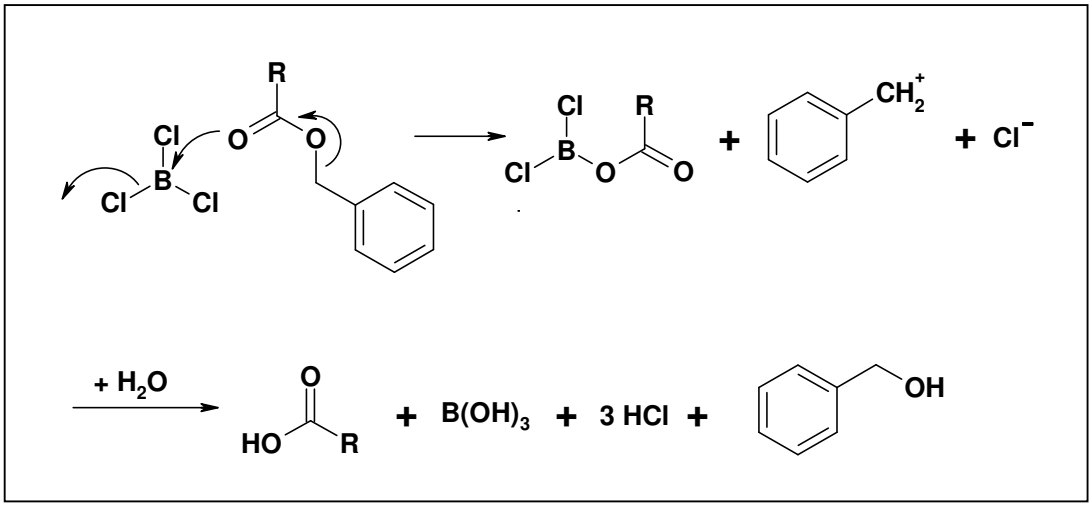
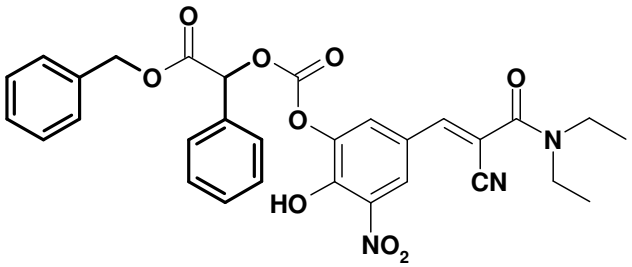


Abb. 3-21: Reaktionsmechanismus der lewissäurekatalysierten Benzylgruppenspaltung (nach *Tsuji und Mitarbeitern*[168]).

Die analoge Freisetzung der Carbonsäurefunktion aus dem Carbonat des Benzylmandelsäureesters (**2-54**) gelang nicht. Die Carbonatfunktionalität wurde unter den Reaktionsbedingungen ebenfalls zerstört, was mit dem benzylischen Charakter des Mandelsäuregrundgerüsts zu begründen ist (vgl. Abb. 3-22; die benzylischen Partialstrukturen sind durch Fettdruck hervorgehoben).



2-54

Abb. 3-22: Das Entacapon-Carbonatprodrug des Benzylmandelats (**2-54**).

Das Produkt (**2-65**) erwies sich leider als derart hydrolyseempfindlich, dass eine Reinheitsbestimmung mittels HPLC nicht möglich war.

Die Stabilitätsuntersuchungen der Firma Schwarz BioSciences GmbH bestätigten die zu geringe Stabilität dieses Vertreters, so dass die Synthese weiterer Derivate mit freier Carbonsäurefunktionalität verworfen wurde.

3.1.3 Analytik

Im Folgenden werden die für die Carbonatprodrugs charakteristischen spektroskopischen Eigenschaften aufgeführt. Viele der Aussagen besitzen auch Gültigkeit für die in späteren Kapiteln vorgestellten Substanzklassen. Deswegen erfolgt an dieser Stelle eine ausführliche Darstellung, auf die spätere Betrachtungen verweisen.

3.1.3.1 Analytik der 3-Monocarbonate

Die gelbe Farbe des Entacapon resultiert aus dem Chromophor Nitrobrenzcatechin, dessen Hydroxylgruppe in ortho-Position zur Nitrogruppe die Möglichkeit zu einem intramolekularen Charge-Transfer analog Abb. 3-23 eröffnet und damit die Absorption des Aromaten in den sichtbaren Bereich verlagert[169].

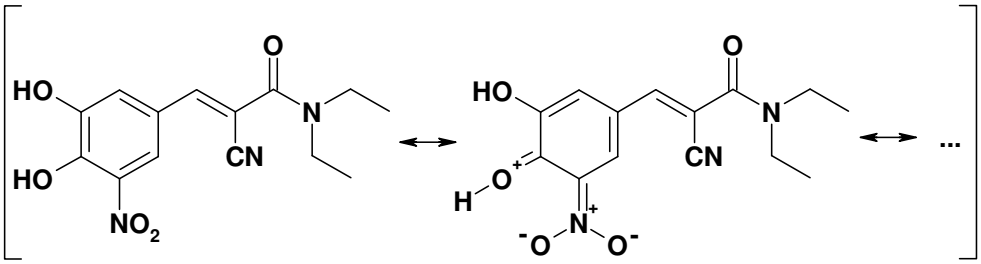


Abb. 3-23: Intramolekularer Charge-Transfer.

Die Absorptionsmaxima des COMT-Hemmers im UV/Vis-Spektrum liegen bei 229 und 304 nm. Im Bereich zwischen 400 und 500 nm findet ebenfalls Absorption statt, was zu der intensiv gelben Farbe führt. Ein Austausch des Hydroxylsubstituenten in Position 3 gegen eine Carbonatfunktionalität führt zu einer bathochromen

Verschiebung des zweiten Maximums (370 nm). Alle in Position 3 acylierten Derivate sind daher gelb*.

Die Monocarbonate fallen kristallin oder als amorphe Pulver an und sind im Kühlschrank über einen langen Zeitraum lagerfähig. Die Stabilität in wässrigen Zubereitungen ist hingegen bei niedrigen pH-Werten begrenzt†.

Im IR-Spektrum erscheint neben der schwachen Absorption der phenolischen OH-Gruppe bei >3200 cm^{-1}, die scharfe Carbonyl-absorption des gemischten Kohlensäureesters im Bereich von 1753-1787 cm^{-1}. Die Resonanzen der amidischen Carbonylgruppe im Entacapon-Grundgerüst sind als Doppelbande bei ca. 1630 und 1620 cm^{-1} zu sehen. In Abb. 3-24 ist exemplarisch für die Carbonat-prodrugs das Infrarotspektrum des (Tetrahydrofur-2-yl)-methyl-carbonats (**2-31**) dargestellt.

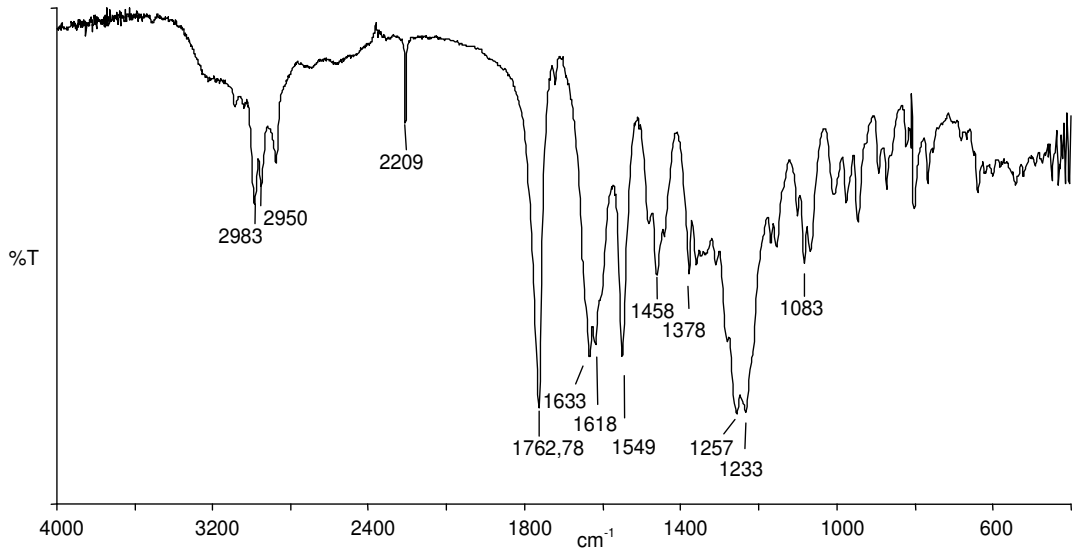


Abb. 3-24: Infrarotspektrum des Monocarbonats (**2-31**) als KBr-Pressling.

* Ferner ist bei den Entacaponderivaten mit freier OH-Gruppe in Position 2 ein bathochromer Shift bei Basenzugabe zu beobachten, der für Nitrophenolderivate durch *Kortüm und Mitarbeitern*.[170] bereits 1941 beschrieben wurde.

† So zeigen HPLC-Proben in einem ACN/Wasser-Gemisch (pH = 3,8) nach 24 stündiger Lagerung im Kühlschrank bereits einen mehr als 30%igen Anteil Entacapon.

Charakteristisch für alle Entacapon-Verbindungen ist die Absorption der Nitrilgruppe bei ca. 2210 cm^{-1}. Sie ist trotz ihrer geringen Intensität deutlich zu erkennen, da in diesem Bereich des Spektrums mit Ausnahme der Alkin-Banden einiger Vertreter keine weiteren Resonanzen auftreten.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum zeigen die monoacylierten Verbindungen deutlich die stark zum tiefen Feld verschobene Resonanz des Protons der freien Hydroxylgruppe bei ca. 11 ppm (siehe Abb. 3-25, Signal i)*. Dies ist, neben der ausgeprägten Farbigkeit und der zusätzlichen Carbonylbande, ein weiteres Indiz dafür, dass tatsächlich die Monocarbonate vorliegen.

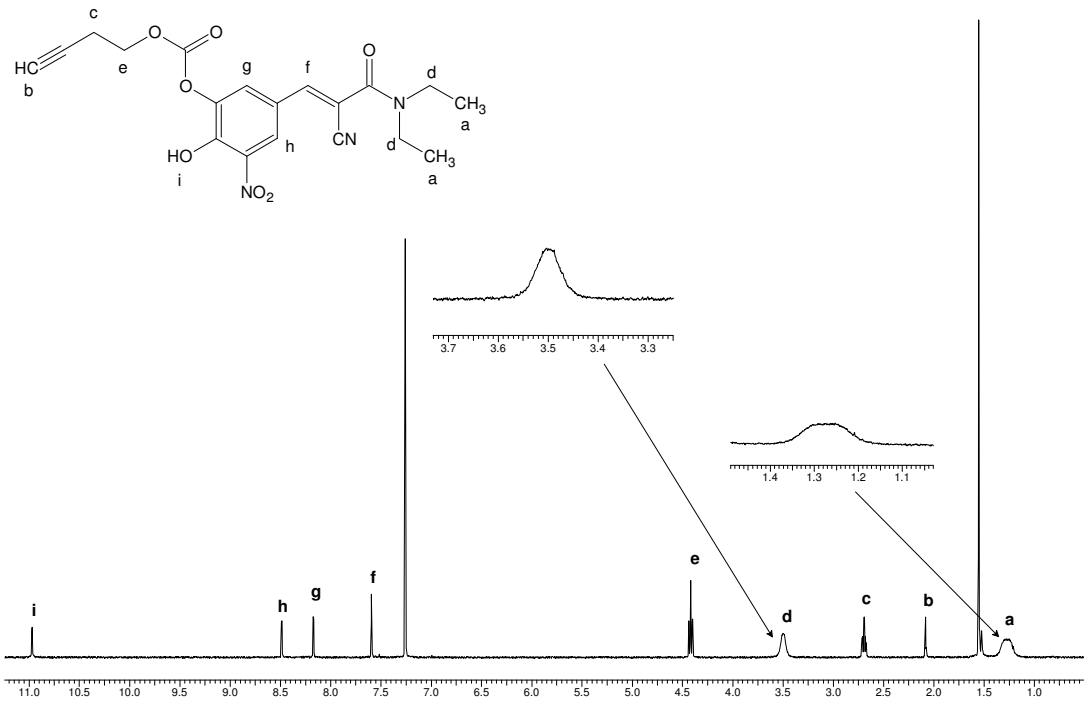


Abb. 3-25: Ausschnitt aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum von (**2-4**) ($CDCl_3$, 400 MHz).

* Die Signale der OH-Gruppen des Entacapon sind aufgrund intramolekularer Protonenaustauschprozesse sehr breit und erscheinen als ein Singulett bei ca. 6,4 ppm.

Die Signale der aromatischen Protonen und des Protons der Propenamidseitenkette liegen zwischen 8,0 und 8,5 ppm*. Ihr Muster (zwei Dubletts (J = 2,29 Hz) und ein Singulett) ist charakteristisch für sämtliche Derivate des Entacapon.

Die amidischen Ethylsubstituenten des Entacapon-Grundgerüstes sind sowohl in den Carbonaten als auch im Entacapon selbst durch den partiellen Doppelbindungscharakter der CN-Bindung in ihrer freien Drehbarkeit eingeschränkt. Sie erzeugen im ^{1}H-NMR-Spektrum durch Koaleszenz breite Singulettsignale bei 1,27 bzw. 3,50 ppm. Gleiches gilt für die Verhältnisse im ^{13}C-Magnetresonanzspektrum. Die Resonanzen der Methyl- bzw. Methylengruppen sind sehr breit und daher trotz großer Probenmengen und hoher Scanzahlen bisweilen nicht einwandfrei zu detektieren.

Im Falle des Carbonats des 4-Hydroxy-2-methylenbuttersäuremethylesters (**2-51**) zeigen die Protonen der amidischen Ethylgruppen schon bei Raumtemperatur ein Quartett und ein Triplett für die Methylen- bzw. die Methylgruppe im 400 MHz-Spektrum. Bei Vermessung derselben Probe im 500 MHz-Kernresonanzspektrometer erscheinen jedoch wieder die bereits beschriebenen breiten Singuletts. Grund dafür ist die Abhängigkeit der Koaleszenztemperatur von der Feldstärke der Messapparatur[171].

Betrachtungen zur Stereochemie:

Entacapon ist ein stereochemisch eindeutig definierter Stoff. Seine Doppelbindung im Propenamid-Grundgerüst besitzt in der pharmakodynamisch aktiveren Form die *E*-Konfiguration[55].

Die Umsetzung mit Isomerengemischen wie den Dimethylcyclohexanolen oder Norborneol ergab die Produkte **2-27**, **2-28** und **2-29**, welche Diastereomerengemische darstellen. Dies macht sich insbesondere im ^{1}H- und ^{13}C-NMR bemerkbar, in denen multiple Signalsätze der aliphatischen Protonen zu detektieren sind, die nicht

* Die Zuordnung der Signale wurde durch ein COSY-Spektrum verifiziert.

von einer Verunreinigung mit dem Edukt herrühren. NMR-Experimente mit zugesetztem Edukt belegten diese Beobachtung, da die chemischen Verschiebungen der Edukte sich von den Signalen der Prodrugreste unterscheiden.

Die Trennung dieser Isomere ist für die Testungen der Freisetzungsaktivitäten nicht relevant, sodass diese aufwändige Aufbereitung des Probenmaterials unterblieb.

3.1.3.2 Analytik der 3,4-Biscarbonate

Im Gegensatz zu den Monocarbonaten zeigen die (bis)-substituierten Vertreter keine Farbigkeit mehr. Sie fielen als farblose Öle an. Diese Beobachtung ist anhand des bei den monosubstituierten Derivaten vorgestellten Modells zur Erklärung der Farbigkeit leicht nachvollziehbar. Die Umkehrung des Mesomerieeffektes in Position 4 durch die Acylierung der OH-Gruppe von einem Substituenten mit +M-Effekt (-OH) zu einem Substituenten mit -M-Effekt (-O-C=O) lässt den Charge-Transfer mit der Nitrogruppe nicht mehr zu Stande kommen. Die Verkleinerung des mesomeren Systems zieht einen Verlust der Farbigkeit nach sich.

Das ^{1}H-NMR-Spektrum (Abb. 3-26) zeigt, abgesehen von der fehlenden OH-Resonanz und den verdoppelten Signalen der Protonen der Substituenten, keine Unterschiede zu dem der monosubstituierten Derivate auf. Die aromatischen Protonen erfahren nur eine minimale Änderung ihrer chemischen Verschiebung.

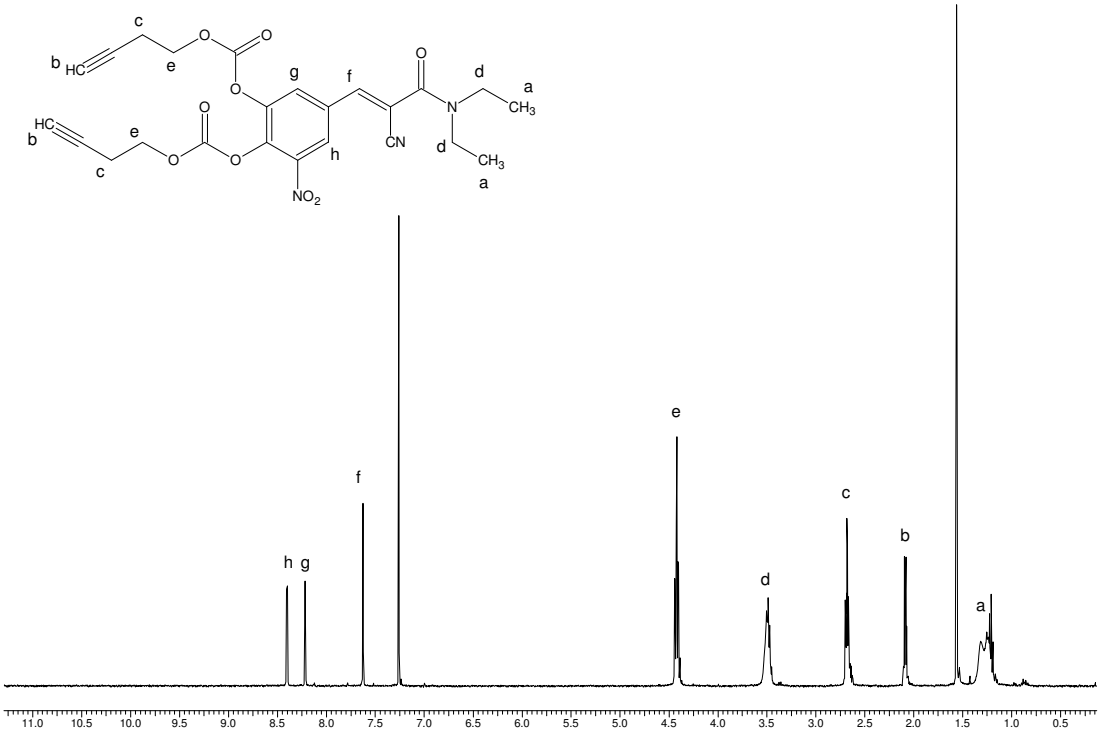


Abb. 3-26: ^{1}H-NMR-Spektrum des Biscarbonats (**3-1**) (400 MHz, $CDCl_3$).

Die Resonanzschwingungen der beiden Carbonat-Carbonyle erscheinen im Infrarotspektrum bei 1777 und 1769 cm^{-1}. Die Signale der OH-Gruppen fehlen erwartungsgemäß.

3.1.3.3 Analytik des cyclischen Carbonats

Das cyclische Carbonat des Entacapon (**4**) besitzt eine deutlich größere Reaktivität als das 5-Nitrobenzodioxolon (**XII**), welches in orientierenden Vorversuchen zur Darstellung cyclischer Carbonate gewonnenen wurde (vgl. Kap. 3.1.2.2). Die Ursache ist in der Struktur des Arzneistoffs, insbesondere in der Stellung der Nitrogruppe in Relation zur Catecholstruktur zu suchen.

Der pK_s-Wert von Entacapon macht deutlich, dass es sich bei der OH-Gruppe in Position 4 um eine hochreaktive Funktionalität handelt. Die in ortho-Stellung gelegene Nitrogruppe und die in para-Position substituierte vinyloge Carbonylgruppe üben neben dem Elektronen-

zug einen derart starken -M-Effekt aus, dass sich für die phenolische OH-Gruppe ein pK_s-Wert von 4,5 ergibt[172].

Acylierungen dieser OH-Gruppe ergeben durch phenyloge und vinyloge Prinzipien zwangsläufig Produkte mit einem partiellen Anhydrid-Charakter, was die extreme Labilität des cyclischen Carbonats und die daraus resultierende mangelhafte Lagerstabilität erklärt.
Ferner ist dieser Umstand für die Regioselektivität der vorgestellten Monocarbonatsynthesen verantwortlich.

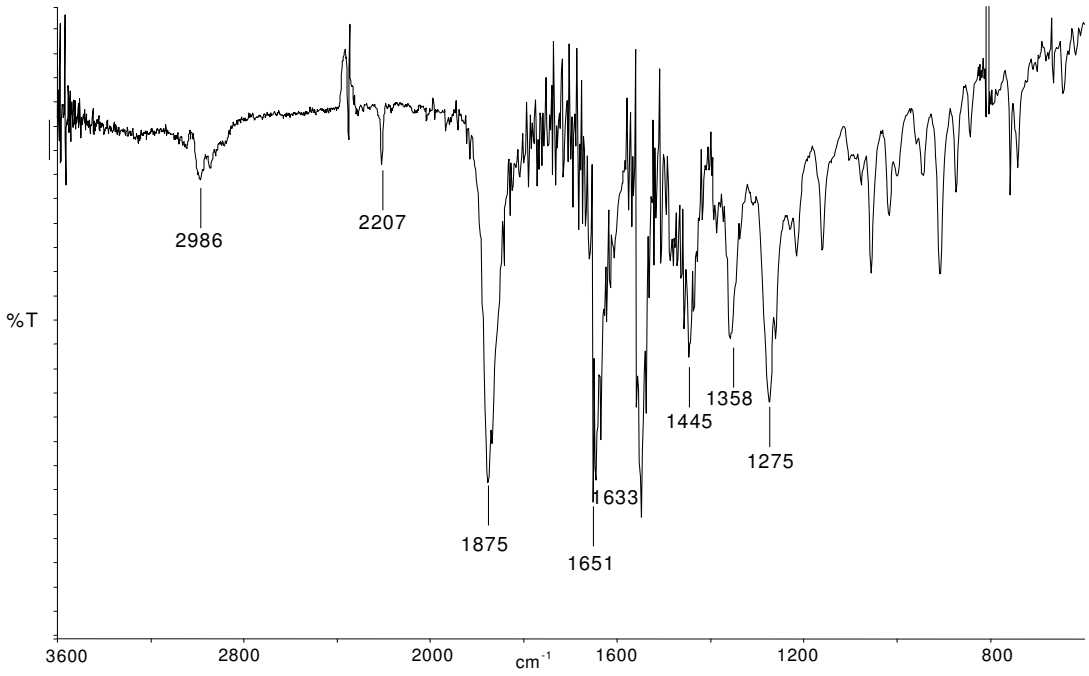


Abb. 3-27: IR-Spektrum (KBr) des cyclischen Carbonats des Entacapon (**4**).

Auch das Infrarotspektrum des cyclischen Carbonats (Abb. 3-27) spiegelt die Aktivität der Carbonylgruppe deutlich wider. Die Valenzschwingung der Carbonatfunktion erscheint bei 1875 cm^{-1}, wohingegen das Carbonylsignal der Modellsubstanz 5-Nitrobenzodioxolon bei 1840 cm^{-1} zu beobachten ist.

Sowohl die Carbonylbanden der aus der Umsetzung mit Alkoholen resultierenden Monocarbonate, die im Bereich von 1753 bis 1787 cm^{-1} absorbieren, als auch die des Entacapon-Rückgrats, sind deutlich getrennt von den Signalen des Dioxolon-Carbonyls zu beobachten, so dass dessen vollständiges Verschwinden zur Endpunktbestimmung der Ringöffnungsreaktionen herangezogen werden kann.

Die Identität des cyclischen Carbonats kann ungeachtet seiner Labilität mittels ^{1}H- und ^{13}C-Magnetresonanzspektroskopie nachgewiesen werden. Die erhaltenen Spektren zeigen trotz Lagerung im Kühlschrank und schneller Vermessung bereits deutliche Signale (ca. 12%) des Hydrolyseprodukts Entacapon.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum sind das Fehlen des Hydroxylprotonensignals bei 10,93 ppm und die Verschiebung der Signale der aromatischen Protonen ins tiefere Feld Indikatoren der erfolgreichen Synthese des cyclischen Carbonats. Die Auswertung des ^{13}C-NMR-Spektrums zeigt die Anwesenheit eines zusätzlichen Signals bei 149,0 ppm (C=O).

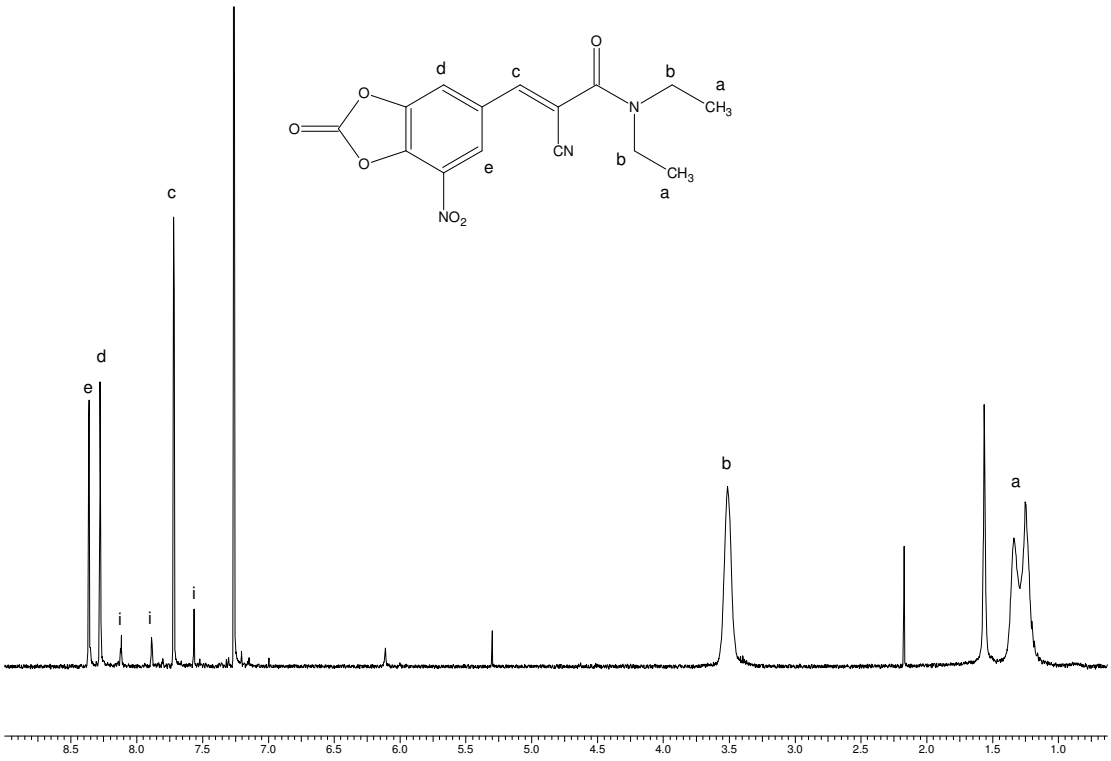


Abb. 3-28: ^{1}H-NMR-Spektrum des cyclischen Carbonats von Entacapon (**4**) (400 MHz, $CDCl_3$). Die mit (i) gekennzeichneten Signale stammen von den aromatischen bzw. olefinischen Protonen des Hydrolyseprodukts Entacapon (**1**).

Eine Reinheitsbestimmung mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) konnte nicht durchgeführt werden, da die Substanz bereits beim Lösen in Wasser/Acetonitril Entacapon entband, was an der sofortigen Gelbfärbung der Lösung erkennbar war. Im Chromatogramm erschien lediglich das Signal des Entacapon bei einer Retentionszeit von 16,47 min (Methode 4, vgl. Kap. 5).

Das cyclische Carbonat des Entacapon lieferte ein sehr interessantes Massenspektrum, auf welches an dieser Stelle kurz eingegangen werden soll (Abb. 3-29 und 3-30).

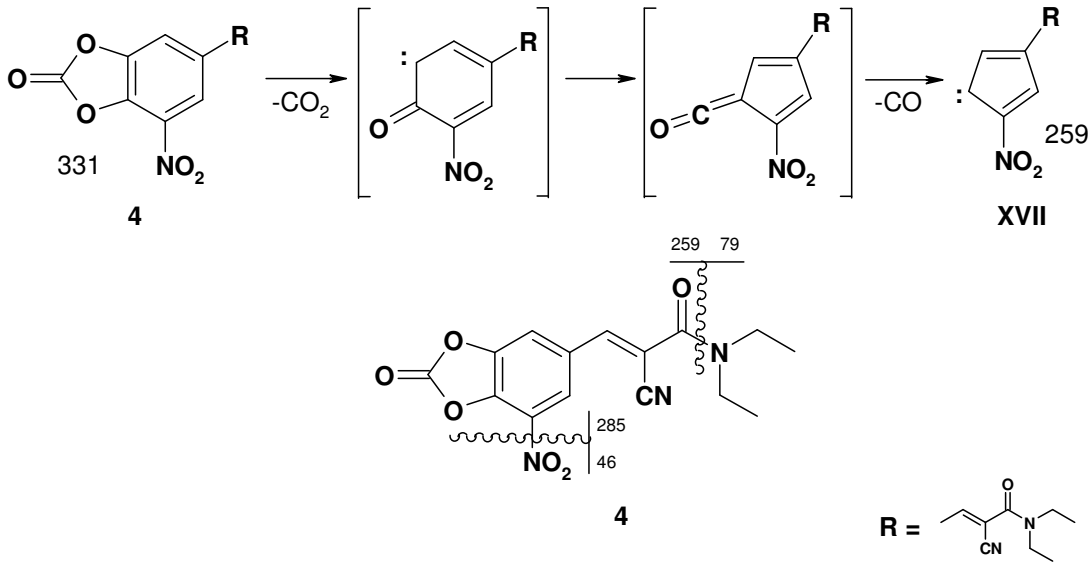


Abb. 3-29: Produkte der Fragmentierungsreaktionen im Massenspektrum.

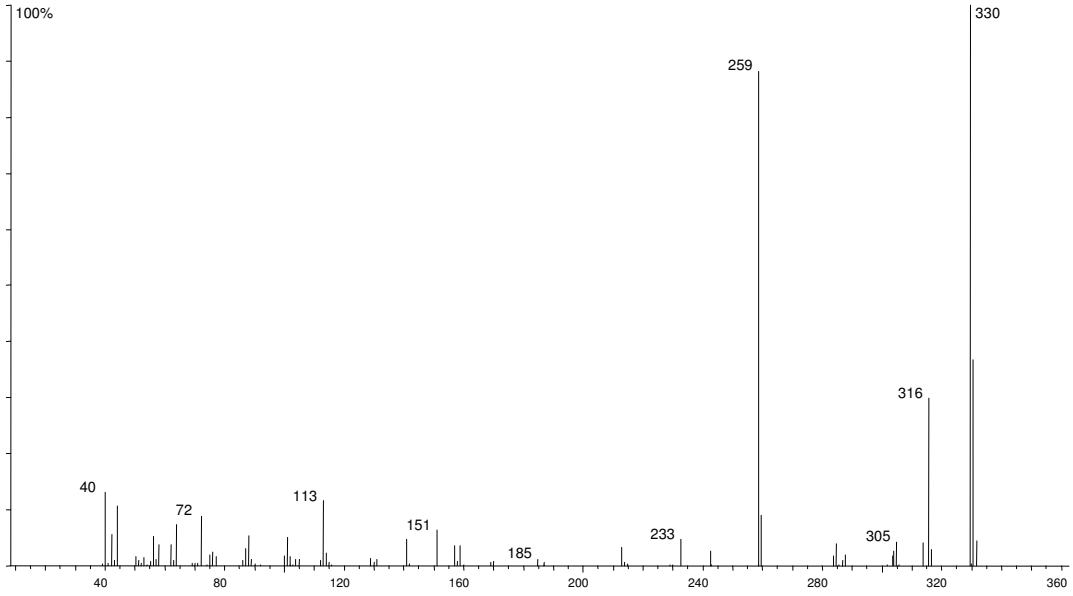


Abb. 3-30: Massenspektrum von (**4**) (Elektronenstoß-Ionisierung (EI)).

Neben dem Massenpeak bei 330 M/z ($M^{\bullet}$-H^{+}) erscheinen Signale von Spaltprodukten durch den Verlust von CO-, CO_2- und NO_2-Fragmenten sowie ein Fragmentierungsprodukt durch α-Spaltung. Dabei tritt eine für o-Phenylencarbonate typische Ringverengungsreaktion zum Cyclopentadienylkation (**XVII**) auf (vgl. Abb. 3-29, oben)[173].

Das cyclische Carbonat besitzt nicht nur für die Synthese der Carbonate eine zentrale Bedeutung. Die Umsetzung von Aminen mit dieser reaktiven Zwischenstufe führt zu der Stoffklasse der Carbamate, womit sich das folgende Kapitel eingehend befasst.

3.2 Carbamate*

3.2.1 Literatur

Die bereits in Kap. 3.1 erwähnte Arbeitsgruppe der Universität von Kuopio in Finnland widmete sich in einer Veröffentlichungen einigen Carbamatderivaten des Entacapon.

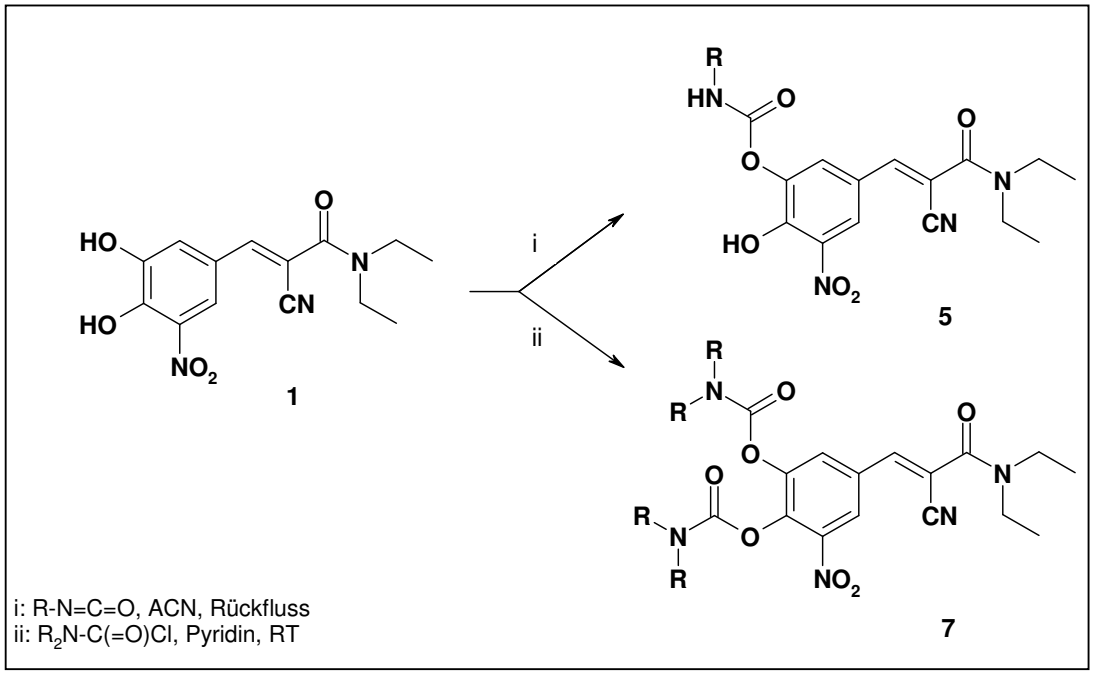


Abb. 3-31: Carbamatsynthesen nach *Savolainen und Mitarbeiter*[174].

Am Stickstoffatom einfach substituierte Monocarbamate des Entacapon (**5**) wurden durch Umsetzung mit Isocyanaten in Acetonitril unter Rückfluss erhalten (Abb. 3-31, i). Die Reaktion von Entacapon mit Carbamoylchloriden bei Raumtemperatur führte zu den sog. Biscarbamaten (**7**), die über jeweils zwei Alkylreste am Stickstoffatom verfügen (vgl. Abb. 3-31, ii).

* Die IUPAC-konforme Nomenklatur der Entacaponderivate, deren Synthese in diesem Kapitel beschrieben ist, sieht eine Benennung als Alkyl- und Arylcarbamidsäureester vor.
Um eine bestmögliche Übersichtlichkeit der Derivate zu gewährleisten wird im Folgenden jedoch von (Mono-) Carbamaten des Entacapon die Rede sein. Die Bis-(*N*,*N*-Dialkylcarbamidsäure)-ester werden analog als Biscarbamate bezeichnet. Die IUPAC-konforme Benennung der einzelnen Vertreter ist im Experimentellen Teil (Kap. 5) festgehalten.

Untersuchungen zur chemischen und enzymatischen Hydrolysierbarkeit dieser Prodrug-Stoffklassen ergaben eine zu hohe Stabilität der Biscarbamate. Weder in wässriger Lösung (pH 3/pH 7,4) noch in humanem Blutserum erfolgte eine detektierbare Freisetzung von Entacapon.
Die Monocarbamate* hingegen zeigten in den Tests auf chemische Hydrolysierbarkeit Halbwertzeiten zwischen 6 und 16 h, in den *in vitro* Studien mit humanem Blutserum ergaben sich Werte zwischen 1,9 und 2,7 h[174].

Ferner gelang es der Forschergruppe ein Codrug aus Levodopa (**XVIII**) und Entacapon (**1**) herzustellen (vgl Kap. 1.3.2.6)[139]. Die Verknüpfung der beiden Wirkstoffe erfolgte über eine Carbamatbrücke. Die Aminogruppe des diacetylierten Levodopa wurde zu diesem Zweck mit Diphosgen in eine Isocyanatfunktion (**XIX**) überführt und anschließend unter den in Abb. 3-32 dargestellten Reaktionsbedingungen mit Entacapon umgesetzt. Auch dieses Derivat zeigte adäquate Freisetzungseigenschaften beider Wirkstoffe.

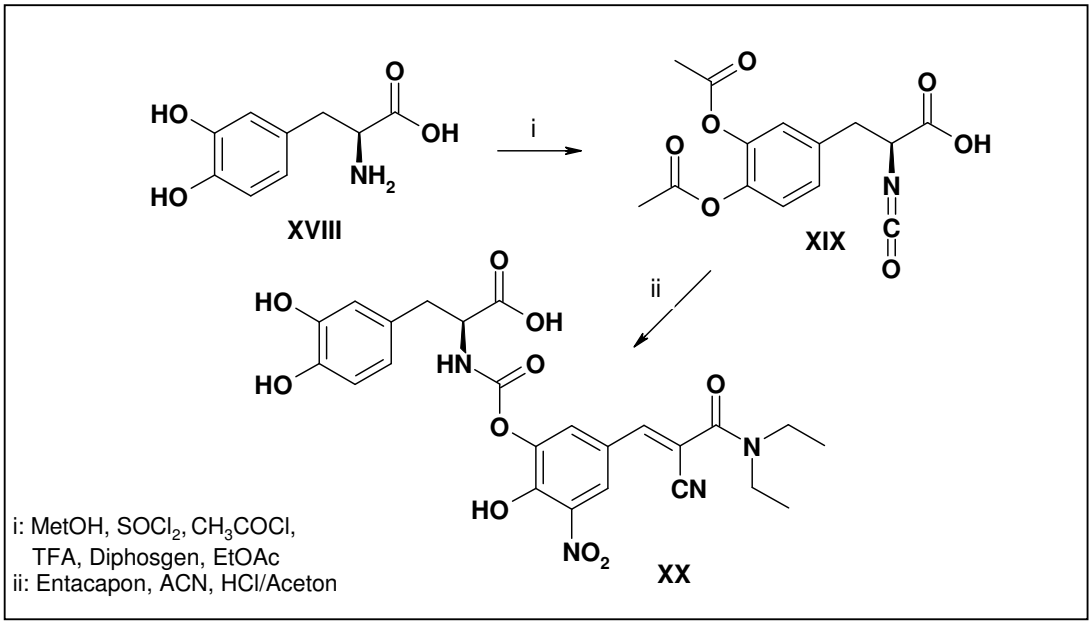


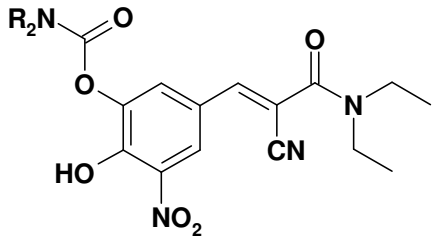
Abb. 3-32: Synthese des Entacapon-Levodopa-Codrugs (**XX**) nach *Leppänen und Mitarbeitern*[139].

* Derivate mit folgenden Alkylresten wurden hergestellt und untersucht: R = Ethyl-, n-Butyl-, *tert.*-Butyl-.

Diese Ergebnisse wurden zum Anlass genommen, weitere Carbamatderivate zu synthetisieren. Die Palette der bekannten *N*-monoalkylierten Verbindungen (**5**) sollte insbesondere um solche Substanzen mit sterisch anspruchsvollen Resten am Stickstoffatom erweitert werden, da hier eine langsamere Hydrolyse erwartet wurde.

Eine erhöhte Freisetzungsrate postuliert *Christenson* für aromatische *N*-monosubstituierte Carbamate[175], deren Synthese und Testung ebenfalls durchgeführt wurde.

Ferner schien die Stoffgruppe der *N*,*N*-dialkylierten Monocarbamate vom Typ (**6**) eine sinnvolle Erweiterung der Auswahl an Testverbindungen zu sein. Die Freisetzung der Muttersubstanz aus diesem Typ der Carbamate erfolgt nach *Dittert und Mitarbeitern* langsamer als aus den *N*-monosubstituierten Analoga (**5**, vgl. kap. 1.3.2.2)[114].
N,*N*-disubstituierte Monocarbamate sind jedoch nicht über die Umsetzung mit Isocyanaten zugänglich, weshalb hier ein neuer Weg beschritten werden musste.



6

Abb. 3-33: *N*,*N*-dialkylierte Carbamate (**6**).

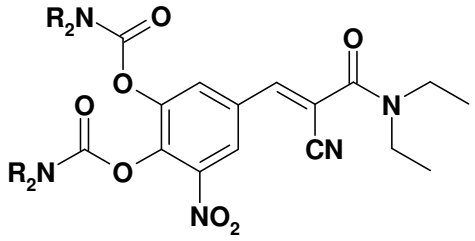
Die Biscarbamate (**7**) werden in kleinem Maßstab zwecks Verifizierung der finnischen Ergebnisse hergestellt.

3.2.2 Synthese

3.2.2.1 Synthese von Carbamaten unter Verwendung von Carbamoylchloriden

Die Synthese der dialkylierten Biscarbamate (**7**) wurde durch Umsetzung mit Carbamoylchloriden in wasserfreiem Pyridin analog *Savolainen und Mitarbeitern*[174] verwirklicht (vgl. Abb. 3-31).

Auf diese Weise wurden zwei Derivate der bisfunktionalisierten Carbamate erschlossen (vgl. Abb. 3-34 und Tab. 3-5), deren experimentell ermittelten Freisetzungseigenschaften über die Synthese weiterer Vertreter dieser Gruppe entscheiden sollten.



7

Abb. 3-34: Struktur der Biscarbamate (**7**).

	NR_2	*E* (%)
7-1	Dimethylamino-	60,6
7-2	4-Morpholino-	53,2

Tab. 3-5: Synthetisierte Biscarbamate (**7**) mit prozentualem Anteil des *E*-Isomers an der Gesamtausbeute.

Beide Reaktionen lieferten ein Diastereomerengemisch des Biscarbamoylprodukts. Die Doppelbindung des Entacapon-Grundkörpers erfuhr während der Umsetzung eine partielle Inversion. Das unerwünschte (*Z*)-Isomer fiel dabei in einer relativen Menge von 40 bis knapp 47% an (vgl. Tab. 3-5)[*].

[*] *Savolainen und Mitarbeiter* beobachteten lediglich bei dem Bismorpholinocarbamat (**7-2**) eine Isomerisierung mit einem (*Z*)-Anteil von 15%[174].

Als Ursache der Isomerisierung wurde die Verwendung von wasserfreiem Pyridin als Solvens ermittelt. Die Anwesenheit einer Base im Reaktionsansatz ermöglicht den in Abb. 3-35 dargestellten Mechanismus, der zur Bildung des Diastereomerengemischs führt*.

Eine der mesomeren Grenzformeln des deprotonierten Monocarbamats zeigt freie Drehbarkeit der α-β-Bindung im Phenylpropenamidgerüst. Die so zugängliche inverse Struktur wird durch Carbamoylierung fixiert, wodurch sich folglich ein Isomerengemisch ergibt.

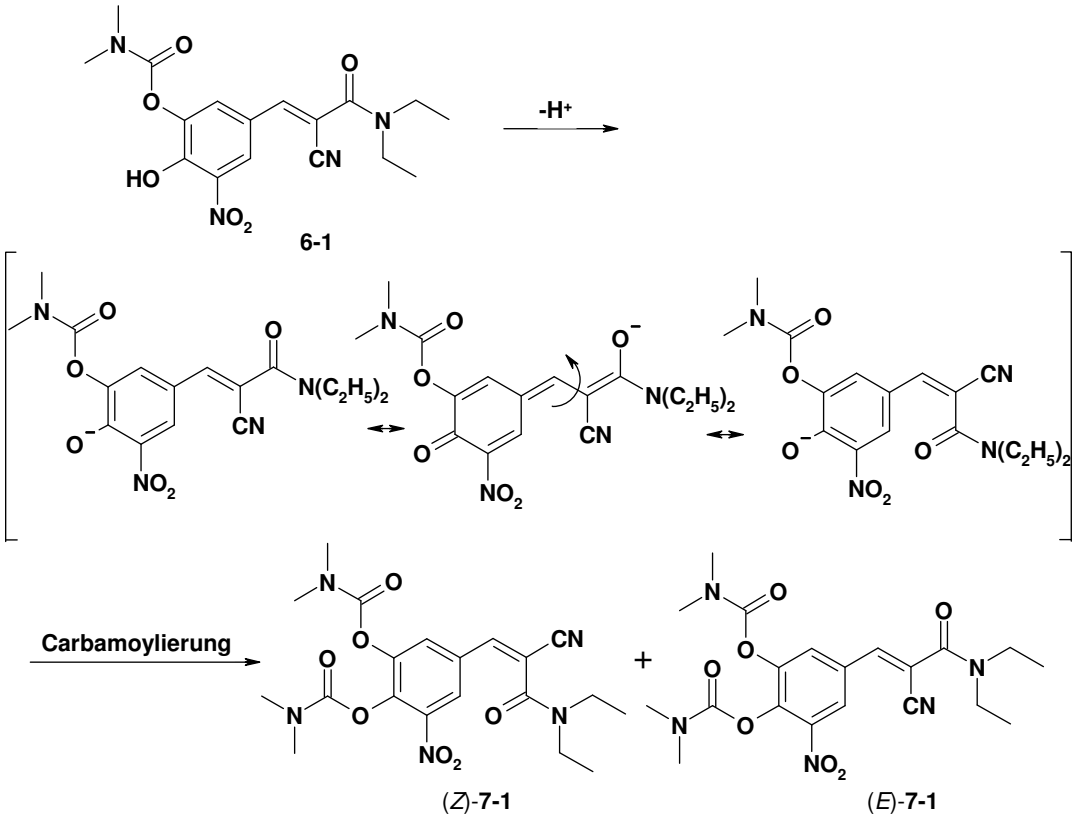


Abb. 3-35: Postulierter Isomerisierungsmechanismus des Phenylpropenamidgrundgerüsts am Beispiel der Synthese des Bis-(*N*,*N*-Dimethyl)-carbamats (**7-1**).

* Ein zunächst widersprüchlicher Befund war die partielle Isomerisierung des Reaktionsprodukts aus der Umsetzung von Entacapon mit Viehe-Salz (vgl. S. 76). Das ^{1}H-NMR-Spektrum des erhaltenen Bis-(*N*,*N*-dimethylcarbamats) (**7-1**) zeigte eine proz. Isomerisierung von ca. 30%. In Ermangelung einer zugesetzten Hilfsbase, die die Deprotonierung in Position 2 hätte bewirken können, wird das in situ entstehende Dimethylamin für die Inversion verantwortlich gemacht.

Gestützt wird die Theorie der basenkatalysierten Inversion durch Ergebnisse von Stabilitätstests. Neben der Isomerisierung, die sich nach Lagerung von Entacapon (**1**) in reinem Pyridin ergab (10% nach 72 h bei RT), zeigten auch Proben in Dichlormethan bei Zugabe von Triethylamin eine Isomerisierungstendenz (1,3-1,5% der Gesamtprobenmenge, detektiert mittels HPLC)[*].

Der Grund für die vergleichsweise geringeren prozentualen Anteile des (*Z*)-Isomers in diesen Stabilitätstests liegt vermutlich in der fehlenden Fixierung der inversen Propenamidstruktur durch Acylierung der OH-Gruppen.

In vitro-Freisetzungsstudien der biscarbamoylierten Entacapon-Derivate zeigten, dass diese analog den Ergebissen von *Savolainen und Mitarbeitern* eine zu hohe Stabilität aufweisen (vgl. Kap. 4.1.2). Entacapon wurde weder durch chemische noch durch enzymatische Hydrolyse in detektierbaren Mengen freigesetzt, so dass diese Substanzklasse für eine Prodrug-Verwendung nicht in Frage kommt und weitere Synthesebemühungen in dieser Richtung eingestellt wurden.

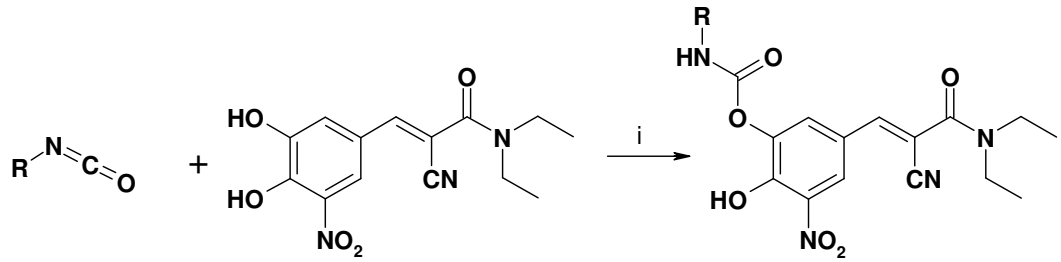
Die Synthese von *N*,*N*-dialkylierten Monocarbamat-Derivaten (**6**) konnte mit der vorgestellten Methode nicht realisiert werden, was von *Savolainen und Mitarbeiter*[174] bestätigt wird (zur Synthese dieser Derivate siehe Kap. 3.2.2.3).

[*] Unveröffentlichte Ergebnisse (Dr. W. Thimann).

3.2.2.2 Synthese von Carbamaten unter Verwendung von Isocyanaten

Die Monocarbamate des Entacapon waren nach der bereits vorgestellten Umsetzung mit Isocyanaten zugänglich.

Neben den literaturbekannten Derivaten (Ethyl-, *tert.*-Butyl-Carbamat) wurde die Reihe der zu testenden Substanzen um drei Vertreter erweitert, worüber Tabelle 3-6 informiert.



XXI **1** **5**

i: ACN, 80°C

Abb. 3-36: Carbamatsynthese ausgehend von Isocyanaten (**XXI**).

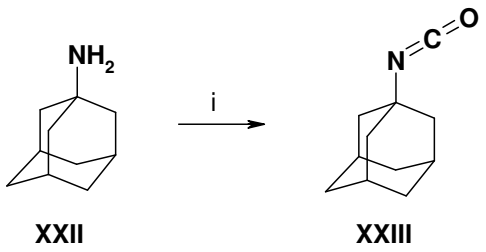
	R-	n_1:n_{XXI}	t	Ausbeute
5-1	Ethyl-	1:3	16 h	31%
5-2	*tert.*-Butyl-	1:2,4	48 h	34%
5-3	Allyl-	1:5	48 h	69%
5-4	n-Pentyl-	1:1,5	48 h	24%
5-5	Adamantyl-	1:5	5 d	17%

Tab. 3-6: Aus der Umsetzung von Entacapon mit Isocyanaten (**XXI**) hervorgegangene Carbamat-Prodrugs (angegeben ist außerdem das eingesetzte Verhältnis der Edukte (n_1:n_{XXI}), die Dauer der Umsetzung (t) und die relative Ausbeute in %).

Mit der Synthese des Carbamats **5-5** wurde das eingangs vorgestellte Prinzip eines Codrugs verwirklicht. Der NMDA-Rezeptorantagonist Amantadin wurde über eine Carbamatbrücke mit Entacapon verknüpft. Die Bioreversibilität dieses Derivats zeigten *in vitro* Studien, auf welche in Kapitel 4.1.2 näher eingegangen wird.

Die Voraussetzungen, die für eine sinnvolle Kombination zweier Wirkstoffe in einem Codrug gegeben sein müssen, wurden in Kapitel 1.3.2.6 ausführlich erläutert und sind im vorliegenden Fall erfüllt, da die Substanzen in nahezu äquimolarem Verhältnis appliziert werden*.

Für die Gewinnung des Adamantylderivats (**5-5**) wurde das entsprechende Isocyanat (**XXIII**) analog einer Vorschrift von *Skelly und Mitarbeitern* durch Umsetzung von Amantadin (**XXII**) mit Phosgen hergestellt (vgl. Abb. 3-37)[177].



XXII **XXIII**

i: Phosgen, Toluen, Pyridin, 0°C → RT, 16 h

Abb. 3-37: Synthese des Adamantyl-Isocyanats (**XXIII**) nach *Skelly und Mitarbeitern*[177].

Die geringen Ausbeuten bei der Gewinnung des Codrugs (**5-5**), im Vergleich zu den bei der Umsetzung mit sterisch weniger anspruchsvollen Isocyanaten erzielten Produktmengen, gaben Anlass zur Optimierung der Synthesebedingungen.

Der Eintrag von elektromagnetischer Strahlung im Wellenlängenbereich der Mikrowellen unter den Bedingungen eines geschlossenen Systems sollte den nukleophilen Angriff der phenolischen OH-Gruppe an der Isocyanatstruktur erleichtern (vgl. Abb. 3-38).

Die Umsetzung wurde in einer Apparatur der Firma CEM GmbH unter Beibehaltung des bei der konventionellen Methode verwendeten Lösungsmittels (Acetonitril) durchgeführt. Die Menge des Adamantylisocyanats (**XXIII**) musste auf 1,5 Äquivalente reduziert werden, da

* Ausgehend von den angegebenen Tagesdosierungen werden täglich 1,3-6,6 mmol Entacapon bzw. 1,2-3,6 mmol Amantadin appliziert[88, 176].

andernfalls Löslichkeitsprobleme aufgrund der geringen Lösungsmittelmenge aufgetreten wären*. Zur Erhöhung des Energieeintrages wurde die Probe während der Bestrahlung im Luftstrom gekühlt, sodass vergleichbare Bedingungen zur konventionellen Synthese vorlagen†.

Der Methodenvergleich in Tabelle 3-7 zeigt, dass die Mikrowellenmethode sowohl unter dem Aspekt der Zeitersparnis, als auch im Hinblick auf die Ausbeute eine vorteilhafte Alternative darstellt.

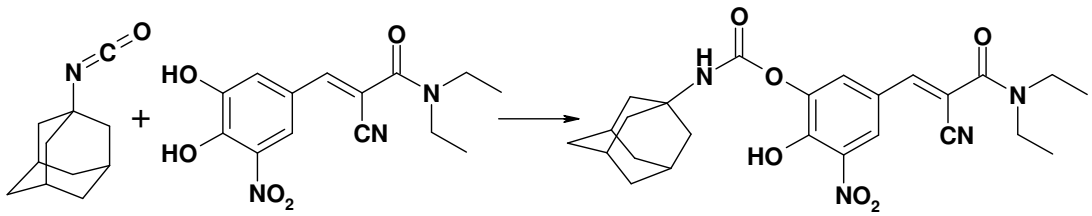


Abb 3-38: Synthese des Adamantylcarbamats (**5-5**).

	Konventionelle Methode	**Mikrowellen-methode**
Zeit	5 d bei 80°C	20 min bei 150 Watt; 3 d bei RT
Reinigung	Aufwändige Abtrennung des überschüssigen Eduktes durch SC und Umkristallisieren	SC
Ausbeute	17%	53%

Tab. 3-7: Methodenvergleich: konventionelle Methode contra Mikrowellenmethode.

* Die Vials zur Durchführung mikrowellengestützter Versuche umfassen eine maximale Lösungsmittelmenge von 8 ml.

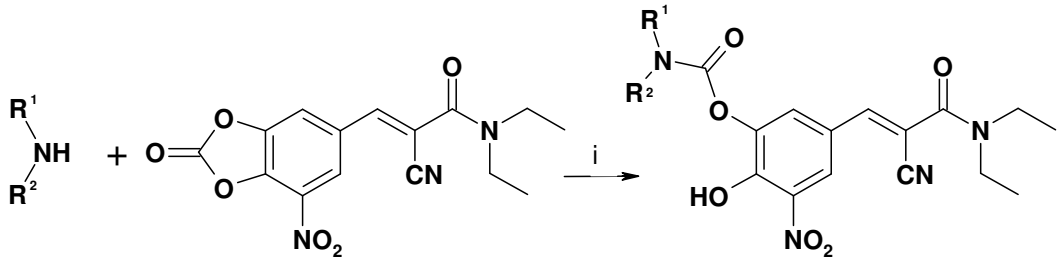
† Die gewählte Methode (P_{max}: 150 Watt, p_{max}: 18 bar, T: 100°C) erzeugte bei Kühlung mit Druckluft konstante Bedingungen über die gesamte Reaktionszeit (100°C, 3 bar, 150 Watt).

Die Testung der vorgestellten Monocarbamoylderivate ergab die erwarteten guten Prodrug-Eigenschaften im Hinblick auf Hydrolyseverhalten im wässrigen Medium und Freisetzung der Muttersubstanz Entacapon (vgl. Kapitel 4.1.2). Eine Fortsetzung der Synthesebemühungen zur Gewinnung der *N*-monoalkylierten Carbamate (**5**) aber auch der bislang nicht beschriebenen *N,N*-dialkylierten Monocarbamate (**6**) wurde folglich angestrebt.
Die schlechten Ausbeuten, die eingeschränkte Auswahl an Edukten und das zum Teil extreme Gefährdungspotential einiger Isocyanate (z. B. Methylisocyanat*) legte die Adaption des in Kapitel 3.1.2.3 vorgestellten Verfahrens zur Synthese von Carbonaten durch Öffnung des Benzodioxolonkörpers nahe. Die aza-analogen Verbindungen (**5** + **6**) wurden folglich durch Umsetzung unterschiedlich substituierter Amine mit dem cyclischen Carbonat des Entacapon (**4**) zugänglich gemacht.

* Bei der Explosion eines Chemikalientanks in Bhopal (Indien) wurden im Dezember 1984 40 t Methylisocyanat freigesetzt und verursachten den unmittelbaren Tod von ca. 7600 Menschen sowie eine bis heute stetig steigende Zahl von Opfern durch Spätschäden (Schätzungen liegen bei ca. 20 000 Opfern)[178].

3.2.2.3 Synthese von Carbamaten durch Aminolyse des cyclischen Carbonats

Analog der Alkoholyse des cyclischen Carbonats (beschrieben in Kap. 3.1.2.3), sind *N*-monoalkylierte und *N,N*-dialkylierte Monocarbamate des Entacapon (**5**/**6**) durch Aminolyse des Dioxolon-Körpers (**4**) mit primären bzw. sekundären Aminen zugänglich (siehe Abb. 3-39).
Die aus dieser Reaktion resultierenden Carbamate sind in den Tabellen 3-8 und 3-9 zusammengefasst.



i: CH_2Cl_2, RT

Abb. 3-39: Öffnung des cyclischen Carbonats (**4**) mit Aminen (**XXIV**).

	R^1-	**R^2-**
5-6	Methyl-	H-
5-7	Benzyl-	H-
5-8	Phenyl-	H-
5-9	4-Methoxyphenyl-	H-
5-10	4-Phenoxyphenyl-	H-
5-11	3-Chlorphenyl-	H-
5-12*	Acetoxyethyl-	H-
5-13	Cyclopropyl-	H-
5-14	Cyclobutyl-	H-
5-15	Cyclopentyl-	H-
5-16	Cycloheptyl-	H-

* Das Edukt dieser Synthese (*O*-Acetylethanolamin-HCl) wird durch Acetylierung von Ethanolamin-HCl mit Acetylchlorid in der Kälte nach *Gmeiner und Mitarbeitern* gewonnen[179]. Zur Synthese und Analytik siehe Kapitel 5.3.

	R^1-	R^2-
5-17	Cyclopropylmethyl-	H-
5-18	2-Hydroxy-2-phenylethyl-	H-
5-19	1-Phenylethyl-	H-
5-20	1-Naphthyl-	H-

Tab. 3-8: *N*-monosubstituierte Carbamate (**5**) durch Aminolyse des cyclischen Carbonats.

	R^1-	R^2-
6-1	Methyl-	Methyl-
6-2	Ethyl-	Ethyl-
6-3	Benzyl-	Ethyl-
6-4	Cyclohexyl-	Phenyl-
6-5	Cyclohexyl-	Cyclohexyl-
6-6	Ethyl-	Isopropyl-
6-7	Morpholino-	
6-8	Pyrrolidino-	
6-9	Piperidino-	

Tab. 3-9: *N*,*N*-disubstituierte Carbamate (**6**) durch Aminolyse des cyclischen Carbonats.

Die Synthese von ortho- und para-halogensubstituierten Phenylcarbamaten* gelang analog den entsprechenden Carbonaten unter diesen Bedingungen nicht, was auch von *Ohme und Mitarbeitern* bei der Umsetzung von p-Chloranilin mit unsubstituiertem Brenzcatechincarbonat beobachtet wurde[180].

* Die Synthese weiterer Phenylcarbamate wurde aus einem zweiten Grund nicht forciert: Die Zerfallsreaktion des Prodrugs analog Abb. 1-23 setzt aus derartigen Verbindungen cancerogene und methämoglobinbildende Anilinderivate frei, was der Unbedenklichkeit der Verbindungen widerspricht.

3.2.3 Analytik

In den folgenden Abschnitten sollen die Eigenschaften der Carbamate systematisch beschrieben werden. Zu diesem Zweck bietet sich eine Einteilung dieser Stoffgruppe in drei Untergruppen gemäß Abb. 3-40 an.

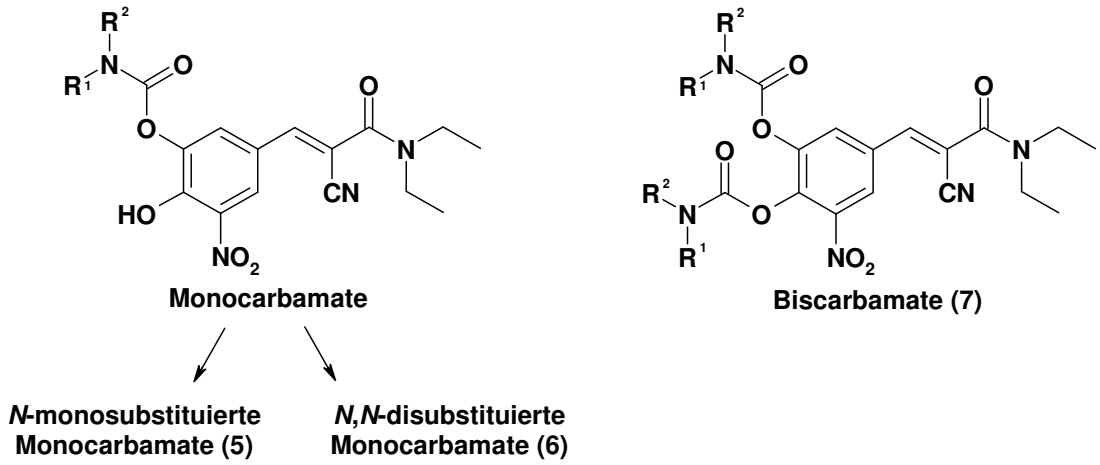


Abb. 3-40: Systematische Einteilung der Carbamatprodrugs*.

3.2.3.1 Analytik der N-monosubstituierten Monocarbamate

Bei allen Monocarbamaten handelt es sich um gelbe amorphe oder kristalline Verbindungen. Die Absorptionsmaxima des UV/Vis-Spektrums zeigen bei der Carbamoylierung (im Gegensatz zu den Carbonaten) zwar einen hyposochromen Shift (304 nm → 273 nm), jedoch taucht ein drittes Absorptionsmaximum bei 372 nm auf, welches für die notwendige Resonanz im sichtbaren Bereich verantwortlich ist.

Die Interpretation eines ^{1}H-NMR-Spektrums wird hier exemplarisch für das Spektrum des Methylcarbamats (**5-6**) durchgeführt (vgl. Abb. 3-41).

* Die vierte denkbare Gruppe der Carbonate (die *N*-monoalkylierten Biscarbonate) konnten nicht erhalten werden und sind deshalb auch nicht Gegenstand der analytischen Betrachtungen.

Ist in der Urethanfunktion ein Proton in α-Stellung vorhanden, so erscheint dessen Signal im Bereich zwischen 2,7 und 5,9 ppm (abhängig von der Natur der Seitenkette) mit detektierbarer Kopplung zum Proton am Stickstoff (Signal b). Dieses wiederum verursacht ein Resonanzsignal bei ca. 5,4 ppm (Signal d).

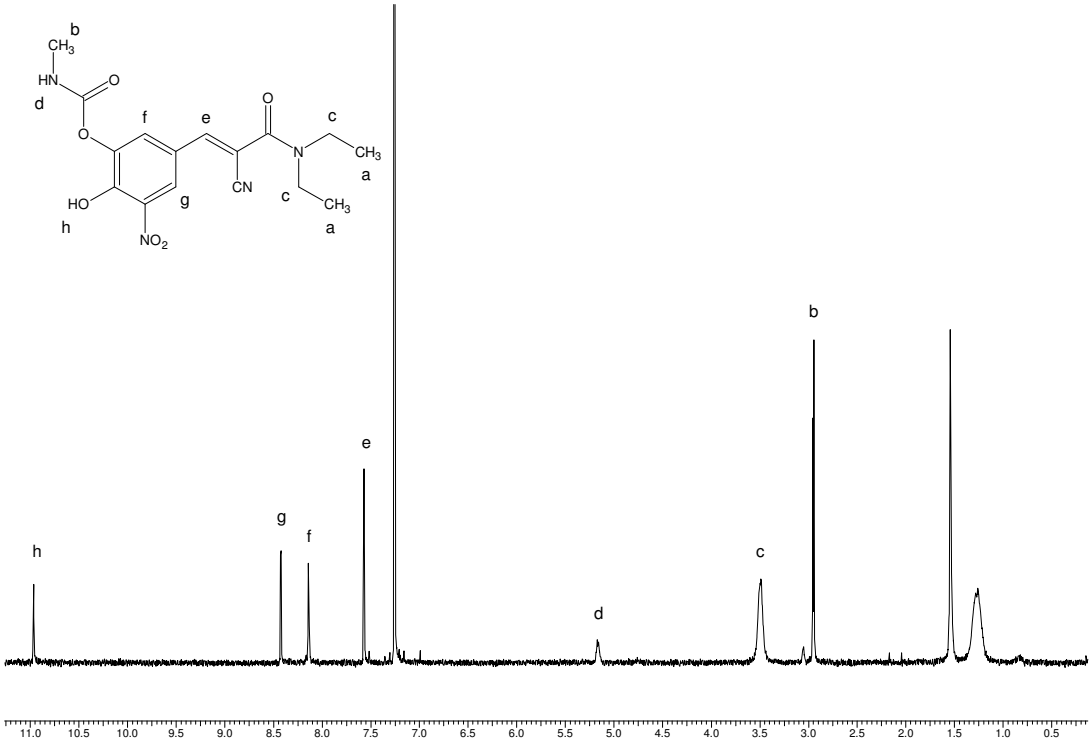


Abb. 3-41: ^{1}H-NMR-Spektrum von (**5-6**) (400 MHz, $CDCl_3$).

Die Signale der Methylen- bzw. Methylgruppe der Amidstruktur treten analog den Ausführungen in Kap 3.1.3.1 als breite Singuletts in Erscheinung (Signale a + c).

Im Infrarotspektrum der *N*-monoalkylierten Monocarbamate ist die C=O-Valenzschwingung der neu gebildeten Carbamatgruppe zwischen 1738 und 1753 cm^{-1} zu erkennen (siehe Abb. 3-42). Die amidische Carbonylgruppe des Entacapon-Grundgerüstes liefert eine Zwillingsbande bei 1636/1622 cm^{-1}. Die Bande der NH-Valenzschwingung liegt bei ca. 3260 cm^{-1}.

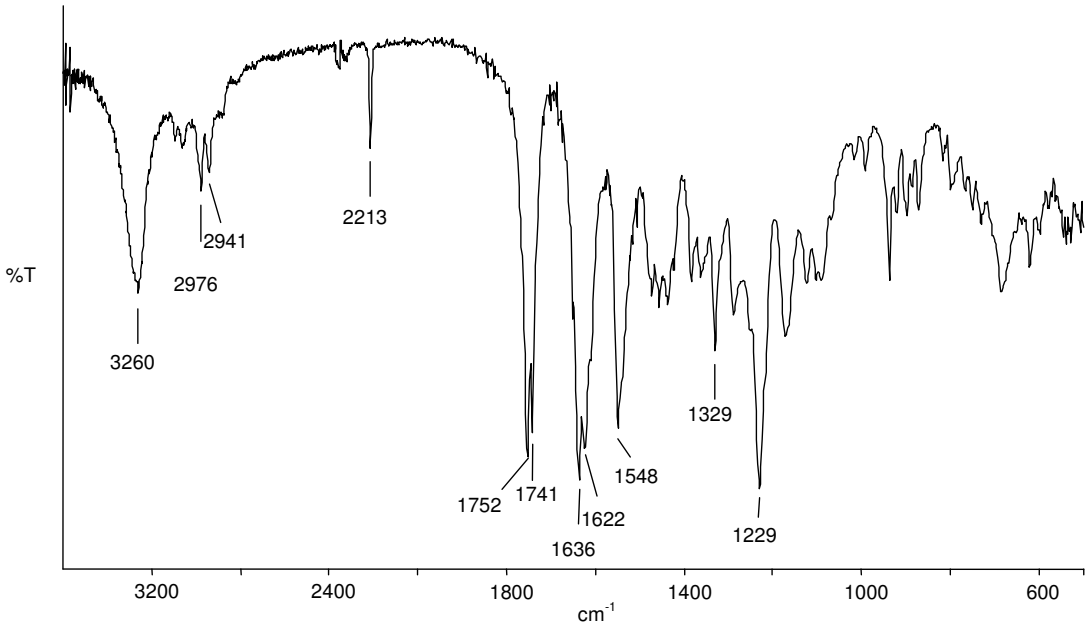


Abb. 3-42: Infrarotspektrum (KBr) des Methylcarbamats (**5-6**).

3.2.3.2 Analytik der N,N-dialkylierten Monocarbamate

Der Ersatz des Protons am Stickstoff der Urethanfunktion durch eine Alkylgruppe ändert an dem Absorptionsverhalten des Chromophors im ultravioletten und visuellen Frequenzbereich nichts. Die Ausführungen zur Farbigkeit der Monocarbonate gelten auch für diesen Verbindungstyp.

Verglichen mit dem auf S. 118 erläuterten ^{1}H-NMR-Spektrum des monoalkylierten Vertreters fehlt in den Spektren *N*,*N*-dialkylierter Monocarbamate lediglich das Signal des Protons der NH-Gruppe. Die chemische Verschiebung der übrigen Signale unterscheidet sich maximal in der zweiten Nachkommastelle von den entsprechenden Signalen der *N*-monoalkylierten Derivate.

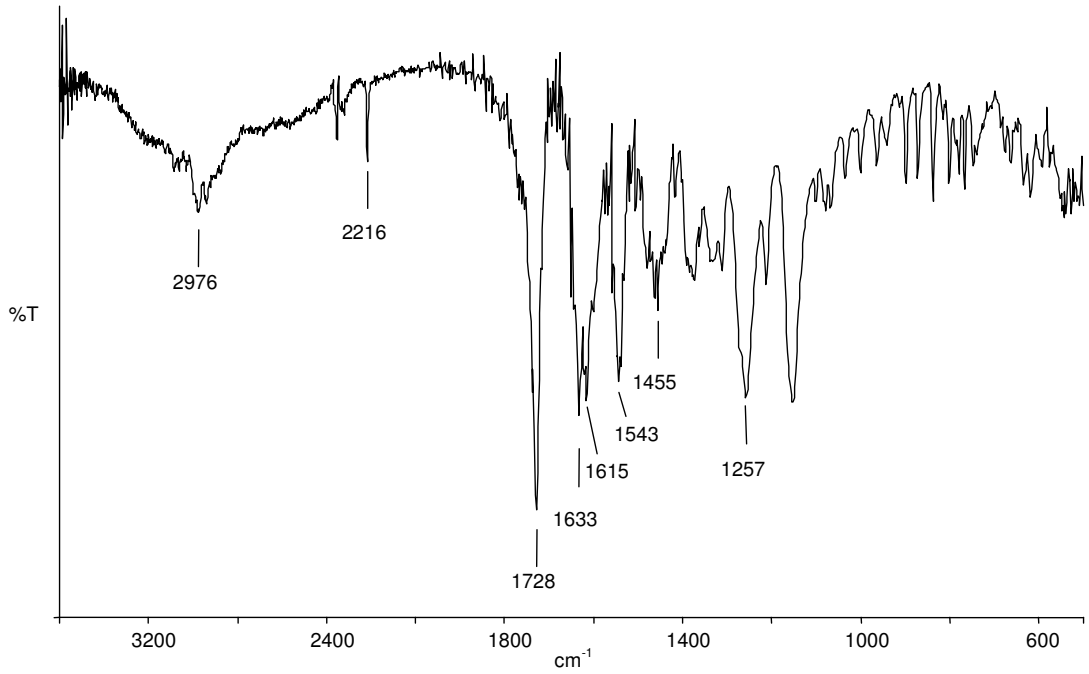


Abb. 3-43: Infrarotspektrum (KBr) von Verbindung (**6-1**).

Im IR-Spektrum des Dimethylcarbamats des Entacapon (**6-1**) ist zu beobachten, dass die NH-Bande bei 3260 cm^{-1} verschwunden und stattdessen eine schwache OH-Absorption oberhalb von 3100 cm^{-1} sichtbar ist (vgl Abb. 3-43). Die Carbonylbande des Carbamats absorbiert im Vergleich zu den *N*-monoalkylierten Vertretern bei etwas niedrigeren Wellenzahlen (1715-1738 cm^{-1}).

3.2.3.3 Analytik der N,N-dialkylierten 3,4-Biscarbamate

Die biscarbamoylierten Verbindungen sind farblose bis schwach gelbliche Substanzen. Im UV/VIS-Spektrum wird im Bereich über 400 nm keine Absorption beobachtet. Die Maxima liegen ähnlich denen der Biscarbonate bei 227 und 275 nm. Für die Ursache des Verschwindens der Farbigkeit dieser Derivate gilt das in Kapitel 3.1.3.3 Ausgeführte.

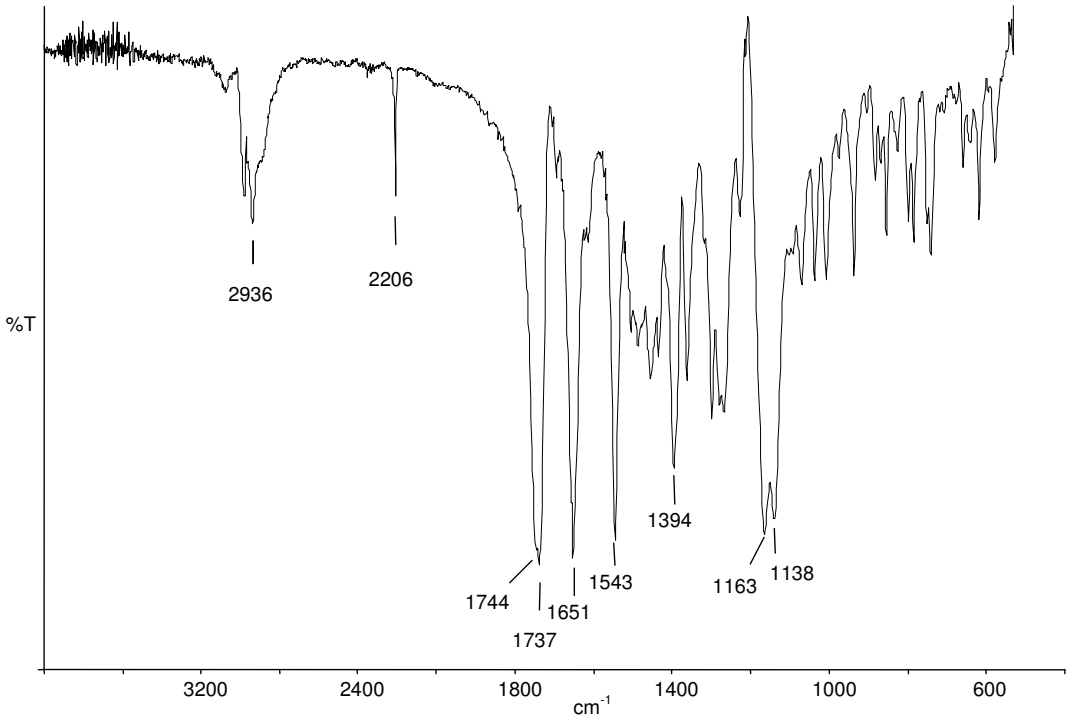


Abb. 3-44: IR-Spektrum (KBr) des Bis-(Dimethylcarbamoyl)-Derivats (**7-1**) [(*E*)-Isomer].

Das IR-Spektrum zeigt keine Absorption im Bereich >3100 cm^{-1} und eine doppelte Bande für die C=O-Streckschwingungen der Urethanfunktionen bei 1744 und 1737 cm^{-1}.

Wie bereits in Kapitel 3.2.2.1 erwähnt, entstehen bei der Synthese der Biscarbamate Isomerengemische durch partielle Inversion der Doppelbindung. Die Diastereomerenpaare lassen sich durch präparative Flash-Chromatographie trennen und erzeugen unterschiedliche ^{1}H-NMR-Spektren.

Die Zuordnung der ^{1}H-NMR-Spektren zu den Strukturen der Diastereomere kann analog zu den Untersuchungen von *Leppänen und Mitarbeitern*[144] erfolgen. Diese zeigten am Beispiel des Dibenzoylesters von Entacapon das unterschiedliche Verhalten der (*E*)/(*Z*)-Isomere in der ^{1}H-NMR-Analytik auf und konnten das Phänomen anhand von Röntgenkristallstrukturen erklären. Das bereits in Kapitel 3.1.3.1 dargestellte Signalmuster der amidischen Methylen- bzw. Methylgruppen des Entacapon-Rückgrats spielt dabei eine wichtige Rolle.

Eine detektierbare Kopplung der Protonen, die sich in Form zweier Tripletts bzw. Quartetts im ^{1}H-NMR-Spektrum niederschlägt (Signale 3 und 4 in Abb. 3-45), ist nur für das Produkt (*Z*)-**7-1**, nicht jedoch für das Produkt (*E*)-**7-1** zu beobachten. Letzteres zeigt die bekannten breiten Singulettsignale analog zu den Resonanzmustern im ^{1}H-NMR-Spektrum von Entacapon (Signale 1 und 2).

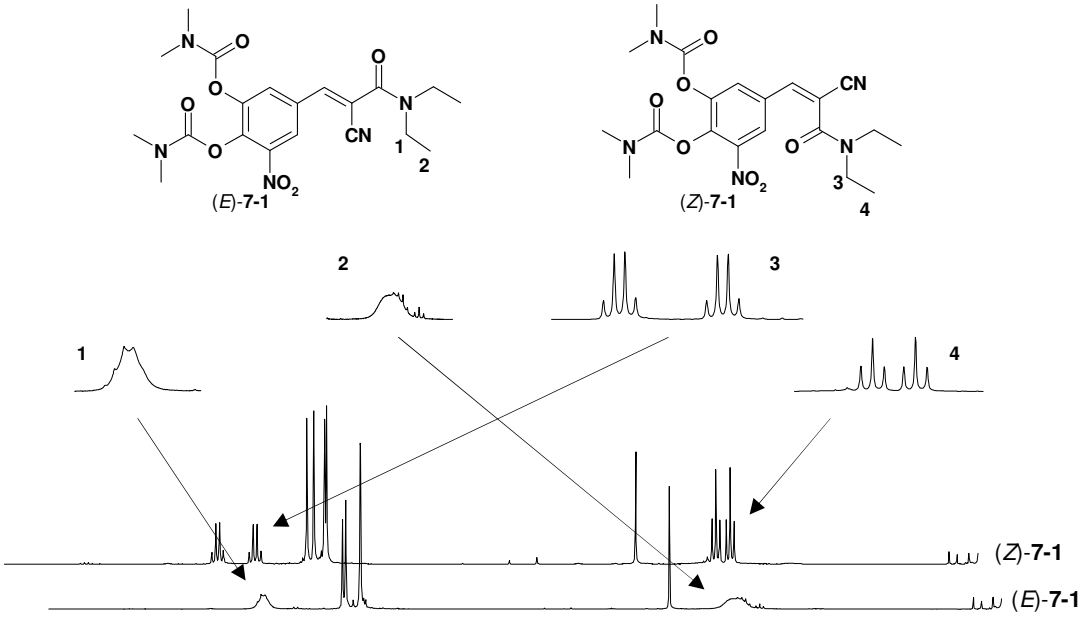


Abb. 3-45: Ausschnitte aus den ^{1}H-NMR-Spektren des (*E*)- und (*Z*)-Isomers von (**7-1**) (400 MHz, $CDCl_3$).

3.3 Ester

Auch im Bereich der Esterprodrugs des Entacapon gibt es bereits literaturbekannte Vertreter, die von *Leppänen und Mitarbeitern* synthetisiert und charakterisiert wurden[144].

Die Umsetzung von Entacapon mit Säurechloriden (i, nach *Einhorn*[181]), Säureanhydriden (ii) oder mit freien Säuren unter Zuhilfenahme des Aktivierungsreagenzes DCC (iii) führte zu mono- und bissubstituierten Esterprodrugs aliphatischer Säuren* (vgl. Abb. 3-46).

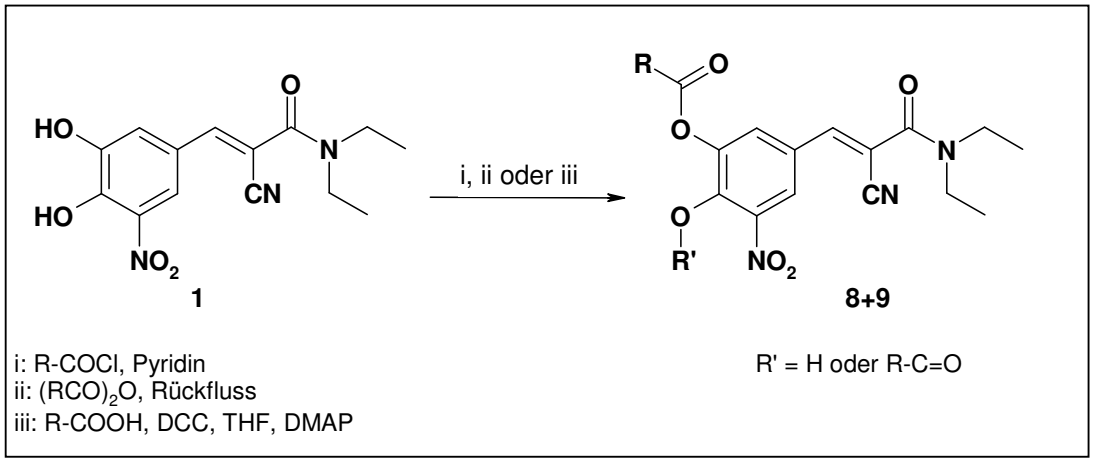


Abb. 3-46: Synthese von Esterprodrugs nach *Leppänen und Mitarbeitern*[144].

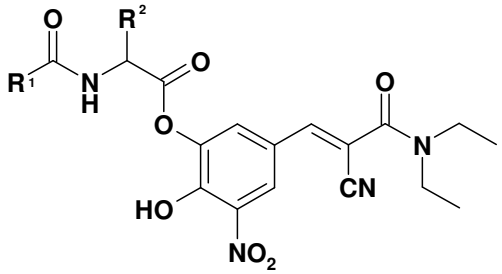
Die Synthese von Esterderivaten ohne weitere Funktionalisierung in der Seitenkette ist nicht Bestandteil dieser Arbeit, da der Firma Schwarz BioSciences GmbH über diese Art von Prodrugs bereits ausreichende Daten zur Verfügung standen.

Eine Verknüpfung von Entacapon mit physiologischen Bausteinen wie Aminosäuren über eine Esterbindung erschien in Hinblick auf die Steigerung der Bioverfügbarkeit durch Nutzung von aktiven Transportmechanismen interessant. Das folgende Kapitel befasst sich daher mit der Synthese von Aminosäureestern des Entacapon.

* Bei den eingesetzten Säurekomponenten handelte es sich neben Pivalin-, Essig-, Butter-, und Pentansäure- auch um *O*-acylierte Glykolsäurederivate.

3.3.1 Synthese von Aminosäureestern

Bei der Synthese der Aminosäureester muss die Aminofunktion geschützt werden, um eine in Konkurrenz ablaufende Amidbildung zu unterbinden. Zu diesem Zweck wurden unterschiedliche *N*-Acylderivate als Edukte verwendet[*].



R^1: CH_3 oder $(CH_3)_3C$
R^2: H, CH_3, CH_2-C_6H_5...

Abb. 3-47: Geplante Aminosäureester des Entacapon.

Aufgrund der langsamen Gleichgewichtseinstellung und der geringen Ausbeuten säurekatalysierter Veresterungsreaktionen[182] sowie der Labilität der Phenolester gegenüber Baseneinwirkung[†] wurde bei der Syntheseplanung der Aminosäureester auf Aktivierungsreagenzien aus der Peptidchemie zurückgegriffen. Folgende Varianten fanden Anwendung:

- Carbodiimidmethode
- Kombination aus Carbodiimid- und Aktivestermethode
- Säurechloridmethode
- Azolidmethode

[*] Neben den stabilen acetylierten Aminosäuren kamen auch reversibel geschützte *N*-Boc-Derivate zum Einsatz, mit der Option auf spätere Abspaltung der Schutzgruppe (Dr. W. Thimann, unveröffentlichte Ergebnisse).

[†] Diese Labilität bezieht sich insbesondere auf die irreversible Verseifung im Basischen. Die leichte Oxidierbarkeit des Brenzcatechin-Körpers ist ein weiterer Grund dafür, möglichst milde Reaktionsbedingungen zu wählen.

3.3.1.1 Synthese von N-geschützten Aminosäureestern unter Verwendung von Carbodiimiden

Die Reaktion von symmetrischen Carbodiimiden (**XXV**) mit Carbonsäuren verläuft nach dem in Abb. 3-48 dargestellten Mechanismus.

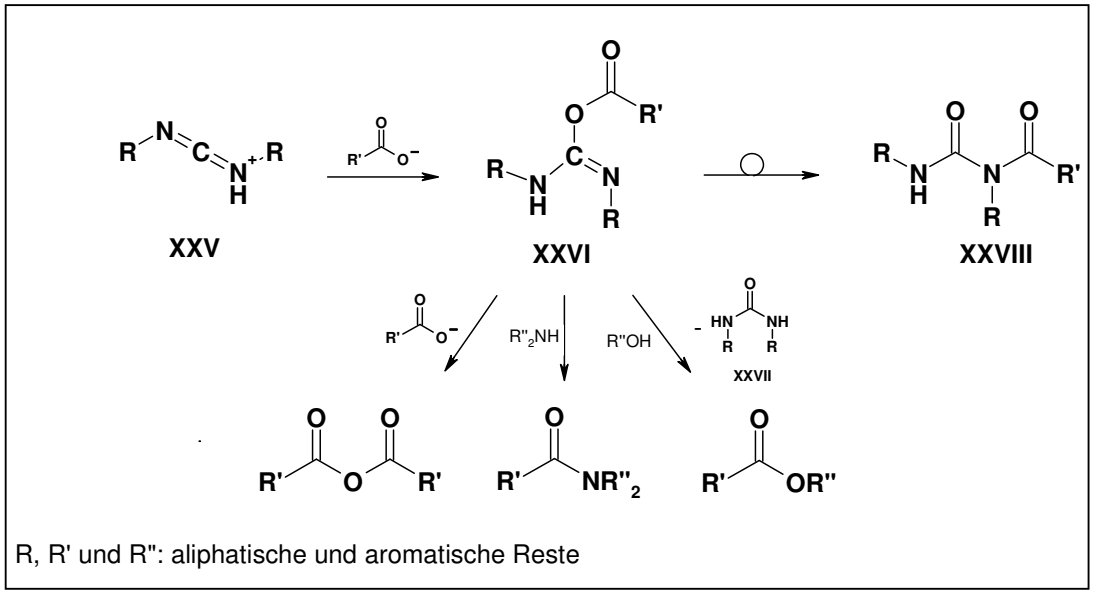
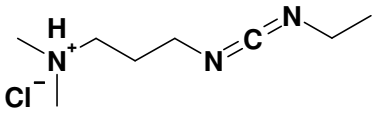


Abb. 3-48: Mechanismus der Reaktion von Carbonsäuren mit Carbodiimiden nach *Doleschall und Lempert*[183].

Nach Protonierung des Carbodiimids (**XXV**) erfolgt der Angriff der Carboxylatfunktion am positivierten Kohlenstoffatom unter Ausbildung eines *O*-Acylisoharnstoffs (**XXVI**). Dieses reaktive Intermediat kann entweder mit Nukleophilen wie Alkoholen, Aminen oder einem weiteren Molekül der Carbonsäure zu Estern, Amiden bzw. Anhydriden abreagieren, wobei als Nebenprodukt ein unlösliches Harnstoffderivat (**XXVII**) freigesetzt wird oder es tritt eine Umlagerungsreaktion ein[183]. Das Ausmaß dieser unerwünschten O-N-Umlagerung zum stabilen, reaktionsträgen Ureid (**XXVIII**), kann durch Anpassung der Reaktionsbedingungen und durch den Einsatz unsymmetrischer Carbodiimide minimiert werden[184].

Das Reagenz *N*-Ethyl-*N´*-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-Hydrochlorid (EDC-HCl, **XXIX**, vgl. Abb. 3-49) bietet neben der unsymmetrischen Substitution der beiden Stickstoffatome den Vorteil der

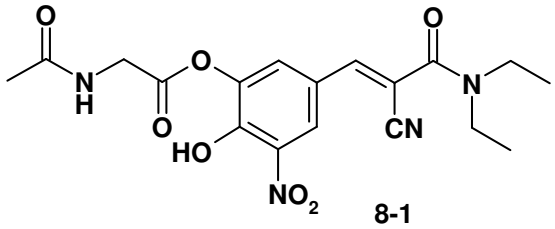
Wasserlöslichkeit. Die basische Funktion der Seitenkette befähigt das Molekül zur Salzbildung. Der wasserlösliche Harnstoff, der als Nebenprodukt der Estersynthese anfällt, lässt sich einfach und vollständig durch Ausschütteln mit verdünnter Salzsäure abtrennen[185].



XXIX

Abb. 3-49: Struktur von EDC-HCl (**XXIX**).

Die Synthese der Entacaponester wurde aus Gründen der Löslichkeit der Reaktionspartner in einem Gemisch aus Ethylacetat und Dichlormethan unter Eiskühlung analog der Vorschrift von *Sheehan und Mitarbeitern*[186] durchgeführt. Mit dieser Methode wurde der Ester des *N*-Acetylglycins in zufriedenstellender Reinheit gewonnen (vgl. Abb. 3-50). Die Ausbeute von knapp 38% erschien allerdings verbesserungswürdig, weshalb weitere Synthesestrategien zur Anwendung kamen.



8-1

Abb. 3-50: Der Ester des *N*-Acetylglycins (**8-1**) als Syntheseprodukt der EDC-HCl-vermittelten Reaktion von *N*-Acetylglycin mit Entacapon.

Eine Möglichkeit die Ausbeuten der Carbodiimidmethode zu steigern besteht in der Zugabe von Hilfsreagenzien wie *N*-Hydroxysuccinimid (**XXX**). Die Bildung eines sog. Aktivesters (**XXXI**) als hochreaktive isolierbare Zwischenstufe analog Abb. 3-51 wurde von *Vijay und Sehgal*[187] als hocheffiziente Methode zur Knüpfung von Peptid-

bindungen beschrieben, erbrachte jedoch keine Fortschritte in der Synthese weiterer Derivate (*N*-Boc-Phenylalanyl- und Hippursäureester).

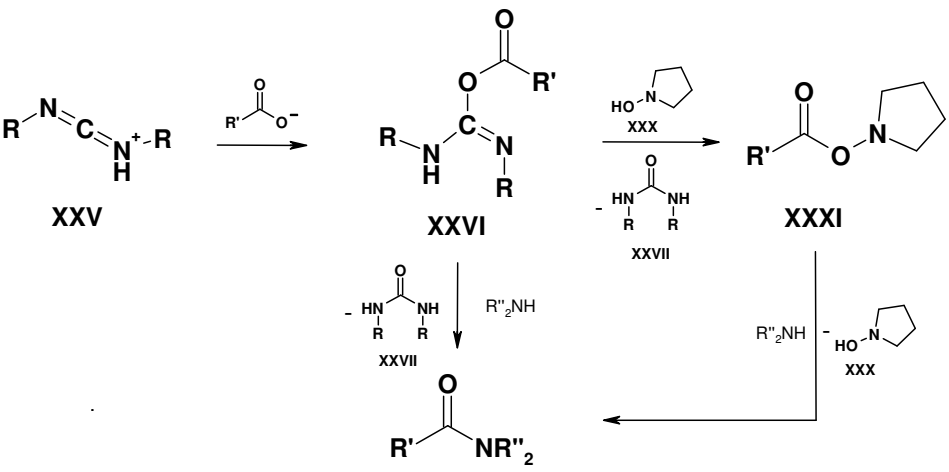


Abb. 3-51: Reaktionsmechanismus der kombinierten Carbodiimid/Aktivestermethode nach *Vijay und Sehgal*[187].

Versuche die Estersynthese über die Zwischenstufe der entsprechenden Säurechloride zu verwirklichen, wurden bei den *N*-alkylierten Derivaten Dimethyl- und Trimethylglycin (Betain) durchgeführt. Diese Aminosäurekomponenten sollten nach gescheiterten Syntheseversuchen mit EDC-HCl und CDI (vgl. Kap. 3.3.1.2) unter Zuhilfenahme von Thionylchlorid mit Entacapon verestert werden. Auch diese Versuche führten nicht zum gewünschten Produkt.

3.3.1.2 Synthese von N-geschützten Aminosäureestern unter Verwendung von N,N´-Carbonyldiimidazol

Das Reagenz *N,N´*-Carbonyl-diimidazol (CDI, **XIII**), welches bereits in Kapitel 3.1.3. zur Synthese des cyclischen Carbonats Anwendung fand, ist ein Standardreagenz der Peptidchemie. Das Verfahren, welches unter dem Namen Azolid-Methode bekannt ist, beinhaltet die Bildung eines Carbonsäure-Imidazolids (**XXXII**) als reaktive Spezies, dessen Aminolyse bzw. Alkoholyse analog Abb. 3-52 unter Freisetzung von Imidazol zum gewünschten Produkt führt[162].

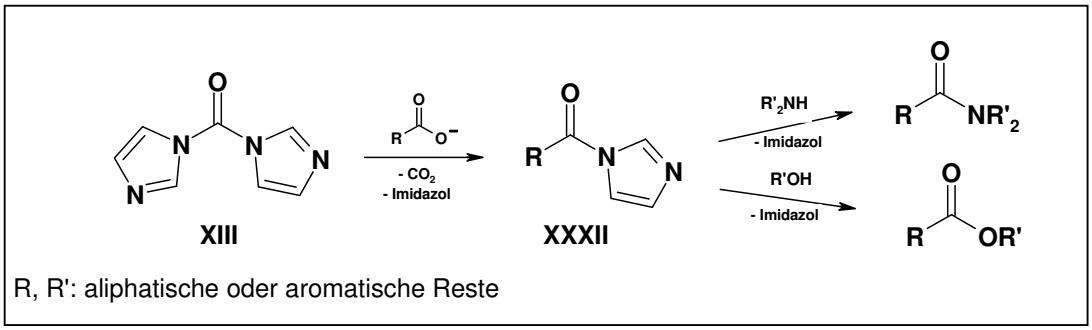


Abb. 3-52: Reaktionsmechanismus der Veresterung/Amidbildung mit *N,N´*-Carbonyldiimidazol (**XIII**)[162].

Die Anwendung dieser Synthesevariante steigerte die Ausbeute des *N*-Acetylglycinesters auf ca. 40% und ermöglichte die Synthese eines weiteren Vertreters der *N*-Acetylaminosäureester (vgl. Tab. 3-10).

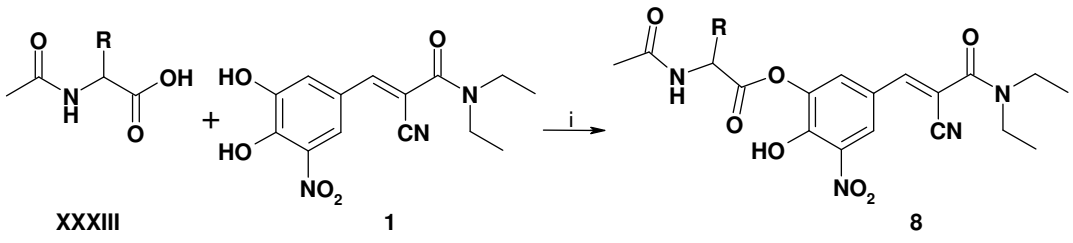


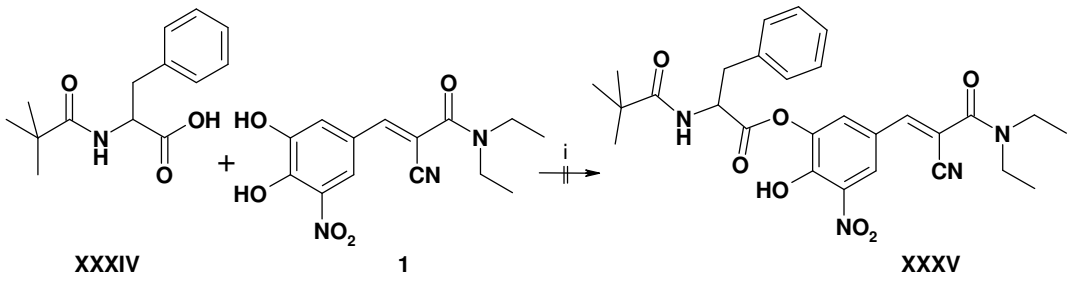
Abb. 3-53: Synthese von *N*-Acetylaminosäureestern des Entacapon (**8**) mit der Azolid-Methode.

	R	Ausbeute
8-1	H	40%
8-2	CH_3-	47%

Tab. 3-10: Synthetisierte *N*-Acetylaminosäureester und ihre relativen Ausbeuten.

Das freiwerdende Imidazol wird nach Beendigung der Reaktion mittels Säureextraktion aus dem Reaktionsansatz entfernt und das erhaltene Rohprodukt durch mehrmaliges Umkristallisieren bis zur Analysenreinheit aufbereitet.

Staab und Mitarbeiter beschreiben die Möglichkeit der Katalyse mit entsprechenden Natriumalkoholaten oder mit Na-Imidazol bei Synthesen, die langsam und mit geringen Ausbeuten verlaufen[188]. Ein Versuch diese Erkenntnisse auf die CDI-vermittelte Reaktion von *N*-Boc-Phenylalanin (**XXXIV**) mit Entacapon zu übertragen, dessen Umsetzung ohne den Zusatz eines Katalysators erfolglos war, führte jedoch nicht zum gewünschten Produkt (vgl. Abb. 3-54).



i: CDI, Na-Imidazol, THF

Abb. 3-54: Die Synthese des *N*-Boc-geschützten Phenylalaninesters (**XXXV**) mit Na-Imidazol als Katalysator gelang nicht.

Anhand der beiden Vertreter der Aminosäureester wurde in *in vitro* Tests die mangelhafte Stabilität der Stoffklasse in wässrigen Medien gezeigt. Die Synthese weiterer Derivate wurde aus diesem Grund nicht erwogen.

3.3.1.3 Analytik der N-Acetylaminosäureester des Entacapon

Die Signale der Carbonylvalenzschwingungen erscheinen in der infrarotspektroskopischen Untersuchung bei Wellenzahlen von 1777–1782 cm^{-1} für den Phenolester und bei ca. 1650 cm^{-1} für das Amid. Eine Unterscheidung zwischen den Resonanzen der beiden im Molekül vorhandenen Amidgruppen ist nicht möglich.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum des *N*-Acetylglycinesters (**8-1**) ist die Kopplung der Protonen des α-C-Atoms mit dem des Stickstoffs zu erkennen. Trotz des verbreiterten Signals der NH-Gruppe (Signal e), welches typisch für heteroatomgebundene Protonen ist*, lässt sich eine Aufspaltung der Bande in ein Triplett mit der Kopplungskonstante J = 5,59 Hz erkennen, die sich in dem Duplett des α-C-Atoms (Signal d) wiederfindet (vgl. Abb. 3-55).

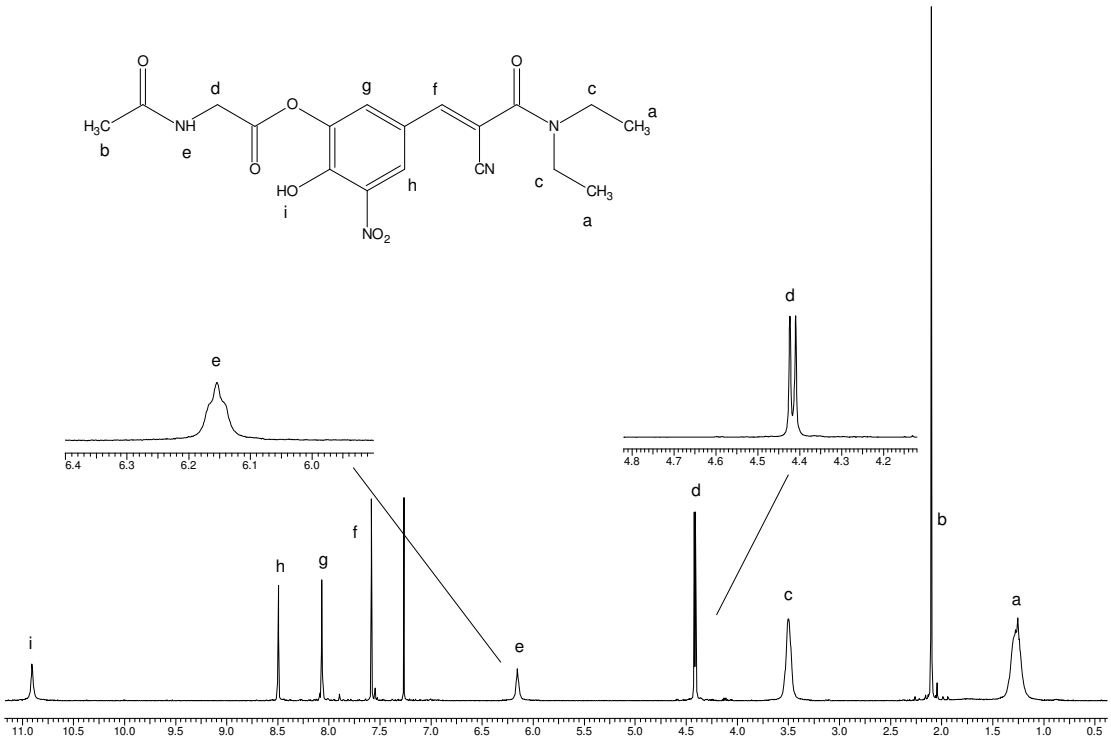


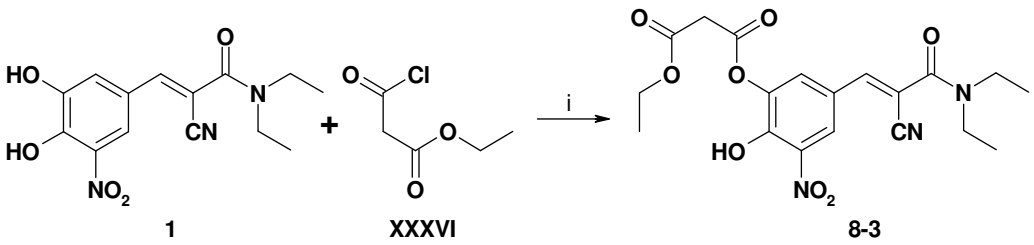
Abb. 3-55: ^{1}H-NMR-Spektrum von (**8-1**) (400 MHz, $CDCl_3$).

* Eine Signalverbreiterung ist meist ein Hinweis auf inter- oder intramolekulare Protonentransferprozesse.

3.3.2 Synthese von Estern der Dicarbonsäuren

Mit den Versuchen zur Synthese von cyclischen Dicarbonsäureestern des Entacapon befasst sich das Kapitel Ringschlussversuche (Kap. 3-4).

Gemischte, acyclische Diester der Oxal- und Malonsäure sollten mit Hilfe der Säurechloride der entsprechenden Ethylester hergestellt werden. Die Synthesevariante nach *Einhorn*, die von *Leppänen und Mitarbeiter*[142] zur Darstellung von aliphatischen Estern des Entacapon verwendet wurde (vgl. Abb. 3-46), kam nicht zum Einsatz, da eine Substitution beider OH-Gruppen und die damit einhergehende partielle Inversion der Doppelbindung im Entacapon-Rückgrat vermieden werden sollte.



1 XXXVI 8-3

i: CH_2Cl_2, TEA

Abb. 3-56: Veresterung von Entacapon mit Ethylmalonylchlorid (**XXXVI**).

Der Ethylmalonylester (**8-3**) des Entacapon konnte in einer Triethylamin-katalysierten Veresterungsreaktion nach *Hoye und Mitarbeitern*[189] gewonnen werden (vgl. Abb. 3-56). Dabei wurde lediglich ein moderater Überschuß des Acylierungsreagenzes zugegeben, um eine Bisacylierung zu vermeiden*.

Die Bildung des Produkts der analogen Umsetzung mit Ethyloxalylchlorid wurde zwar in situ mittels Infrarotspektroskopie beobachtet, jedoch war eine Produktisolation aufgrund der Labilität nicht möglich.

* Die bislang dargestellten Bisacylierungsprodukte (Biscarbonate (**3**) und Biscarbamate (**7**)) erfüllten die Prodruganforderungen in den *in vitro*-Tests nicht (vgl. Kapitel 4.1 und 4.2).

3.3.2.1 Analytik des Ethylmalonylesters des Entacapon

Im ^{1}H-NMR-Spektrum erscheint das Signal der Methylengruppe des Malonsäureestergrundgerüst (Signal c) erwartungsgemäß als Singulett bei 3,71 ppm im ^{1}H-NMR-Spektrum, während die Kohlenstoffatome der zusätzlichen Carbonylgruppen im ^{13}C-NMR-Spektrum zu Resonanzen bei 164 bzw. 165 ppm führen. Abb. 3-57 zeigt das breitbandentkoppelte ^{13}C-NMR-Spektrum* des Ethylmalonylesters (**8-3**).

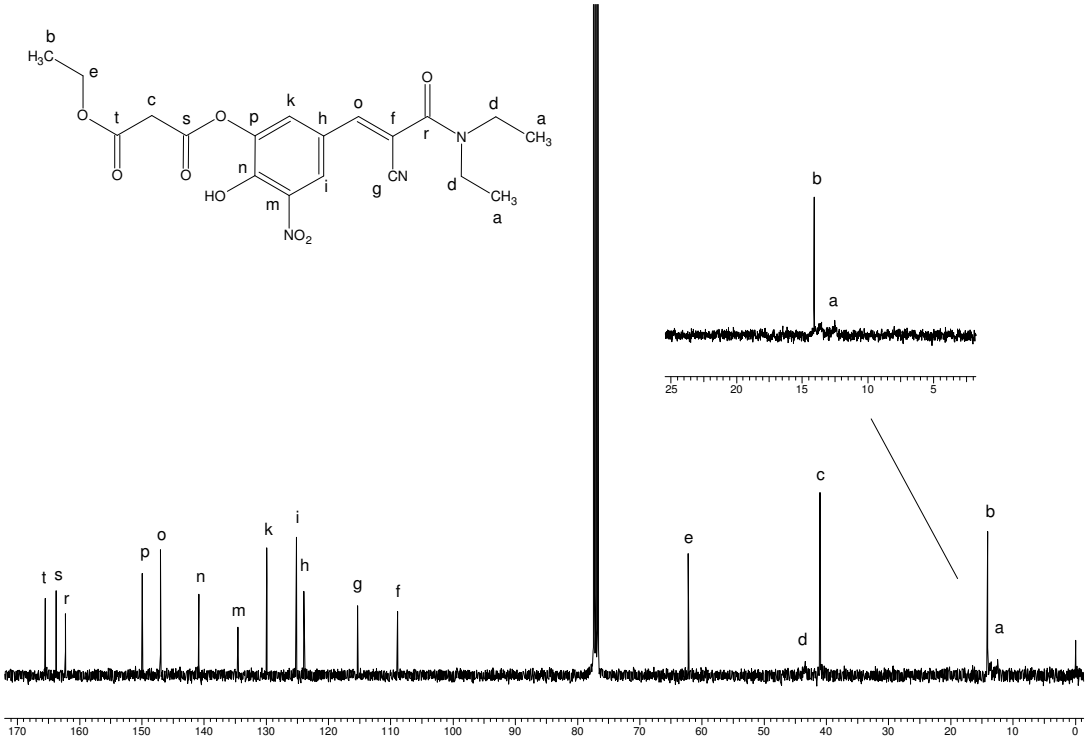


Abb. 3-57: ^{13}C-NMR-Spektrum des Ethylmalonsäureesters (**8-3**) (100,6 MHz, $CDCl_3$).

In dem dargestellten Spektrum ist die bereits erwähnte Verbreiterung der Signale der amidischen Ethylgruppen gut zu erkennen. Während das Methyl-C-Atom der Estergruppe einen klaren, schmalen Peak bei 14 ppm liefert (Signal b), sind die Resonanzen der Methylgruppen der

* Die Aufnahme von breitbandentkoppelten ^{13}C-NMR-Spektren hat sich zur Steigerung der Signalintensität als vorteilhaft erwiesen.

Amidfunktion (Signale a) nur in starker Vergrößerung als breite „Hügel“ zu erkennen (siehe Ausschnittvergrößerung in Abb. 3-57).

Neben der Umsetzung von Entacapon zu gemischten, acyclischen Diestern der Oxal- und Malonsäure wurde eine Verbrückung der Brenzcatechinstruktur angestrebt, womit sich das nächste Kapitel befasst.

3.4 Ringschlussversuche

Die Einbindung der beiden phenolischen OH-Gruppen des Entacapon in ein Ringsystem sollte durch Einfügen eines C1, C2 oder C3-Körpers theoretisch unter Ausbildung von 5-, 6- oder 7-Ringen erfolgen. Die geknüpfte Bindung kann dabei den Charakter eines Esters oder eines Acetals haben.

Acetale und Ketale lassen sich unter sauren Bedingungen oder durch enzymatische Spaltung leicht wieder in ihre Ausgangskomponenten überführen. Daher erschien es interessant, acetalische Gruppen in das Entacaponmolekül einzuführen und deren Verwendbarkeit im Prodrug-Konzept zu untersuchen*.

Ester-Prodrugs unterliegen, wie in Kap 1.3.2.1. ausführlich betrachtet, vornehmlich der Spaltung durch unspezifische Esterasen, die in großer Variabilität im Körper vorliegen. Auch eine chemische Hydrolyse ist je nach Stabilität des Ester denkbar.

Nach einem kurzen Literaturüberblick widmet sich dieses Kapitel den Ringschlussreaktionen zu Entacaponderivaten der folgenden Typen:

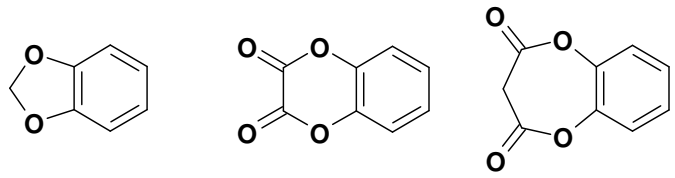


Abb. 3-58: Geplante Grundkörper der Cyclisierungsversuche†.

* Die Synthese acyclischer Acyloxyalkyl-Prodrugs wurde im Rahmen dieses Projektes durch Dr. W. Thimann durchgeführt (unveröffentlichte Ergebnisse).

† Der sechsgliedrige Benzodioxan- und der siebengliedrige Benzodioxepin-Ring waren aufgrund der zu hohen Stabilität der Etherbindung nicht Teil der Syntheseplanung, wohingegen der anellierte 5 gliedrige Grundkörper mit Estercharakter (Benzodioxolanon) bereits als cyclisches Carbonat (**4**) in Kapitel 3.1.2.2 thematisiert wurde.

3.4.1 Literatur

3.4.1.1 Literatur zur Synthese der cyclischen Acetale

Die Synthese von Acetalen und Ketalen wird in der Literatur sehr uneinheitlich beschrieben. Die klassische Variante der Umsetzung von Alkoholen mit Aldehyden und Ketonen unter Säurekatalyse nach *Fischer und Giebe*[190] ist auf Phenole nur in Ausnahmefällen übertragbar. Ist die para-Stellung zur Hydroxylgruppe unbesetzt, bildet sich nach *Claus und Trainer* ein basenlösliches Kondensationsprodukt (**XXXVII**) im Sinne einer Hydroxymethylierung analog Abb. 3-59[191].

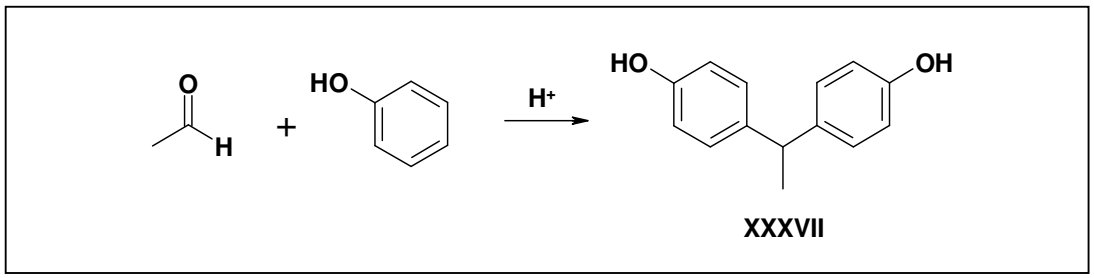
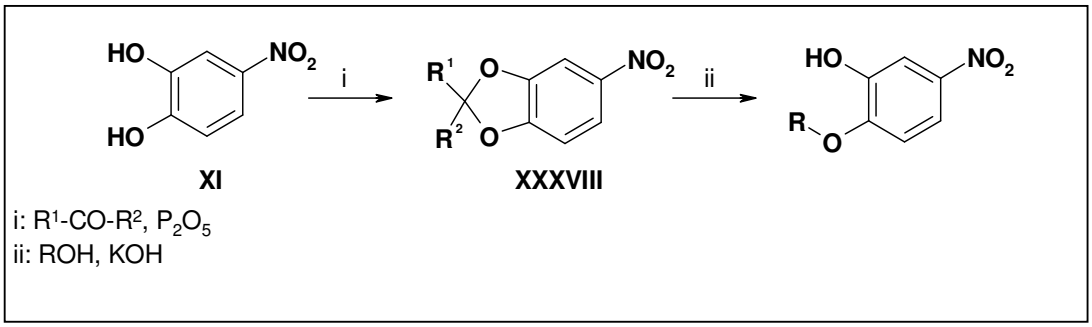


Abb. 3-59: Reaktionsprodukt der säurekatalysierten Umsetzung von Acetaldehyd mit Phenol nach *Claus und Trainer*[191].

Sloof etablierte eine Methode zur Umsetzung von Brenzcatechinen mit Ketonen, die als säurekatalytische und wasserentziehende Komponente Phosphorpentoxid (P_2O_5) vorsieht (vgl. Abb. 3-60). Das Verfahren liefert jedoch bei substituierten Brenzcatechinen nur geringe Ausbeuten und ist nicht auf die Umsetzung mit Aldehyden anwendbar. Ferner beobachtete *Sloof* bei den cyclischen Ketalen der Nitrobrenzcatechine eine für acetalische Verbindungen ungewöhnliche Basenlabilität[192].

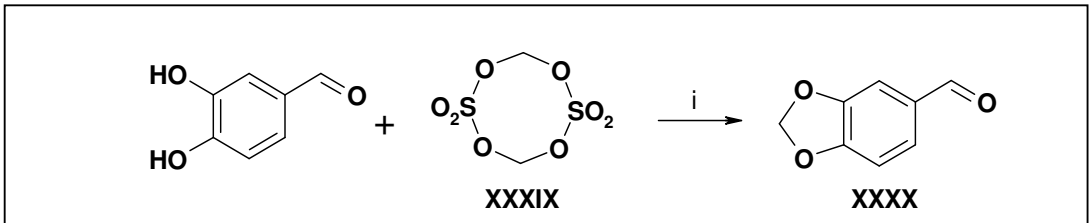


XI **XXXVIII**

i: R^1-CO-R^2, P_2O_5
ii: ROH, KOH

Abb. 3-60: Synthese von cyclischen Ketalen (**XXXVIII**) nach *Sloof* und deren basenkatalysierte Ringöffnung mit Alkoholen[192].

Die Verwendung des C1-Gruppen-Übertragungsreagenzes Methylensulfat (**XXXIX**) wird von *Baker* beschrieben (Abb. 3-61). Jedoch zeigten diese Umsetzungen nur wenig befriedigende Ausbeuten[193].



XXXIX **XXXX**

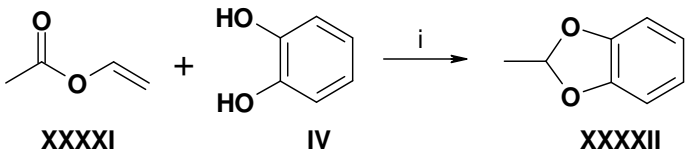
i: EtOH, KOH/H_2O

Abb. 3-61: Synthese von Piperonal (**XXXX**) mit Methylensulfat* (**XXXIX**) nach *Baker*[193].

Darüber hinaus hat sich die Umsetzung von Phenolen mit Vinylderivaten (Vinylester (**XXXXI**) und –ether) als sehr elegante Methode zur Bildung von aromatischen Acetalen erwiesen, wie *Walter Reppe* in einem Review-Artikel über Vinylierungen festhält[195]. Das Verfahren lässt die Anwendung einer ganzen Reihe von Katalysatoren, wie Säuren, Lewissäuren und Kationenaustauscher zu. Exemplarisch soll hier die Verwendung eines Katalysatorgemischs aus HgO und BF_3 durch *Nichols und Mitarbeiter* im Zusammenhang

* Baker postulierte 1931, dass das Reagenz als Monomer mit einem Dioxathietan-Ring vorläge, korrigierte dessen Struktur jedoch ein Jahr später[194].

mit der Synthese von MDA-Analoga* dargestellt werden (vgl Abb. 3-62)[196].

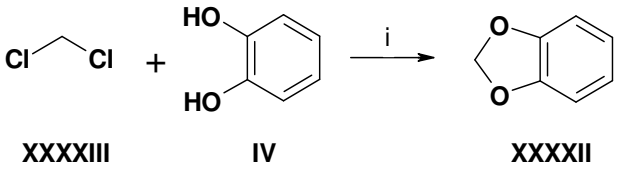


XXXXI **IV** **XXXXII**

i: HgO, BF_3

Abb. 3-62: Synthese des cyclischen Acetals (**XXXXII**) nach *Nichols*[196].

Als letzte Variante bleibt der Ringschluß mittels Alkylierung zu nennen. Die Umsetzung von Catecholen mit 1,1-Dihalogenmethanverbindungen, wie Diiod-, Dibrom- und Dichlormethan (**XXXXIII**) sowie mit deren Substitutionsprodukten wird in der Literatur häufig und in vielen Variationen zum Verschluss der Brenzcatechinstruktur verwendet. Basenkatalyse ist in diesem Fall das Standardverfahren[197] (vgl. Abb. 3-63), jedoch sind auch Veröffentlichungen mit Phasentransferkatalyse[198] oder die Verwendung von Fluoriden[199] zu finden.



XXXXIII **IV** **XXXXII**

i: $NaOH_{(aq)}$, N_2, Rückfluss

Abb. 3-63: Bildung des cyclischen Acetals durch Alkylierung nach *Bonthrone und Cornforth*[197].

* 3,4-(Methylendioxy)-amphetamin (MDA) wird als Psychomimetikum in der Drogenszene missbraucht.

3.4.1.2 Literatur zur Synthese der cyclischen Ester

Bischoff und von Hedenström veröffentlichten 1902 ihre Forschungsergebnisse zum Reaktionsverhalten zweiwertiger Phenole mit Estern der Oxal- und Malonsäure. Sie waren im Stande das cyclische Oxalat des Brenzcatechins (**XXXXIV**) sowohl durch Umsetzung des Mononatriumsalzes mit Chloroxalsäureethylester (**XXXXV**) als auch durch Reaktion des Brenzcatechins (**IV**) mit dem Diphenylester der Oxalsäure (**XXXXVI**) zu erhalten (vgl. Abb. 3-64).

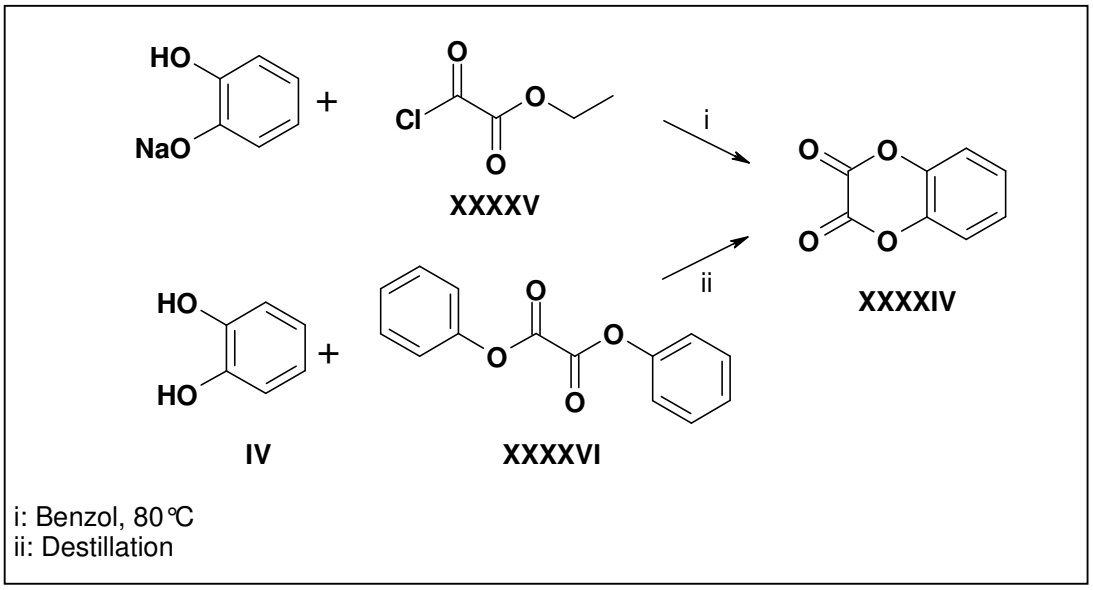
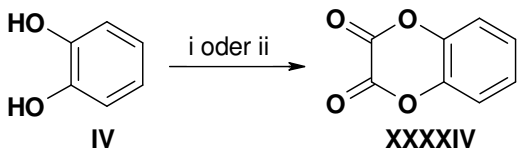


Abb. 3-64: Darstellung des Brenzcatechinoxalats (**XXXXIV**) nach *Bischoff und von Hedenström*[200].

Die Umsetzung des Brenzcatechins mit Malonsäurediphenylester analog Abb. 3-64 (ii) führte zwar zum gewünschten Produkt, jedoch konnte dieses nicht durch Destillation gereinigt werden, da es sich in der Hitze rasch zersetzte[200].

Die Reaktion des unsubstituierten Brenzcatechins (**IV**) mit Oxalylchlorid beschreibt *Ghosh*[201] in wasserfreiem Pyridin unter Eiskühlung (Abb. 3-65, i), wohingegen *Schmidt und Mitarbeiter*[202] als Lösungsmittel Diethylether mit Zusatz einer doppeltäquivalenten Menge Triethylamin verwenden (Abb. 3-65, ii).

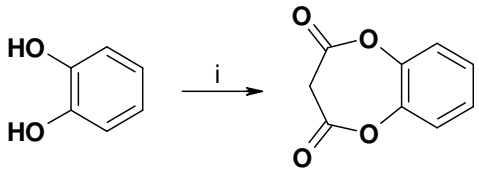


IV **XXXXIV**

i: Oxalylchlorid, Pyridin, 0°C
ii: Oxalylchlorid, Et_2O, TEA

Abb. 3-65: Synthese des o-Phenylenoxalats (**XXXXIV**) nach *Ghosh*[201] (i) und *Schmidt*[202] (ii).

Der Verschluss einer Brenzcatechinstruktur mit dem Ziel 1,5-Benzodioxepin-2,4-dionderivate (**XXXXVII**) zu erhalten, wurde von *Bonsignore und Mitarbeitern* mit Kohlenstoffsuboxid C_3O_2* in einer Additionsreaktion durchgeführt[203].



IV **XXXXVII**

i: C_3O_2, Et_2O, -5°C

Abb. 3-66: Synthese des 1,5-Benzodioxepins (**XXXXVII**) nach *Bonsignore und Mitarbeitern*[203].

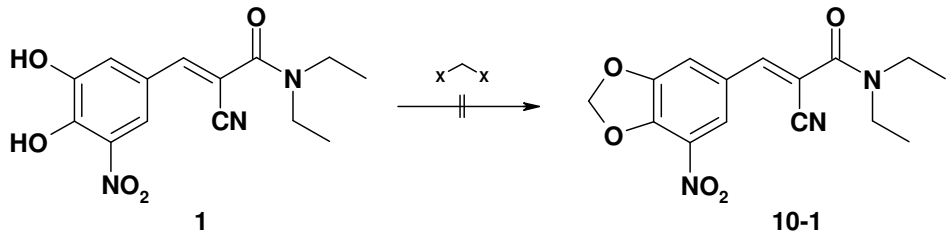
* Kohlenstoffsuboxid kann formal als dehydratisierte Malonsäure aufgefasst werden.

3.4.2 Syntheseversuche

3.4.2.1 Ringschlußversuche mit Dihalogenmethan-Derivaten

Die Darstellung cyclischer Entacapon-Derivate mit acetalischem Charakter gestaltete sich schwierig.

Aus Reaktionsansätzen von Entacapon mit 1,1-Dichlormethan, 1,1-Dibrommethan sowie 1,1-Diiodmethan ließen sich keine definierten Produkte isolieren (Abb. 3-67) [*].



1 **10-1**

X = Cl, Br, I

Abb. 3-67: Versuche zur Erzeugung der acetalisch verschlossenen Brenzcatechin-Struktur (**10-1**) verliefen ohne Erfolg.

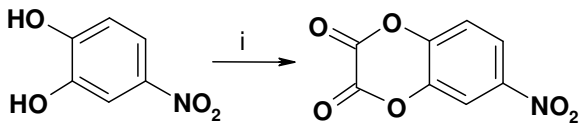
Die Ringschlussversuche wurden unter Basenkatalyse mit Kaliumcarbonat, Natriumhydroxid, Natriumhydrid oder Imidazol und einem bis zu 23-fachen Überschuß des Alkylans durchgeführt. Auch kam in diesem Fall eine mikrowellengestützte Synthesevariante zum Einsatz, die ebenfalls keine Erfolge verzeichnen konnte[†].

[*] Versuche den Ringschluss auf andere Weise zu ermöglichen hatten ebenfalls keinen Erfolg (Dr. W. Thimann, unveröffentlichte Ergebnisse).

[†] Im Zuge der mikrowellengestützten Syntheseversuche wurde eine Kondensationsmethode nach *Houwing und Mitarbeitern* getestet, die das lösemittelfreie Erhitzen mit dem Alkylans in Abwesenheit jeglicher Katalysatoren vorsah[204].

3.4.2.2 Ringschlußversuche mit Oxalyl- und Malonylchlorid

Orientierende Vorversuche mit 4-Nitrobrenzcatechin (**XI**), welche die Anwendbarkeit der vorgestellten Methoden auf die Stoffgruppe der Nitrobrenzcatechine zeigen sollten, erbrachten das gewünschte Ergebnis*. Das Produkt (**XXXXVIII**) erwies sich jedoch als sehr hydrolyseempfindlich, was sich schon während der Entwicklung von Dünnschichtchromatogrammen anhand der Freisetzung des farbigen Edukts zeigte. Eine Reindarstellung konnte nicht erreicht werden.



XI **XXXXVIII**

i: Oxalylchlorid, Et_2O, TEA, 0°C

Abb. 3-68: Vorversuch zur Synthese des entsprechenden o-Phenylenoxalats ausgehend von 4-Nitrobrenzcatechin (**XI**).

Anschließend vorgenommene Versuche, Entacapon mit Oxalylchlorid bzw. Malonylchlorid zu den cyclischen Estern (**10-2** und **10-3**) umzusetzen, erbrachten bedauerlicherweise nicht das geplante Produkt (vgl. Abb. 3-69). Die Vorschrift von *Schmidt* wurde zu diesem Zweck in mehreren Ansätzen durch Austausch der Hilfsbase und des Lösungsmittels variiert, was jedoch nicht zum erwarteten Ergebnis führte†.

Zwar ließ sich die Bildung des ortho-Phenylenoxalat-Derivats (**10-2**) mittels IR-Spektroskopie (C=O-Valenzschwingungen bei 1795 und 1785 cm^{-1}) im Reaktionsansatz nachweisen, jedoch konnte das Produkt aufgrund seiner Labilität nicht isoliert werden.

* Die Bildung des Produkts konnte mittels Massenspektrometrie nachgewiesen werden.

† Zum Einsatz kamen neben dem von *Schmidt* verwendeten Triethylamin die Hilfsbasen DBU, Imidazol und Kaliumcarbonat. Als Lösungsmittel dienten Dichlormethan, Tetrahydrofuran und Acetonitril.

Eine Adaption der Vorschrift nach *Ghosh* in wasserfreien Pyridin zeigte keine Produktbildung in der reaktionsbegleitenden Dünnschichtchromatographie.

Ähnlich verhielt es sich mit analogen Versuchen zur Synthese des entsprechenden Siebenringes aus Malonylchlorid (vgl. Abb. 3-69).

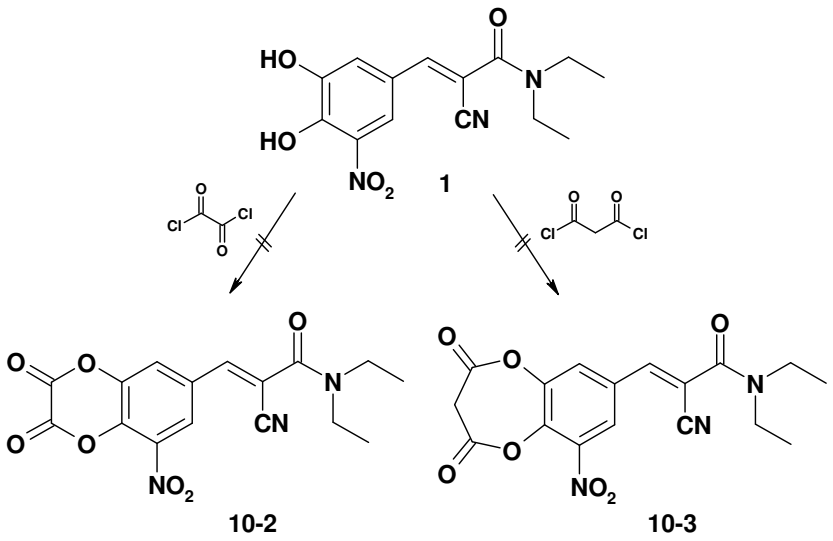


Abb. 3-69: Versuche zur Bildung der cyclischen Diester (**10-2** und **10-3**).

3.5 Weitere Entacapon-Prodrugs

3.5.1 Literatur

Die cyclischen, gemischten Orthocarbonate (**XXXXIX**) wurden von *Gross und Mitarbeitern*[205] bereits 1964 durch Umsetzung des unsubstituierten Brenzcatechins (**IV**) mit Tetramethyl- (R = CH_3-) bzw. Tetraethylorthocarbonat (R = C_2H_5-) gewonnen (vgl. Abb. 3-70, i).

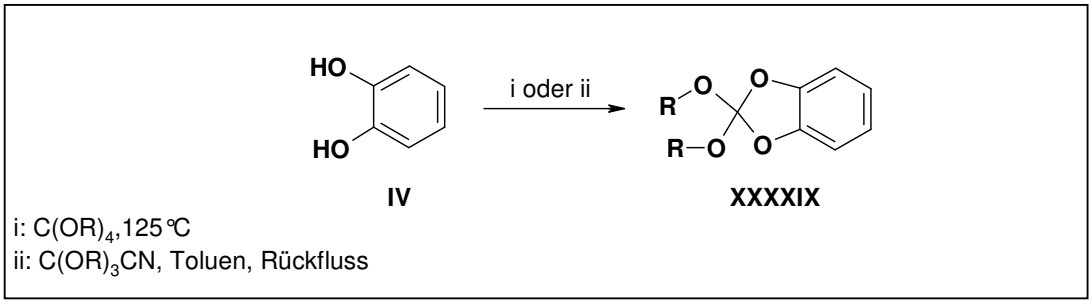


Abb. 3-70: Synthese des cyclischen Orthokohlensäureesters. (i) nach *Gross und Mitarbeitern*[205] oder (ii) nach *Kantlehner und Mitarbeitern*[206].

Kantlehner und Mitarbeiter[206] synthetisierten das Methylderivat 18 Jahre später unter Zuhilfenahme des Trimethoxyacetonitrils (vgl. Abb. 3-70, ii). Die Synthese des Eduktes (**L**) gelang der Arbeitsgruppe nach einer Vorschrift von *Neidlein und Böhme*[207] durch Rückflusserhitzen einer äquimolaren Mischung aus Orthokohlensäuretetraethylester (**LI**) und Acetylcyanid (**LII**) unter Ausschluss von Feuchtigkeit und anschließender fraktionierender Destillation[208] (vgl. Abb. 3-71).

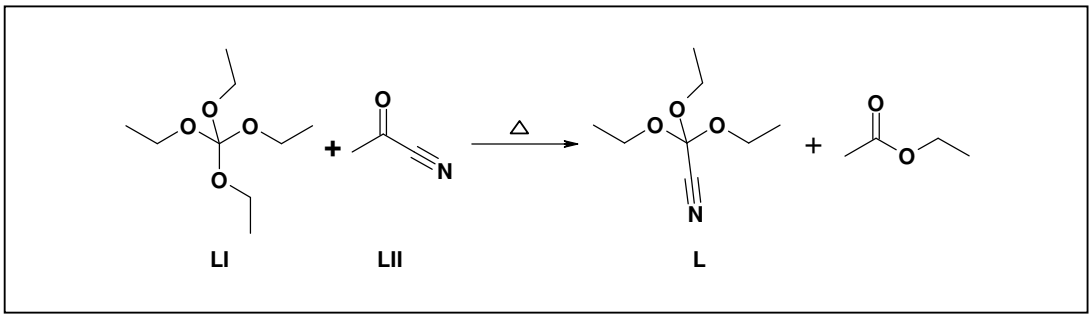


Abb. 3-71: Synthese von Triethoxyacetonitril (**L**) nach *Neidlein und Böhme*[207].

3.5.2 Syntheseversuche zur Herstellung von Orthokohlensäure-estern

Der Tetra*ethyl*orthokohlensäureester des Entacapon (**10-4**) sollte nach der vorgestellten Methode von *Kantlehner und Mitarbeitern*[206] durch Umsetzung mit Triethoxyacetonitril (**L**, vgl. Abb. 3-70, ii) erfolgen.

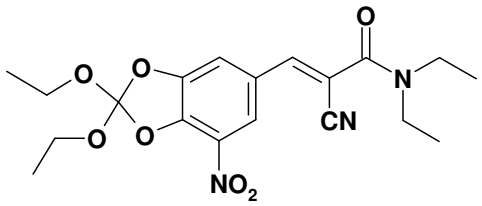


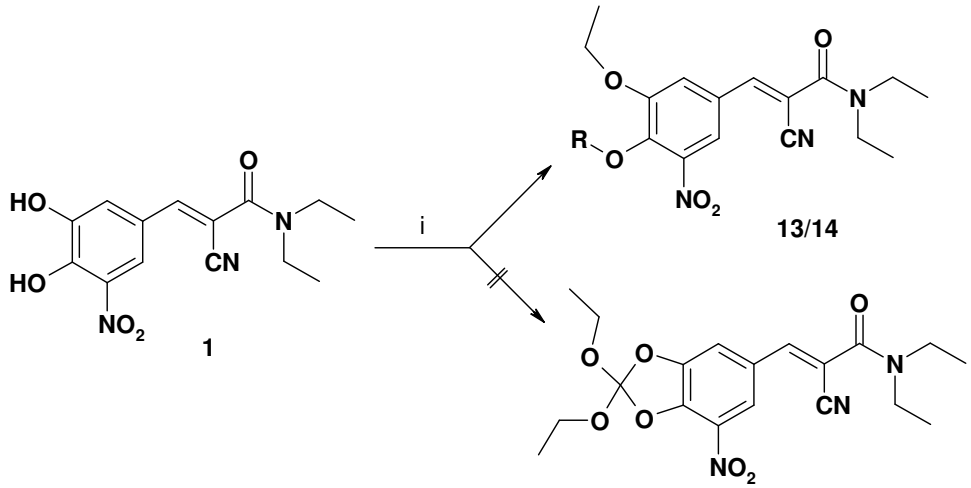
Abb. 3-72: Tertaethylorthokohlensäureester von Entacapon (**10-4**).

Zu diesem Zweck musste das Edukt nach *Neidlein und Böhme*[208] gewonnen werden. Der Versuch das Triethoxyacetonitril (**L**) ausgehend vom Tetraethylorthokohlensäureester (**LI**) zu synthetisieren (siehe Abb. 3-71), war jedoch nicht erfolgreich, da die Reinigung des Rohproduktes durch fraktionierende Destillation aufgrund der zu geringen Ansatzgröße scheiterte.

Somit wurde auf die lösemittelfreie Synthesemethode nach *Gross und Mitarbeiter*[205] zurückgegriffen.
Die Synthese des Orthokohlensäureesters (**10-4**) aus dem Tetraethylorthokohlensäureester (**LI**) wurde aufgrund des höheren Schmelzpunktes von Entacapon nicht unter den Bedingungen einer Destillation, sondern in wasserfreiem Toluen unter Rückflusskühlung durchgeführt. An diese Behandlung schloss sich ein zwölfstündiges Rühren bei Raumtemperatur an, welches ein farbloses, kristallines Produkt lieferte, dessen ^{1}H-NMR-Spektrum Ethylgruppensignale bei 4,32 und 4,19 ppm sowie 1,51 und 1,42 ppm zeigte.

Massenspektrometrische Untersuchungen des Feststoffs ergaben jedoch, dass es sich bei dem Produkt der Umsetzung nicht wie

erwartet um den gemischten Orthokohlensäureester (**10-4**), sondern um den Diethylether des Entacapon (**13**) mit dem Signal der Molekülmasse bei M/z = 361 handelt (vgl. Abb. 3-73).



i: $C(OC_2H_5)_4$, Toluen

Abb. 3-73: Umsetzung von Entacapon (**1**) mit Tetraethylorthokohlensäureester.

	R
13	Ethyl-
14	H-

Tab. 3-11: Aliphatische Ether des Entacapon.

Dieser Befund deckt sich einerseits mit den Ergebnissen der Untersuchung durch *Smith*, der aus der Umsetzung von Tetramethylorthokohlensäureester mit Phenol (**LIII**) als Hauptprodukt Anisol (**LIV**) isolieren konnte[209]. Auf der anderen Seite ergab die Reaktion zwischen Pyrocatechol (**IV**) und Tetramethylorthocarbonat das entsprechende cyclische Orthocarbonat (**XXXXIX**, vgl. Abb. 3-74).

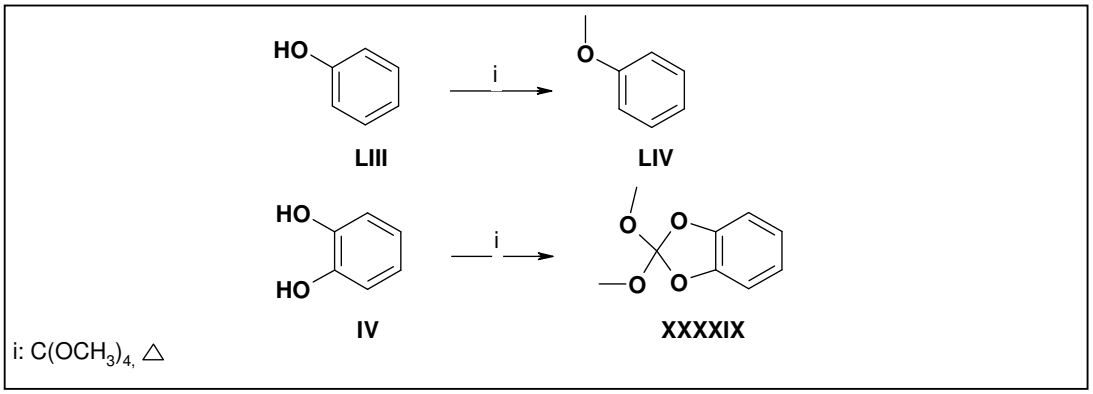


Abb. 3-74: Umsetzung von Phenolen mit Orthokohlensäurestern nach *Smith*[209].

Die Erklärung für die Bildung des Alkylarylethers (**13**) bei der Umsetzung mit Entacapon (**1**) liegt in einer Umlagerungsreaktion. *Smith* postulierte auf der Basis von Beobachtungen* durch *McElvain und Kundiger*[210], dass ein intermediär gebildetes, ringoffenes, aromatisches Orthocarbonat (**LV**) aufgrund der Resonanzfähigkeit des Aryloxy-Restes in den entsprechenden Phenylether (**LVI**) und Dialkylcarbonat (**LVII**) zerfällt (vgl. Abb. 3-75). Diese Umlagerungsreaktion findet umso leichter statt, je stärker elektronenziehend der Aromat ist[209].

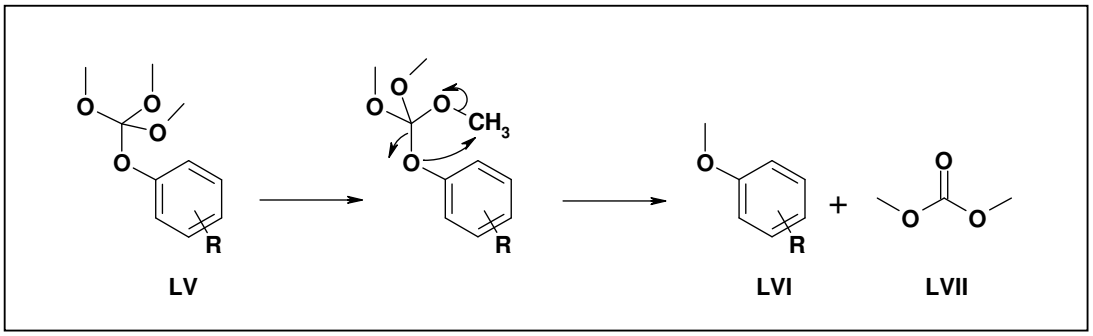


Abb. 3-75: Postulierter Mechanismus der Umlagerungsreaktion nach *Smith*[209].

Da Entacapon, wie bereits erwähnt, einen ausgesprochen stark elektronenziehend substituierten Kern aufweist, läuft diese Umlagerungsreaktion, die beim unsubstituierten Brenzcatechin aus-

* Die Arbeitsgruppe stellte Ortho*acetate* durch Umsetzung von Phenol mit Ketenacetalen her und beobachtete die Zerfallsreaktion zu Phenylalkylethern und Phenylacetat in der Hitze.

bleibt (siehe Abb. 3-70), schon unter den vergleichsweise milden Reaktionsbedingungen der Orthocarbonatbildung ab.

Aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum des Diethylethers ist entnehmbar, dass auch bei dieser Umsetzung eine Tendenz zur (*E*/*Z*)-Isomerisierung besteht, da ein zweiter Signalsatz mit einer Signalintensität im Verhältnis 1:3, ähnliche Aufspaltungsmuster der amidischen Ethylgruppe aufweist, wie in Kapitel 3.2.3.3 bereits erläutert.

Eine der konventionellen Methode analoge Behandlung des Edukt-gemischs ohne Lösungsmittel unter Mikrowellenbestrahlung führte ebenfalls nicht zu dem geplanten Orthokohlensäure-Ester. Unter diesen Bedingungen (200 Watt, 60°C für 5 min und 115°C für 5 min) ergab sich ein Produktgemisch, welches neben dem farblosen Diethylether (**13**) auch den gelben Monoethylether (**14**) enthielt (vgl. Abb. 3-73). Die Produkte konnten säulenchromatographisch getrennt werden[*].

[*] Die Ausbeute des isolierten Monoethers war allerdings zu gering, um ihn den umfangreichen Stabilitätstest zuzuführen.

4 Untersuchungen zur Stabilität der Prodrugs und deren Freisetzungseigenschaften

Die Untersuchungen der Freisetzungseigenschaften sowie der Stabilität und Löslichkeit der vorgestellten Prodrugs wurden durch die Firma Schwarz BioSciences GmbH durchgeführt. Die Geräte und Verfahren, die für die jeweiligen Tests verwendet wurden, sind im Experimentellen Teil (Kapitel 5.3) beschrieben.

Im Zuge der physikalisch-chemischen Untersuchungen wurden neben der Löslichkeit, der Verteilungskoeffizient (logP) und die Halbwertzeit der Prodrugs in enzymfreien Medien bei unterschiedlichen pH-Werten ermittelt. Letztere Bestimmung dient der Abschätzung der Beständigkeit gegenüber chemischer Hydrolyse.

Prodrugvertreter, die auf dieser Stufe gute Resultate zeigten, wurden in *in vitro* Versuchen auf ihre Fähigkeit zur enzymatischen Freisetzung des Entacapon im Plasma untersucht. Außerdem fanden *in vitro* Permeationsstudien an Dünndarmepithelzelllinien statt. Die Halbwertzeit im Menschen und in der Ratte wurde durch Inkubation mit Lebermikrosomen ermittelt.

In vivo-Untersuchungen der Prodrugs in der Ratte werden zur Zeit mit den Prodrug-Derivaten durchgeführt, deren *in vitro*-Testungen zuvor die besten Resultate erbracht hatten.

Über die Ergebnisse der Untersuchungen berichten die folgenden Kapitel in kurzer Form. Die Daten sind zu diesem Zweck qualitativ zusammengefasst worden und werden exemplarisch vorgestellt. Die vollständigen Rohdaten befinden sich in tabellarischer Form am Ende des experimentellen Teils.

4.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Sowohl die Löslichkeit als auch die Stabilität der zu testenden Verbindungen wurde in zwei verschiedenen Medien (0,1 N Salzsäure und Phosphatpuffer, pH 7,4) bestimmt.

4.1.1 Löslichkeit

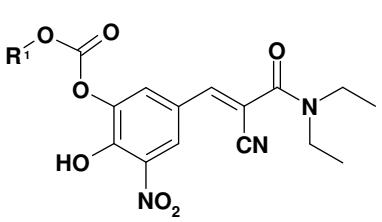
Die Gruppe der Biscarbonate (**3-1** und **3-2**) erwies sich in den Solubilitätstest als praktisch unlöslich (<0,01 mg/ml). Dies führte zum frühzeitigen Ausschluss der Stoffgruppe aus den biologischen Testungen[*].

Alle anderen Prodrug-Stoffklassen zeigten variable Ergebnisse, die sich nicht unmittelbar auf die Struktur der Vertreter zurückführen lassen. Durch eine gegenüber der Muttersubstanz gesteigerte Löslichkeit fielen folgende Prodrugs auf (vgl. Abb. 4-1):

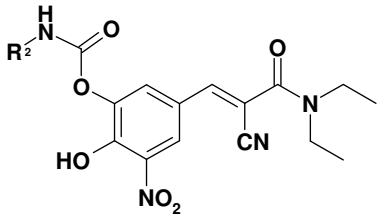
- Das Methyllactat- (**2-48**) und das Allyl-Derivat (**2-19**) der Carbonate zeigten in beiden Medien eine verbesserte Löslichkeit.
- Das Benzylcarbonat (**2-6**) und sein 3-chlorsubstituiertes Pendant (**2-5**) erfuhren eine Löslichkeitssteigerung um den Faktor 3 im sauren Medium.
- Von den Carbamaten erwiesen sich das Adamantyl- (**5-5**) und das Cyclopropylcarbamat (**5-13**) in saurer und

[*] Enzymatische Freisetzungsstudien mit diesen Derivaten konnten mit Hilfe von empfindlichen Meßmethoden in niedrigen Konzentrationen durchgeführt werden. Sie zeigten eine kaskaden-artige Freisetzung des Entacapon über die Zwischenstufe des Monocarbonats mit Halbwertzeiten von weniger als 1 min für den ersten und 3 bzw. 9 min für den zweiten Schritt. Trotzalledem ist die mangelhafte Löslichkeit ein Ausschlusskriterium für die Auswahl dieser Substanzen als potentielle Prodrugvertreter, da die zur Erzielung wirksamer Plasmaspiegel erforderlichen Wirkstoffmengen eine höhere Löslichkeit erfordern.

- das Ethylcarbamat (**5-1**) in neutraler Lösung als besonders gut löslich*.

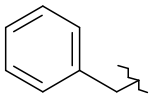
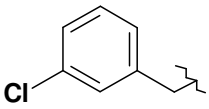
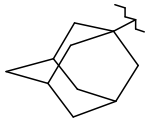
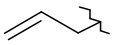
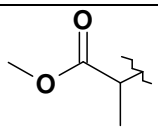


2



5

Abb. 4-1: Prodrugs mit gesteigerter Löslichkeit gegenüber Entacapon (**1**).

	R^1		R^2
2-5		**5-1**	
2-6		**5-5**	
2-19		**5-13**	
2-48			

Tab. 4-1: Prodrugs mit gesteigerter Löslichkeit.

4.1.2 Lipidlöslichkeit

Die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten logP wurde nur für die Substanzklasse der mono- und Biscarbonate durchgeführt, weshalb an dieser Stelle keine kategorischen Struktur-Löslichkeits-Beziehungen abgeleitet werden können. Durch eine im Vergleich zur Muttersubstanz (logP = 1,3) besonders gesteigerte Lipidlöslichkeit bei

* Der Befund bestätigt die Ergebnisse von *Savolainen und Mitarbeitern*. Diese stellten jedoch eine bedeutend größere Steigerung der Löslichkeit gegenüber der Muttersubstanz fest.

pH 7,4 fielen neben dem Bis-(but-3-inyl)-carbonat (**3-1**, logP = 3,4) einige Vertreter der Monocarbonate auf, deren aliphatische und alicyclische Reste eine Größe von 6 Kohlenstoffatomen überschritten (**2-16**, **2-26**-**2-28** und **2-30**).

4.1.3 Stabilität gegen chemische Hydrolyse

Aus den Resultaten der Stabilitätstest in saurer bzw. phosphatgepufferter Lösung lassen sich erste Struktur-Aktivitäts- (bzw. Stabilitäts-) Beziehungen ableiten.

Die Biscarbamate (**7**) zeigten außergewöhnliche Stabilität in beiden Medien. Bei keinem Vertreter dieser Stoffgruppe konnte eine Halbwertzeit bestimmt werden. Gleiches gilt für den Diethylether des Entacapon (**13**, vgl. Tab. 4-2).

Stoffklasse	Freisetzung von (1) bei pH 3	Freisetzung von (1) bei pH 7,4
2 (Monocarbonate)	+	+
5 (Monocarbamate*)	+	+
6 (Monocarbamate†)	+	-
7 (Biscarbamate)	-	-
8 (Ester)	+	+
13 (Bisether)	-	-

Tab. 4-2: Freisetzungsverhalten einiger Prodrug-Stoffklassen.

Die *N,N*-disubstituierten Monocarbamate (**6**) erwiesen sich ebenfalls als sehr hydrolyseresistent in neutraler Lösung. Im Sauren hingegen

* *N*-monosubstituierte Monocarbamate
† *N,N*-disubstituierte Monocarbamate

zeigten die meisten Vertreter kurze Zerfallshalbwertzeiten im Bereich unter zwei Stunden[*].

Diese Säurelabilität, die einen frühzeitigen Abbau des Prodrugs im Magensaft nach sich ziehen würde, ist ein nicht zu unterschätzender Nachteil, der jedoch auf dieser Stufe der Untersuchungen noch nicht zum Ausschluss der Substanzen aus den *in vitro* Tests führte.

Die aromatischen Vertreter unter den *N*-monosubstituierten Monocarbamaten (**5-8, 5-9 und 5-10**) zeigten eine auffallend hohe Hydrolyserate in neutraler Lösung. Die ermittelten Halbwertzeiten (<1 h), untermauern die Beobachtungen, die schon während der Synthese der Derivate angestellt wurden. Während der Aufarbeitung der Produkte wurde bereits eine starke Tendenz zur Hydrolyse festgestellt (vgl. Kapitel 3.2.2.3).

Die Stabilitätsuntersuchung aller weiteren *N*-monosubstituierten Carbamate (**5**) erbrachte gute Resultate mit Halbwertzeiten von 5 – 19 h im Sauren, bzw. 4 – 16,5 h im Neutralen[†].

Diese Befunde zur Stabilität der Carbamate in saurer und neutraler Lösung lassen Rückschlüsse auf die in Kapitel 1.3.2.2 vorgestellten möglichen Hydrolysemechanismen zu:

Eine Einschränkung des basenkatalysierten Freisetzungsmechanismus (pH 7,4) wie er im Falle der *N*,*N*-disubstituierten Derivaten (**6**) auftritt (vgl. Abb. 4-2, oben), ist bei den monosubstituierten Analoga (**5**) nicht zu beobachten. Dies spricht dafür, dass die Hydrolyse bei diesen Vertretern über den Zwischenzustand des Isocyanats abläuft, welcher den monoalkylierten Carbamatprodrugs (**5**) vorbehalten ist (vgl. Abb. 4-2, unten). Ein weiteres Indiz für diese Hypothese ist die besondere Instabilität der aromatischen Monocarbonate. Hier ist die

[*] Eine Ausnahme ist das *N*-Phenyl-*N*-cyclohexyl-Carbamat des Entacapon (**6-4**). Der Vertreter erwies sich auch im sauren Medium als stabil. Ursache könnte die sterische Abschirmung der Carbamatfunktion durch die raumfüllenden Substituenten sein.

[†] Eine Acetylierung der freien OH-Gruppe *N*-alkylierter Monocarbamate führte zu sehr instabilen Produkten, die für eine Anwendung als oral verfügbares Prodrug nicht in Frage kommen (unveröffentlichte Ergebnisse, Dr. W. Thimann).

Bildung der Isocyanat-Zwischenstufe durch den aromatischen Rest zusätzlich begünstigt.

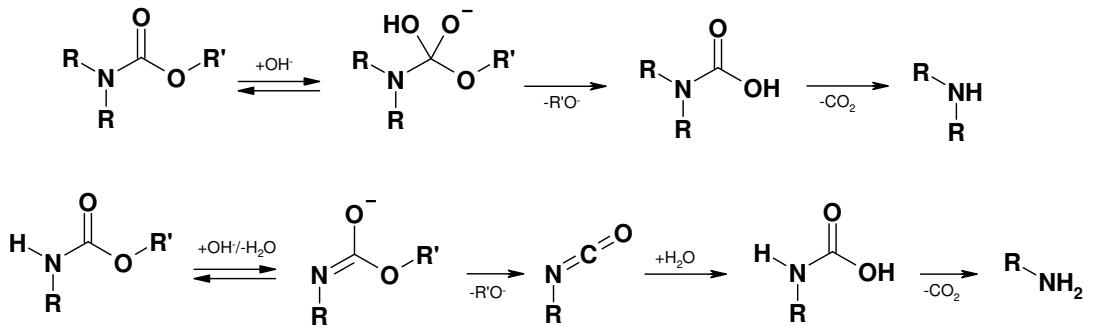


Abb. 4-2: Mechanismus des basenkatalysierten Abbaus von Carbamatderivaten nach *Dittert*[114].

Ursache für die Blockade des alternativen Abbauwegs (Abb. 4-2, oben), der die Zerfallsreaktion der *N*-disubstituierten Carbamate (**6**) darstellt, ist wahrscheinlich die zu geringe Carbonylaktivität der Urethanfunktion, die den initialen nukleophilen Angriff des Hydroxylions verhindert. Diese Verhältnisse resultieren aus dem +I-Effekt der Substituenten und der Möglichkeit der Resonanz zwischen Carbonylgruppe und dem freien Elektronenpaar des Stickstoffs. Eine sterische Abschirmung durch die Substituenten am Urethanstickstoff ist ebenfalls denkbar.

Die Protonierung des Carbonylsauerstoffs als erster Schritt der säurekatalysierten Degradierung des Prodrugs ist durch die geschilderten Verhältnisse wiederum begünstigt, was die ermittelten kurzen Halbwertzeiten in 0,1 M Salzsäure belegen.

Die Stabilität der Monocarbonate (**2**) ist im neutralen Medium generell geringer als im Sauren. Der Befund spricht für eine Beteiligung der bei diesem pH-Wert deprotoniert vorliegenden zweiten phenolischen Hydroxygruppe (pK_s = 4,5) im Sinne einer Autokatalyse. Diese erfolgt vermutlich in Analogie zu dem von *Fife und Mitarbeitern*[146] postulierten Mechanismus (vgl. S. 72).

Abhängig von der Natur des Alkohols, aus dem das Carbonat gebildet wurde, ließen sich signifikante Stabilitätsunterschiede ableiten. So zeigten die Carbonate der tertiären Alkohole im allgemeinen eine geringere Stabilität als die primären oder sekundären Vertreter. Durch den +I-Effekt scheint der erste Schritt der säurekatalysierten Hydrolyse (Protonierung des Carbonylsauerstoffs) begünstigt zu sein.

Gute Stabilitätskriterien konnten den aliphatischen, verzweigtkettigen Carbonaten bescheinigt werden. Als besonders stabile Vertreter sind das 2- und das 3-Pentyl- sowie das Cyclopentylcarbonat (**2-14**, **2-15** und **2-23**) zu nennen.

Ester der *N*-acetylierten Aminosäuren (**8-1** und **8-2**) und der gemischte Ester der Malonsäure (**8-3**) schieden auf dieser Stufe der *in vitro* Testungen aus dem Prozess aus. Die Verseifung dieser Prodrugs lief in beiden Medien zu schnell ab und resultierte in Halbwertzeiten < 2h.

4.2 Untersuchung der enzymatischen Freisetzung und der Permeabilität von Biomembranen

4.2.1 Enzymatische Freisetzung des Entacapon

Die Ermittlung der Stabilität gegenüber enzymatischer Hydrolyse wurde durch Inkubation der Testverbindungen mit humanem EDTA-Plasma über verschiedene Zeiträume ermittelt. Die Resultate der HPLC-Quantifizierung des verbleibenden Prodrugs und des freigesetzten Entacapon liefern den Zahlenwert der Halbwertzeit ($t_{1/2}$ in h).

Die gegenüber chemischer Hydrolyse als resistent befundenen Biscarbamate (**7**) zeigten sich auch in diesem Teil der Testungen als äußerst stabil. Eine Freisetzung des Wirkstoffs Entacapon konnte bei keiner der Verbindungen detektiert werden. Damit ist diese Gruppe der Prodrugs für die weitere Entwicklung uninteressant.

Die Monocarbamate verhielten sich auch hier abhängig vom Substitutionsgrad des Stickstoffatoms sehr unterschiedlich. Während die *N,N*-disubstituierten Vertreter (**6**) selbst nach einstündiger Inkubation kein Entacapon freizusetzen vermochten, entbanden die *N*-monosubstituierten Carbamate (**5**) die Muttersubstanz mit Halbwertzeiten zwischen 39 und 180 min. Die aromatischen Vertreter zeigten sich wiederum besonders instabil ($t_{1/2}$ = 2-8 min).

Aminosäureester (**8-1** und **8-2**) und der Ethylmalonylester des Entacapon (**8-3**) waren ebenfalls gegenüber der enzymatischen Hydrolyse von mangelhafter Beständigkeit.

Die Ergebnisse der Auswertung der Zerfallshalbwertzeiten von Monocarbonaten (**2**) in wässrigen Medien, die im vorangegangenen Kapitel vorgestellt wurden, sind nicht auf die Befunde der enzymatischen Hydrolyse übertragbar.

Das *tert.*-Butylcarbonat (**2-1**) beispielsweise, welches sich bei den Untersuchungen zur Stabilität gegenüber chemischer Hydrolyse als sehr labiler Vertreter ($t_{1/2}$ = 1,1 h) hervorhob, zählte bei den Testungen der enzymatischen Entacapon-Freisetzung mit einer Halbwertzeit von

36 min zu den beständigsten Derivaten. Die *tert.*-Butylgruppe, die mit ihrem +I-Effekt die säurekatalysierte Hydrolyse begünstigt*, erschwert durch ihren raumfüllenden Effekt die enzymatische Degradierung offenbar signifikant.

Insgesamt liegen die Halbwertzeiten der Carbonatvertreter mit akzeptablen Freisetzungseigenschaften in Bereich von 2-49 min. Sie sind damit tendenziell instabiler als die Monocarbamate, deren labilster Vertreter eine Halbwertzeit von 39 min besitzt.

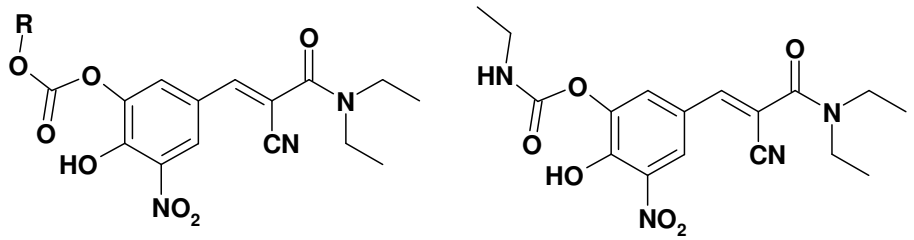
4.2.2 Permeabilität von Biomembranen

Die Permeabilität physiologischer Barrieren spielt eine zentrale Rolle in der Wirkstoffadministration und -distribution. Eines der wichtigsten zu überwindenden Gewebe ist die Dünndarmwand. Sie wird im *in vitro* Modell durch humane, epitheliale Kolonkarzinomzellinien† simuliert, die als Monolayer ein apikales von einem basolateralen Medium trennen. Die Permeabilitätseigenschaften eines Wirkstoffs werden durch Quantifizierung der von der apikalen auf die basolaterale Seite übergetretenen Substanzmenge ermittelt und als Permeabilitätskoeffizient (P_{app}) angegeben. Über den Mechanismus des Transports kann anhand des ermittelten Werts keine definitive Aussage gemacht werden.

Die Durchführung dieser Bestimmung wurde auf Entacapon, ausgewählte Vertreter der Monocarbonate und das Ethylcarbamat (**5-1**) beschränkt (vgl. Abb. 4-3 und Tab. 4-2).

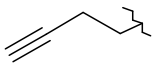
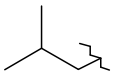
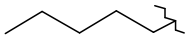
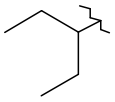
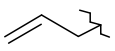
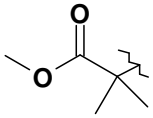
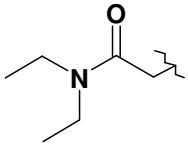
* Die problemlose säurekatalysierte Abspaltung ist auch der Grund, warum *tert.*-Butylgruppen breite Anwendung als Schutzgruppen finden. Die Hydrolyse findet (entgegengesetzt zur klassischen Synthesevariante) unter Freisetzung von Isobuten statt[211].

† Zur Ermittlung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse wurde die Caco-2-Zelllinie als Monolayer eingesetzt. Die pH-Werte des apikalen bzw. basolateralen Mediums betrugen 6,5 bzw 7,4. Details zu den Bedingungen der Permeabilitätsstudien sind in Kapitel 5.4 wiedergegeben.



2 **5-1**

Abb. 4-3: Prodrugs in den Permeabilitätsstudien.

	R	P_{app} (10^{-6} cm/s)
Entacapon	-	17
5-1	-	2,1
2-4		4,9
2-10		31
2-12		24,3
2-13		<5,1
2-15		22,4
2-19		8,5
2-55		11,7
2-59		<5,1

Tab. 4-3: Permeabilitätskoeffizienten von Entacapon (**1**) und seinen Prodrugs.

In den Permeationstests zeigten sich die Carbonate dem getesteten Carbamat überlegen. Insbesondere die aliphatischen, verzweigten Vertreter (wie bspw. **2-10**, **2-12** oder **2-19**) liegen mit ihrem Permeabilitätskoeffizienten über dem des Entacapon. Sie sind also in der Lage eine Barriere, wie die Dünndarmmukosa, effektiver zu überwinden als die Muttersubstanz.

Die *in vitro*-Bestimmung der Freisetzungsgeschwindigkeiten zeigte die Überlegenheit zweier Prodrugklassen. Vertreter der Monocarbonate (**2**) sowie der *N*-monosubstituierten Carbamate (**5**) erbrachten vielversprechende Resultate. Relevanter sind hingegen die Ergebnisse der Permeabilitätstests, die Hinweise auf das Resorptionsverhalten der Prodrugs zulassen. Hier lagen die erhaltenen Permeabilitätskoeffizienten der Carbonate weit über dem des getesteten Carbamatprodrugs und zum Teil deutlich über dem ermittelten Wert für Entacapon. Damit qualifizierten sich insbesondere die Carbonatprodrugs für weiterführende Testungen im lebenden Organismus.

4.3 *In vivo*-Tests

Zwei der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Entacapon-Prodrugs (Ethylcarbamat (**5-1**) und 3-Pentylcarbonat (**2-15**)) erwiesen sich in den *in vitro* Versuchen als geeignete Vertreter zur Durchführung von *in vivo* Testreihen.

Die Ergebnisse dieser *in vivo*-Studien unterlagen aufgrund eines laufenden Patentverfahrens in den USA zum Zeitpunkt der Drucklegung dieser Arbeit jedoch absoluter Geheimhaltung.

Eine Veröffentlichung der Daten ist für die nahe Zukunft geplant.

4.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Zusammenfassend lassen sich die Ergebnisse der *in vitro*-Testreihen folgendermaßen darstellen:

- Das Zufallsprodukt des Diethylethers (**13**) erweist sich ebenso wie die Stoffgruppe der Biscarbamate (**7**) als nicht bioreversibel und damit ungeeignet.

- Die Aminosäure-Ester (**8-1** und **8-2**) sind ebenfalls nicht für eine Anwendung als Prodrug geeignet. Sie zeigten zwar eine vollständige Bioreversibilität, jedoch sind die Plasmahalbwertzeiten dieser Produkte zu gering für eine oral applizierbare Arzneiform. Gleiches gilt für den gemischten Diester (**8-3**)

- Biscarbonate (**3**) zeichnen sich in ihren physikochemischen Eigenschaften durch mangelhafte Löslichkeit aus, was ihre Verwendung als Prodrugs ausschließt.

- Die Monocarbamate zeigen abhängig vom Substitutionsgrad am Stickstoff unterschiedliche Resultate:

- *N*,*N*-disubstituierte Vertreter (**6**) sind laut Hydrolyseuntersuchungen mit Blutplasma nicht bioreversibel.

- Die *N*-monosubstituierten Derivate (**5**) hingegen zeigen zum Teil sehr vielversprechende *in vitro*-Daten. Aromatische Vertreter kommen jedoch aufgrund mangelhafter Stabilität bei pH 7,4 nicht in die engere Auswahl.

- Ebenso vielversprechend zeigen sich in den Testungen einige Vertreter der Monocarbonate (**2**). Aliphatische, verzeigtkettige Vetreter dieser Stoffgruppe schneiden überdurchschnittlich gut ab.

- Die Permeabilitätstests, die mit Vertretern der Monocarbonate und einem Monocarbamat durchgeführt wurden ergaben ebenfalls sehr gute Werte für die Carbonatderivate (**2**).

Die weiterführenden Testungen der vorgestellten Prodrugs auf der Stufe der *in vivo* Modelle sind zur Zeit in der Durchführung. Derivate der *N*-monosubstituierten Carbamate, sowie vielversprechende Vertreter der Carbonate stehen hier im Fokus. Die Ergebnisse dieser Testreihen konnten zum Zeitpunkt der Drucklegung aus Gründen der Geheimhaltung nicht bereitgestellt werden, da sich ein Verfahren zum Patentschutz der Prodrug-Stoffklasse der Carbonate zur Zeit in der Anmeldung befindet.

Zukünftige Bemühungen der pharmazeutischen Chemie zur Auffindung oral applizierbarer Entacapon-Prodrugs sollten sich auf die Synthese weiterer Vertreter der Carbonate erstrecken. Die systematische Erfassung physikochemischer Parameter und die Testung der Freisetzungs- und Permeabilitätseigenschaften würde somit die Formulierung detaillierterer Struktur-Stabilitäts-Beziehungen ermöglichen.

5 Experimentalteil

5.1 Verzeichnis der Geräte und Analysenmethoden

Schmelzpunkte

Schmelzpunktapparatur nach Linström (unkorrigiert),
Mettler FP 62 (für klarschmelzende Verbindungen mit Schmelzpunkt <300°C)

IR-Spektren

Perkin-Elmer 1600 series FTIR
Bearbeitung der Spektren mit dem Programm
Graph Builder Rev. 1.10, Perkin-Elmer Ltd., 1993
Vermessen als Film auf NaCl-Fenster oder als KBr-Pressling

^{1}H-NMR-Spektren

Bruker AMX 400 (400,13 MHz), Bruker, Karlsruhe, Deutschland
Bruker AV 400 (400,25 MHz), Bruker, Karlsruhe, Deutschland
Bruker DRX 500 (500,13 MHz), Bruker, Karlsruhe, Deutschland

Lösungsmittel: [d_6]-DMSO, $CDCl_3$
Chemische Verschiebung mit δ-Werten in ppm
Innerer Standard: Tetramethylsilan (TMS)
Ermittlung der Protonenverhältnisse durch Integration
Abkürzung der Signalmultiplizitäten: (s) = Singulett,
(d) = Duplett, (t) = Triplett, (q) = Quartett, (m) = Multiplett,
(br) = verbreitertes Signal
Angabe der Kopplungskonstanten *J* in Hz.

^{13}C-NMR-Spektren

Bruker AMX 400 (100,61 MHz), Bruker, Karlsruhe, Deutschland
Bruker AV 400 (100,65 MHz), Bruker, Karlsruhe, Deutschland
Bruker DRX 500 (125,77 MHz), Bruker , Karlsruhe, Deutschland

Lösungsmittel: [d_6]-DMSO, $CDCl_3$
Innerer Standard: Tetramethylsilan (TMS)
Chemische Verschiebung mit δ-Werten in ppm

Es wurden breitbandentkoppelte und PENDANT-Spektren aufgenommen

Massenspektren

ESI-Massenspektren: Varian, MS 1200L
EI-Massenspektren: Varian, MAT 311 A (EI, 70 eV)

UV/VIS-Spektrometer

Shimadzu UV-Visible Recording Spectrometer UV-160
Angegeben werden die Wellenlängen der Absorptionsmaxima in nm

Elementaranalyse

C, H, N: Heraeus CHN-O-Rapid

HPLC

Varian Pro Star (Steuereinheit/Autosampler: Modell 410, PDA-Detektor: Modell 330, Pumpen: Solvent Delivery Module Modell 24), Varian Deutschland GmbH, Darmstadt, Deutschland
Säule: Lichrocart RP-18 (5µm), 125–4 (Merck)

Parameter: Elutionsmittel: ACN/Wasser (0,1% H_3PO_4)
Wellenlänge: 235 nm
Probenvolumen: 5 µl

Methode 1: Elutionstyp: isokratisch
Flussrate: 1,0 ml/min
Dauer: 20 min

Methode 2: Elutionstyp: Gradientenelution
Flussrate: 1,0 ml/min
Dauer: 35 min
Gradientenverlauf:

0 min:	ACN	100%
30 min:	Wasser	100%
35 min:	ACN	100%

Methode 3: Elutionstyp: Gradientenelution
Flussrate: 1,5 ml/min
Dauer: 45 min

	Gradientenverlauf:	0 min:	ACN/H_2O 70/30
		30 min:	ACN/H_2O 10/90
		45 min:	ACN/H_2O 70/30

Methode 4:	Elutionstyp:	Gradientenelution	
	Flussrate:	1,5 ml/min	
	Dauer:	35 min	
	Gradientenverlauf:	0 min:	ACN/H_2O 80/20
		20 min:	ACN/H_2O 30/70
		35 min:	ACN/H_2O 80/20

MPLC

Pumpe:	Büchi Chromatography Pump B-688, Druckbereich: 8-14 bar
Säule:	Merck Lobar® Fertigsäule, LiChroPrep® RP-18, 310 x 25 mm, Korngröße: 40–63 pm
Detektor:	Knauer UV Detektor K-2001 (254 nm)
Mobile Phase:	ACN/Wasser 3:2 mit 0,1% H_3PO_4

SC

Kieselgel MP Silica 100-200, aktiv 60 Å

Die Chromatographie wurde über eine Säulenhöhe von 10-15 cm durchgeführt.

Flash-Chromatographie

Kieselgel 60 (0,015-0,040 mm), Merck

Dünnschichtchromatographie

DC-Mikrokarten Polygram SIL G/UV_{254}, Firma Macherey-Nagel, Düren, Schichtdicke: 0,2 mm

Die Chromatographie wurde über eine Laufstrecke von 4-6 cm mit Kammersättigung durchgeführt.

Synthesemikrowelle

Mikrowellensystem Discover™, CEM GmbH, Kamp-Lintfort, Deutschland

Trockenmittel für organische Phasen

Wasserfreies Natriumsulfat

Trocknung von Lösungsmitteln

Trockenes Dichlormethan wird aus handelsüblichem Dichlormethan durch mind. 24 stündige Lagerung über trockenem Calciumchlorid und anschließende Destillation über eine 60 cm Vigreux-Kolonne gewonnen.

Trockenes Ethylacetat wird analog aus handelsüblichem Ethylacetat durch Lagerung über trockenem Kaliumcarbonat und Destillation erhalten.

Die Lagerung erfolgt fest verschlossen über Molsieb.

5.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

AAV 1: Synthese von Monocarbonaten mit Chlorformiaten

457 mg (1,5 mmol) Entacapon werden in 5 ml THF vorgelegt und mit 1,5-2,5 mmol des Chlorameisensäureesters unter Eiskühlung (-17°C) versetzt. Eine Lösung von DBU in 5 ml THF wird schnell hinzugetropft. Die rote Suspension wird unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur gerührt bis sich die Produktbande bei ca. 1760 cm^{-1} nicht mehr verändert. Der Ansatz wird im Vakuum eingeengt, in 10 ml Ethylacetat aufgenommen und einmal mit 2 M HCl ausgeschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet, eingeengt und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

AAV 2: Synthese von Biscarbonaten mit Chlorformiaten

457 mg (1,5 mmol) Entacapon werden in 5 ml THF vorgelegt und mit 3-4,5 mmol des Chlorameisensäureesters versetzt. Unter Eiskühlung (-10°C) wird eine Lösung von 456 mg (3 mmol) DBU in 5 ml THF schnell hinzugegeben und unter langsamer Erwärmung der Lösung auf Raumtemperatur gerührt. Nach einer Reaktionszeit von 8-18 h wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt (Abzug!). Das ölige Rohprodukt wird in 10 ml Ethylacetat aufgenommen und einmal mit gekühlter 2 M HCl ausgeschüttelt. Die org. Phase wird getrocknet, unter vermindertem Druck eingeengt und das farblose Produkt durch mehrfache säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mittels Gradientenelution (Dichlormethan/Hexan (10:1) => Dichlormethan/ Ether (10:1)) in der gewünschten Reinheit gewonnen.

AAV 3: Synthese des cyclischen Carbonats mit Kohlenmonoxid/ Palladiumcarbonylchlorid

1,5 mmol des Brenzcatechins und 280 mg (1,65 mmol) Pd(CO)Cl in 10 ml Dichlormethan werden in einen 500 ml Dreihalskolben gegeben, der mit einem Gaseinlassventil, einem Septum und einem Gasballon bestückt ist. Die Versuchsapparatur wird mit Kohlen-

monoxid befüllt und der Ansatz eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Unter Verwendung einer Spritze werden 465 mg (3 mmol) 1,2,2,6,6-Pentamethylpiperidin zugetropft. Nach einer halben Stunde ist Pd^0 in Form eines grünlichschwarzen Niederschlags quantitativ ausgefallen. Das erhaltenen Rohprodukt wird nach Filtration ohne weitergehende Aufreinigung gemäß **AAV 6** oder **9** weiter umgesetzt.

AAV 4: Synthese des cyclischen Carbonats mit Phosgen

1,5 mmol des Brenzcatechins werden in 8 ml Dichlormethan oder Tetrahydrofuran gelöst und mit 18 Tropfen Pyridin versetzt. Unter Eiskühlung werden 3,72 g einer 20%igen Lösung von Phosgen in Toluol zugegeben. Der Reaktionsansatz wird zwei Stunden unter Eiskühlung und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt (Abzug!) und der Rückstand mit 8 ml Ethylacetat aufgenommen*. Nach Abfiltration und Spülen des ausgefallenen Pyridin-HCl kann das entstandene Ringschlussprodukt ohne weitere Reinigung analog **AAV 6** oder **9** umgesetzt werden.

AAV 5: Synthese des cyclischen Carbonats mit *N,N*-Carbonyldiimidazol (CDI)

1 mmol des Brenzcatechins wird in 10 ml Dichlormethan vorgelegt und mit 356 mg (2,2 mmol) *N,N*-Carbonyldiimidazol versetzt. Nach einer halben Stunde wird der Ansatz mit 5 ml 2 M Salzsäure überschichtet und für eine weitere halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden die Phasen getrennt, der organische Anteil erneut mit 2 M Salzsäure gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wird ohne weitergehende Reinigung gemäß **AAV 6** oder **9** weiterverarbeitet.

* Wird Tetrahydrofuran als Lösungsmittel verwendet, erfolgt das Einengen des Ansatzes im Vakuum erst nach Abtrennung des Pyridin-Hydrochlorids. Anschließend wird das Rohprodukt wieder in 5 ml Tetrahydrofuran aufgenommen.

AAV 6: Öffnung des cyclischen Carbonats mit Alkoholen

Der Lösung des cyclischen Carbonats wird die angegebene Menge des entsprechenden Alkohols zugesetzt und der Ansatz bis zum Verschwinden der Carbonylbande bei Raumtemperatur gerührt*. Nach Abschluß der Reaktion wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt in 10 ml Ethylacetat aufgenommen und mit 15 ml kalter 2 M Salzsäure ausgeschüttelt. Nach Trocknung der organischen Phase wird diese eingeengt und umkristallisiert oder einer säulenchromatographischen Aufreinigung an Kieselgel unterzogen.

AAV 7: Synthese von Biscarbamaten mit Carbamoylchloriden

457 mg (1,5 mmol) Entacapon werden in 5 ml wasserfreiem Pyridin suspendiert. Dem Ansatz werden 5 mmol des Carbamoylchlorids zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Wenn dünnschichtchromatographisch kein Entacapon mehr nachzuweisen ist, ist die Reaktion abgeschlossen und der Ansatz wird mit 15 ml Dichlormethan aufgefüllt. Der Ansatz wird so oft mit 2 M Salzsäure ausgeschüttelt, bis die wässrige Phase farblos bleibt. Nach Trocknen und Einengen der organischen Phase bei vermindertem Druck wird das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie gereinigt. Die Zielverbindungen kristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan.

AAV 8: Synthese von Monocarbamaten mit Isocyanaten

305 mg (1 mmol) Entacapon wird in 5-10 ml Acetonitril suspendiert. 2,4-5 mmol des Isocyanats werden zugegeben und der Ansatz 16 h-5 d bei ca. 80°C unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt (Abzug!) und der Ansatz einmal aus Ethylacetat und Hexan umgefällt. Die Aufarbeitung erfolgt durch mehrfaches Umkristallisieren oder mittels Säulenchromatographie an Kieselgel (Ethylacetat/n-Hexan 2:1).

* Langsame Umsetzungen können durch Zugabe einer Base (K_2CO_3, TEA, DBU, TDB) katalysiert werden.

AAV 9: Öffnung des cyclischen Carbonats mit Aminen

1-2 mmol des Amins werden in 10 ml Dichlormethan gelöst und so lange der Lösung des cyclischen Carbonats in Dichlormethan hinzugetropft, bis die Bande des cyclischen Carbonats bei 1870 cm^{-1} im Infrarotspektrum vollständig verschwunden ist*. Der Ansatz wird nach Beendigung der Reaktion unter Zuhilfenahme von Unterdruck filtriert und zweimal mit 2 M Salzsäure ausgeschüttelt. Die organische Phase wird nach Trocknen mit Natriumsulfat evaporiert und durch Umkristallisieren aus Ethylacetat oder mittels Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt.

AAV 10: Synthese der Aminosäureester mit *N*,*N*'-Carbonyldiimidazol

2 mmol der *N*-geschützten Aminosäure und 356 mg (2,2 mmol) Carbonyldiimidazol werden in 20 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und 3 h gerührt, bis eine klare Lösung vorliegt. Nach der Zugabe von 305 mg (1 mmol) Entacapon wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird in 20 ml Dichlormethan aufgenommen, zweimal mit 1 M Salzsäure und einmal mit Wasser extrahiert, getrocknet und evaporiert. Das gelbe Produkt wird zur Erzielung einer ausreichenden Reinheit zweimal aus Ethylacetat und n-Hexan umkristallisiert.

* Falls die Reaktion sehr langsam verläuft kann eine Basenkatalyse durch Zutropfen einer Lösung von Triethylamin in Dichlormethan bewirkt werden. Bei der Verwendung von Amin-Hydrochloriden wird immer eine Lösung von Triethylamin in Dichlormethan zur Freisetzung der Base zugetropft

5.3 Analytische Daten der synthetisierten Verbindungen

5.3.1 Verbindungen aus Kapitel 3.1

Palladium-(I)-carbonylchlorid **IX**

Pd(CO)Cl

Arbeitsvorschrift (in Anlehnung an Lit.[156]):

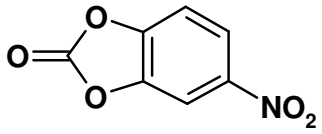
Eine gesättigte Lösung von 1,0 g (5,6 mmol) Palladium(II)chlorid in 6 ml konzentrierter Salzsäure wird in einen 500 ml Dreihalskolben, der über einen Gaseinlassventil und einen Gasballon verfügt, gegeben. Die Lösung wird für 24 h bei Raumtemperatur unter Kohlenmonoxidatmosphäre gerührt. Anschließend werden der Lösung 50 ml Ameisensäure zugegeben, der entstandene gelbe Niederschlag abfiltriert und mit Ameisensäure und Aceton gewaschen.

Ausbeute: 62% (588 mg), schmutziggelbes, amorphes Pulver

IR: 1980 cm^{-1} (C=O); Lit.[156]: 1977 cm^{-1}

COClPd [169,50]

5-Nitro-1,3-benzodioxol-2-on **XII**



Arbeitsvorschriften:

nach Lit[162]:
Aus 155 mg (1 mmol) 4-Nitrobrenzcatechin und 326 mg (2 mmol) *N*,*N*-Carbonyldiimidazol nach **AAV 5**.

Ausbeute: 82% (150 mg), farbloses Öl **oder**

nach Lit.[151]:
155 mg (1 mmol) des 4-Nitrobrenzcatechins und 243 mg (1,5 mmol) Viehe-Salz werden in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst und eine Stunde rückflusserhitzt. Zu der weißen Suspension werden nach Abkühlen des Ansatzes 36 mg Wasser (2 mmol) gegeben und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird mit 2 M Salzsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Kochsalzlösung extrahiert, getrocknet und im Vakuum eingeengt. Das Produkt fällt dabei als weißes amorphes Pulver an.

Ausbeute: 62% (112 mg), weißes Pulver

Smp.: 94,8°C; Lit[212]: 99 – 100°C

IR: 1842 cm^{-1} (C=O)

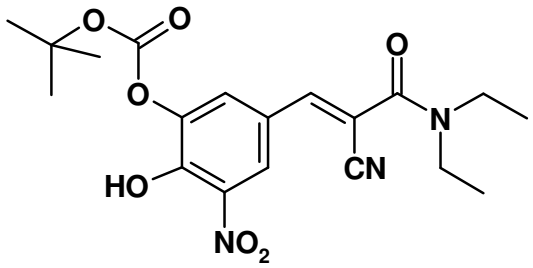
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
7,45 (d, ^3J = 8,90 Hz, 1H, aromat.); 8,19 (d, ^4J = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,62 (d, ^3J = 8,90 Hz, ^4J = 2,29 Hz, 1H, aromat.)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
106,96 (C_5 aromat.), 110,58 (C_6 aromat.), 121,67 (C_3 aromat.); 142,99 (C_2 aromat.), 144,95 (C=O); 147,36 (C_4 aromat.); 149,78 (C_1 aromat.)

ESI-MS: [M+] ber.: 181
[M+] gef.: 181

$C_7H_3NO_5$ [181,11]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-*tert.*-butyl-ester **2-1**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 741 mg *tert.*-Butanol (10 mmol) nach **AAV 6**.

Ausbeute: 106 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 112,1 °C

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,59 (s, 9H, C(CH_3)$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,26 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 1H, O*H*)*

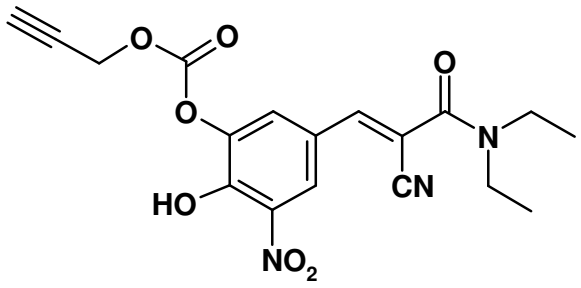
HPLC: R_t: 20,06 min (95%; Methode 2)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 404
$[M-1]^-$ gef.: 404

$C_{19}H_{23}N_3O_7$ [405,41]

* Die kernresonanzspektroskopischen Daten dieser Substanz sind identisch mit den von *Leppänen und Mitarbeitern* generierten NMR-Daten, die die ausschließliche Acylierung in Position 3 des Entacapon-Grundgerüsts postulieren[142]. Der Beweis der regioselektiven Derivatisierung erfolgte am Beispiel der Röntgenkristallstruktur des Pivaloylesters des Entacapon[144].

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-prop-2-inyl-ester **2-2**



Aus 458 mg (1,5 mmol) Entacapon (**1**) und 274 mg (2,25 mmol) Chlorameisensäurepropargylester nach **AAV 1**, säulenchromatographische Reinigung mittels Gradientenelution (Dichlormethan/Hexan (10:1) → Dichlormethan/Diethylether (10:1))

Ausbeute: 22% (120 mg), zitronengelbes, amorphes Pulver

Smp.: 97,3°C

IR: 2213 cm^{-1} (C≡N); 2135 cm^{-1} (C≡C); 1781 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1642 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 2,63 (t, *J* = 2,29 Hz, 1H, C*H*≡C); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,90 (s, 1H, O-C*H*$_2$); 4,91 (s, 1H, O-C*H*$_2$); 7,60 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, *J* = 2,28 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,8H, O*H*)

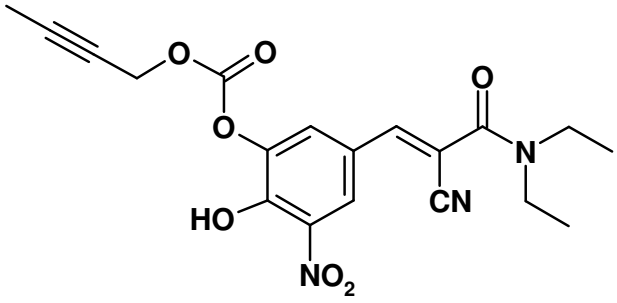
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,85 (N-CH_2-*C*H$_3$); 43,41 (N-*C*H$_2$); 56,94 (O-*C*H$_2$); 75,88 (H*C*≡C); 76,86 (HC≡*C*); 108,97 (*C*-CN); 115,27 (C-*C*N); 123,88 (C_5 aromat.), 125,14 (C_4 aromat.), 129,53 (C_6 aromat.); 134,45 (C_3 aromat.); 141,23 (C_2 aromat.); 146,97 (*C*H=C); 150,01 (C_1 aromat.); 151,71 (C=O [Carbonat]); 162,20 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 10,90 min (100%; Methode 3)

EI-MS: [M+] ber.: 387
[M+] gef.: 387

$C_{18}H_{17}N_3O_7$ [387,35]

(E)-Kohlensäure-but-2-inyl-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **2-3**



Aus 463 mg (1,5 mmol) Entacapon (**1**) und 319 mg (2,25 mmol) Chlorameisensäurebut-2-inylester nach **AAV 1**, säulenchromatographische Reinigung mittels Gradientenelution (Dichlormethan → Dichlormethan/ Diethylether (10:1))

Ausbeute: 63% (253 mg), gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 88,5°C

IR: 2240 cm^{-1} (C≡C); 2208 cm^{-1} (C≡N); 1787 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1640 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,91 (m, 3H, C*H*$_3$-C≡C); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,87 (m, 2H, O-C*H*$_2$); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,28 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
3,73 (*C*H$_3$-C≡C); 12,54 (N-CH_2-*C*H$_3$); 43,35 (N-*C*H$_2$); 58,00 (O-*C*H$_2$); 71,61 (CH_3-*C*≡C); 85,11 (CH_3-C≡*C*); 108,90 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,88 (C_5 aromat.), 125,03 (C_4 aromat.), 129,63 (C_6 aromat.); 134,44 (C_3 aromat.); 141,35 (C_2 aromat.); 147,04 (*C*H=C); 150,10 (C_1 aromat.); 151,84 (C=O [Carbonat]); 162,25 (C=O [Amid])

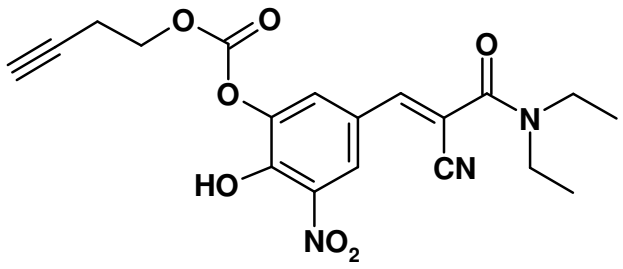
HPLC: R_t: 12,26 min (96%; Methode 3)

EI-MS: [M+] ber.: 401
[M+] gef.: 401

Ber. [%]:	C	56,86	H	4,77	N	10,47
Gef. [%]:	C	56,82	H	4,94	N	10,35

$C_{19}H_{19}N_3O_7$ [401,38]

(E)-Kohlensäure-but-3-inyl-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **2-4**



Aus 457 mg (1,5 mmol) Entacapon (**1**) und 331 mg (2,5 mmol) Chlorameisensäurebut-3-inylester nach **AAV 1**, säulenchromatographische Reinigung mittels Gradientenelution (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1)
Ausbeute: 45% (180 mg), hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 88,0°C

IR: 2213 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1645 cm^{-1} (C=O [Amid])

UV/Vis: λ_{max}: 242 nm, 370 nm (Methanol)

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 2,08 (t, *J* = 2,80 Hz, 1H, C*H*≡C); 2,70 (dt, *J* = 2,54/6,86 Hz, 2H, O-CH_2-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,42 (t, *J* = 6,86 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 7,60 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,71 + 13,69 (N-CH_2-*C*H_3); 18,97 (*C*H_2-C≡); 40,81 + 43,60 (N-*C*H_2); 67,08 (H*C*≡C); 70,71 (O-*C*H_2); 78,76 (HC≡*C*); 108,96 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,89 (C_5 aromat.); 125,04 (C_4 aromat.); 129,48 (C_6 aromat.); 134,48 (C_3 aromat.); 141,39 (C_2 aromat.); 146,98 (*C*H=C); 150,12 (C_1 aromat.); 151,94 (C=O [Carbonat]); 162,24 (C=O [Amid])

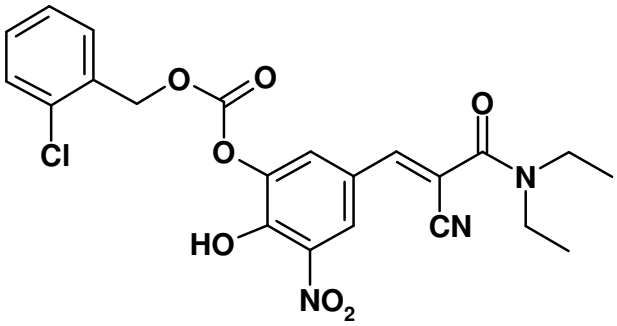
HPLC: R_t: 11,61 min (96%; Methode 3)

EI-MS: [M+] ber.: 401
[M+] gef.: 401

Ber. [%]:	C	56,86	H	4,77	N	10,47
Gef. [%]:	C	56,62	H	4,86	N	10,35

$C_{19}H_{19}N_3O_7$ [401,38]

(E)-Kohlensäure-2-chlorbenzyl-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **2-5**



Aus 316 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 370 mg (1,5 mmol) Chlorameisensäure-2-chlorbenzylester nach **AAV 1**, zweimalige säulenchromatographische Reinigung mittels Gradientenelution (Ethylacetat/ n-Hexan 2:1 → 1:1).

Ausbeute: 39% (185 mg), gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 124,3°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1783 cm^{-1} (C=O [Carbonat]), 1640 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,46 (s, 2H, O-C*H*$_2$); 7,31-7,36 (m, 2H, aromat.); 7,43-7,45 (m, 1H, aromat.); 7,52-7,54 (m, 1H, aromat.); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,96 (s (br), 0,8H, O*H*)

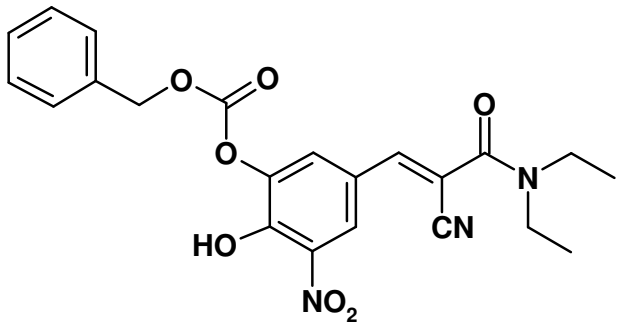
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,50 (N-CH_2-*C*H_3); 43,20 (N-*C*H_2); 68,52 (O-*C*H_2); 108,66 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,86 (C_5 aromat.), 125,03 (C_4 aromat.); 127,13 (phenyl-*C*H); 129,60 (C_6 aromat.); 129,77 (phenyl-*C*H); 130,12 (phenyl-*C*H); 130,29 (phenyl); 131,98 (*C*-Cl); 133,86 (O-CH_2-*C*); 134,42 (C_3 aromat.); 141,40 (C_2 aromat.); 147,06 (*C*H=C); 150,12 (C_1 aromat.); 152,06 (C=O [Carbonat]); 162,24 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 13,00 min (98%; Methode 3)

Ber. [%]:	C	55,76	H	4,25	N	8,87
Gef. [%]:	C	55,91	H	4,43	N	8,75

$C_{22}H_{20}ClN_3O_7$ [473,87]

(E)-Kohlensäure-benzyl-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **2-6**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,04 ml (9,3 mmol) Benzylalkohol nach **AAV 6.** Die Reinigung erfolgt mittels säulenchromatographischer Gradientenelution an Kieselgel (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 87 mg, gelbe Kristallnadeln

Smp.: 139,6 °C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1765 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1634 cm^{-1} + 1621 cm^{-1} (C=O [Amid])

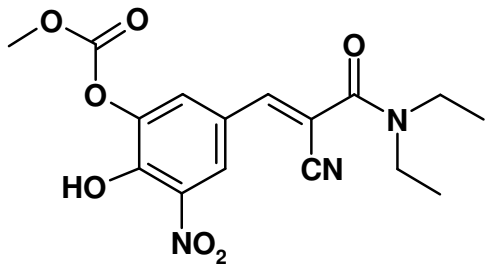
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2);5,33 (s, 2H, O-CH_2); 7,37-7,47 (m, 5H, aromat.); 7,59 (s, 1H, CH=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,95 (s (br), 1H, OH)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,51 (N-CH_2-CH_3); 71,44 (O-CH_2); 108,86 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,86 (C_5 aromat.); 124,96 (C_4 aromat.); 128,56 (benzyl-*C*H); 128,79 (benzyl-*C*H); 129,03 (benzyl-*C*H); 129,63 (C_6 aromat.); 134,13 (benzyl-*C*); 134,41 (C_3 aromat.); 141,45 (C_2 aromat.); 147,06 (*C*H=C); 150,14 (C_1 aromat.); 152,21 (C=O [Carbonat]); 162,25 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 20,28 min (96%; Methode 3)

$C_{22}H_{21}N_3O_7$ [439,43]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-methylester **2-7**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 15 ml Methanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/Hexan.

Ausbeute: 75 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 114,5°C

IR: 2207 cm^{-1} (C≡N); 1761 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1640 cm^{-1} + 1621 cm^{-1} (C=O [Amid])

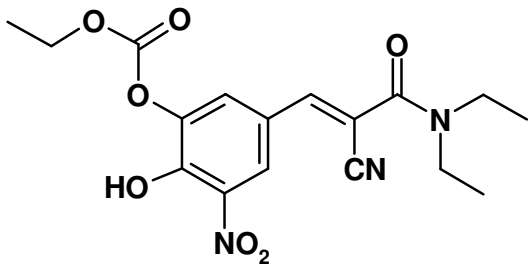
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,30 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 3,98 (s, 3H, O-C*H*$_3$); 7,60 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,96 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,64 + 13,65 (N-CH_2-*C*H$_3$); 40,95 + 43,23 (N-*C*H$_2$); 56,28 (O-*C*H$_3$); 108,89 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,87 (C_5 aromat.); 124,99 (C_4 aromat.); 129,53 (C_6 aromat.); 134,44 (C_3 aromat.); 141,43 (C_2 aromat.); 147,01 (*C*H=C); 150,13 (C_1 aromat.); 152,77 (C=O [Carbonat]); 162,23 (C=O [Amid])

Ber. [%]:	C	52,89	H	4,72	N	11,57
Gef. [%]:	C	52,73	H	4,78	N	11,58

$C_{16}H_{17}N_3O_7$ [363,33]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ethylester **2-8**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 15 ml Ethanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/Hexan (3:2).

Ausbeute: 45 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 106,6°C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1755 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1636 cm^{-1} + 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,43 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, O-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,38 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2), 7,69 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,00 + 15,63 (N-CH_2-*C*H_3); 14,52 (O-CH_2-*C*H_3); 41,56 + 43,93 (N-*C*H_2); 66,46 (O-*C*H_2); 109,13 (*C*-CN); 115,72 (C-*C*N), 124,20 (C_5 aromat.), 125,39 (C_4 aromat.), 129,96 (C_6 aromat.); 134,82 (C_3 aromat.); 141,90 (C_2 aromat.); 147,52 (*C*H=C); 150,67 (C_1 aromat.); 156,47 (C=O [Carbonat]); 162,67 (C=O [Amid])

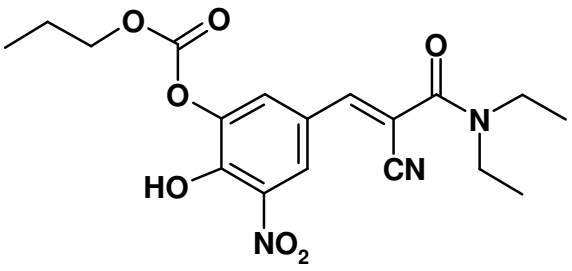
HPLC: R_t: 17,33 min (95%, Methode 2)

EI-MS: [M+] ber.: 377
[M+] gef.: 377

Ber. [%]:	C	54,11	H	5,08	N	11,14
Gef. [%]:	C	54,07	H	5,10	N	11,19

$C_{17}H_{19}N_3O_7$ [377,36]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-propylester **2-9**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 15 ml Propanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan.

Ausbeute: 69 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 81,1 °C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]), 1644 cm^{-1} + 1620 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,04 (t, *J* = 7,38 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,28 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,81 (m, 2H, O-CH$_2$-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,28 (t, *J* = 6,61 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H,aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,94 (s (br), 0,8H, O*H*)

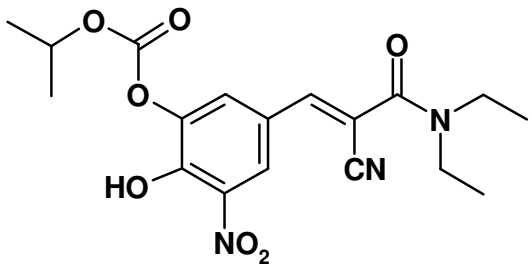
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
10,50 (propyl-*C*H$_3$); 15,18 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 22,33 (propyl-*C*H$_2$); 43,68 (N-*C*H$_2$); 71,92 (O-*C*H$_2$); 109,17 (*C*-CN); 115,71 (C-*C*N), 124,24 (C$_5$ aromat.), 125,35 (C$_4$ aromat.), 129,98 (C$_6$ aromat.); 134,80 (C$_3$ aromat.); 141,91 (C$_2$ aromat.); 147,51 (*C*H=C); 150,62 (C$_1$ aromat.); 152,68 (C=O [Carbonat]); 162,66 (C=O [Amid])

EI-MS: [M+] ber.: 391
[M+] gef.: 391

Ber. [%]:	C	55,24	H	5,41	N	10,74
Gef. [%]:	C	55,04	H	5,18	N	10,67

$C_{18}H_{21}N_3O_7$ [391,38]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-isopropylester **2-10**



Aus (*E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 620 mg (10 mmol) Isopropanol nach **AAV 6**, säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit Gradientenelution (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 304 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 143,8 °C

IR: 2206 cm^{-1} (C≡N); 1745 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1635 cm^{-1} + 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,41 (s, 3H, CH-CH_3); 1,43 (s 3H, CH-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 5,02 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,60 + 13,78 (N-CH_2-*C*H_3); 21,63 (O-CH(*C*H_3)$_2$); 41,01 + 43,25 (N-*C*H_2); 74,69 (O-*C*H); 108,75 (*C*-CN); 115,33 (C-*C*N), 123,85 (C_5 aromat.); 124,87 (C_4 aromat.); 129,63 (C_6 aromat.); 134,40 (C_3 aromat.); 141,58 (C_2 aromat.); 147,15 (*C*H=C); 150,26 (C_1 aromat.); 151,63 (C=O [Carbonat]); 162,30 (C=O [Amid])

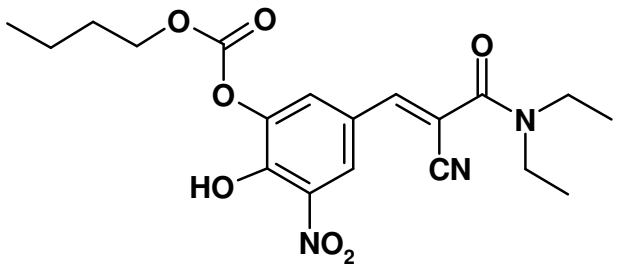
HPLC: R_t: 19,38 min (95%, Methode 2)

EI-MS: [M+] ber.: 391
[M+] gef.: 391

Ber. [%]:	C	55,24	H	5,41	N	10,74
Gef. [%]:	C	55,25	H	5,47	N	10,75

$C_{18}H_{21}N_3O_7$ [391,38]

(E)-Kohlensäure-butyl-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **2-11**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 15 ml Butanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan

Ausbeute: 67 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 72,7°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1753 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1640 cm^{-1} + 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,99 (t, *J* = 7,38, 3H, C*H*$_3$); 1,26 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,48 (m, 2H, C*H*$_2$); 1,77 (m, 2H, C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,32 (t, *J* = 6,86 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.)

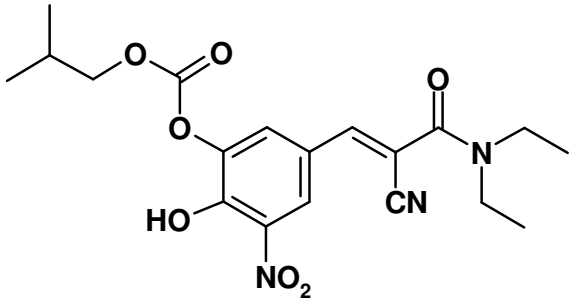
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,52 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 13,64 (butyl-*C*H$_3$); 18,85 (butyl-*C*H$_2$); 30,50 (butyl-*C*H$_2$); 40,97 + 43,45 (N-*C*H$_2$); 69,90 (O-*C*H$_2$); 108,73 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,84 (C$_5$ aromat.); 125,00 (C$_4$ aromat.); 129,60 (C$_6$ aromat.); 134,39 (C$_3$ aromat.); 141,47 (C$_2$ aromat.); 147,15 (*C*H=C); 150,10 (C$_1$ aromat.); 152,30 (C=O [Carbonat]); 162,30 (C=O [Amid])

EI-MS: [M+] ber.: 405
[M+] gef.: 405

Ber. [%]:	C	56,29	H	5,72	N	10,36
Gef. [%]:	C	56,13	H	5,72	N	10,36

$C_{19}H_{23}N_3O_7$ [405,41]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(2-methylpropyl)-ester **2-12**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 750 mg (10 mmol) Isobutanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt mittels säulenchromatographischer Gradientenelution an Kieselgel (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 142 mg, gelbe, nadelförmige Kristalle

Smp.: 97,8°C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1777 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} + 1627 cm^{-1} (C=O [Amid])

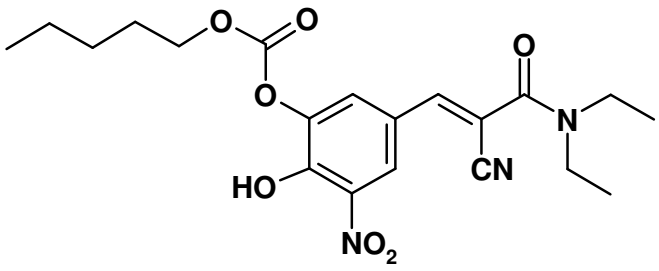
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,02 (s, 3H, CH_3); 1,03 (s, 3H, CH_3); 1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 2,10 (m, 1H, C*H*); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,11 (d, *J* = 6,78 Hz, 2H, O-CH_2); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,25 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,26 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,51 + 13,67 (N-CH_2-*C*H_3); 14,97 (CH(*C*H_3)$_2$); 27,82 (*C*H); 40,91 + 43,93 (N-CH_2-CH_3); 75,87 (O-CH_2); 108,81 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,87 (C_5 aromat.); 124,94 (C_4 aromat.); 129,61 (C_6 aromat.); 134,42 (C_3 aromat.); 141,55 (C_2 aromat.); 147,55 (*C*H=C); 150,23 (C_1 aromat.); 152,34 (C=O [Carbonat]); 162,28 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 8,14 min (99%, Methode 1)

$C_{19}H_{23}N_3O_7$ [405,41]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-pentylester **2-13**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 15 ml n-Pentanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan 1:2.

Ausbeute: 63 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 59,7°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1771 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1631 cm^{-1} + 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

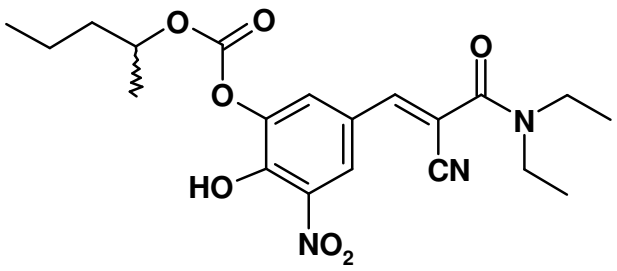
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,95 (m, *J* = 7,38 Hz, 3H, C*H*$_3$); 0,98 + 1,01 (d, *J* = 6,62 Hz, 1,5H, CH_2); 1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,38-1,45 (m, 2H, C*H*$_2$); 1,64-1,70 + 1,74-1,89 (m, 2,5H, C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,32 + 4,13 (t, *J* = 6,61 Hz, 1H, O-C*H*$_2$); 4,35 + 4,21 (t, *J* = 6,86 Hz, 1H, O-C*H*$_2$); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,52 + 13,59 (N-CH_2-*C*H_3); 13,92 (*C*H_3); 22,40 (*C*H_2); 28,18 (*C*H_2); 37,11 (*C*H_2); 40,91 + 43,41 (N-*C*H_2-CH_3); 70,18 (O-CH_2); 108,78 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,86 (C_5 aromat.); 124,95 (C_4 aromat.); 129,60 (C_6 aromat.); 134,42 (C_3 aromat.); 141,52 (C_2 aromat.); 147,11 (*C*H=C); 150,23 (C_1 aromat.); 152,28 (C=O [Carbonat]); 162,28 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,63 min (97%, Methode 3)

$C_{20}H_{25}N_3O_7$ [419,44]

(E)-(*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-methylbutylester **2-14**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,5 ml (*R*/*S*)-2-Pentanol nach **AAV 6**, säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit einem Gradienten (Ethylacetat/ n-Hexan 1:2 → 2:1).

Ausbeute: 20 mg, gelbe Kristalle

Smp.: 80,0°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1774 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,97 (t, *J* = 6,94 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,29 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,39 (d, *J* = 6,30 Hz, 3H, O-CH-C*H*$_3$); 1,41-1,52 (m, 2H, C*H*$_2$); 1,56-1,63 (m, 1H, C*H*$_2$); 1,73-1,80 (m, 1H, C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,91 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,52 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 1,89 Hz, 1H, aromat.); 10,96 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
11,96 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 13,84 (CH$_2$-*C*H$_3$); 18,49 (CH-*C*H$_3$); 19,76 (*C*H$_2$-CH$_3$); 37,83 (CH-*C*H$_2$); 43,48 (N-*C*H$_2$); 78,00 (O-*C*H); 108,73 (*C*-CN); 115,33 (C-*C*N); 123,84 (C$_5$ aromat.); 124,83 (C$_4$ aromat.); 129,64 (C$_6$ aromat.); 134,40 (C$_3$ aromat.); 141,63 (C$_2$ aromat.); 147,15 (*C*H=C); 150,28 (C$_1$ aromat.); 151,87 (C=O [Carbonat]); 162,31 (C=O [Amid])

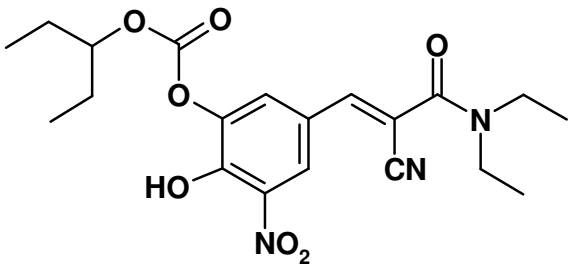
HPLC: R_t: 21,13 min (95%, Methode 2)

EI-MS: [M+] ber.: 419
[M+] gef.: 419

Ber. [%]:	C	57,27	H	6,01	N	10,02
Gef. [%]:	C	57,20	H	6,16	N	9,98

$C_{20}H_{25}N_3O_7$ [419,44]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ethylpropylester **2-15**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,5 ml 3-Pentanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan 1,5:1.

Ausbeute: 59 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 101,9°C

IR: 2206 cm^{-1}(C≡N); 1767 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1635 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,01 (t, *J* = 7,53 Hz, 6H, C*H*$_3$); 1,26 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,74 (dt, *J* = 6,27/7,53 Hz, 4H, CH-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,73 (m, *J* = 6,27 Hz, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,26 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,26 Hz, 1H, aromat.); 10,96 (s, 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
9,41 (CH_3); 12,26 + 13,88 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 26,39 (CH_2); 40,09 + 43,34 (N-*C*H$_2$); 84,06 (O-*C*H); 108,77 (*C*-CN); 115,31 (C-*C*N); 123,86 (C_5 aromat.); 124,75 (C_4 aromat.); 129,66 (C_6 aromat.); 134,40 (C_3 aromat.); 141,70 (C_2 aromat.); 147,11 (*C*H=C); 150,29 (C_1 aromat.); 152,25 (C=O [Carbonat]); 162,29 (C=O [Amid])

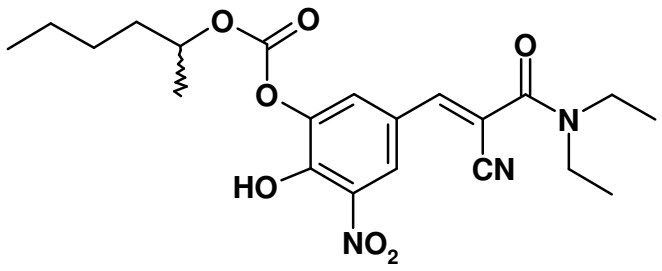
HPLC: R_t: 15,29 min (94%, Methode 3)

EI-MS: [M+] ber.: 419
[M+] gef.: 419

Ber. [%]:	C	57,27	H	6,01	N	10,02
Gef. [%]:	C	57,09	H	6,20	N	9,74

$C_{20}H_{25}N_3O_7$ [419,44]

(E)-(*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-methylpentylester **2-16**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,5 ml (*R*/*S*)-2-Hexanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Ethylacetat/n-Hexan 1:2 → 1:1).

Ausbeute: 84 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 69,9°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1771 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1644 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,93 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, C*H*$_3$-CH$_2$); 1,27 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,34-1,45 (m, 4H, C*H*$_2$); 1,40 (d, *J* = 6,35 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 1,58-1,67 (m, 1H, C*H*$_2$); 1,73-1,82 (m, 1H, C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,90 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,7H, O*H*)

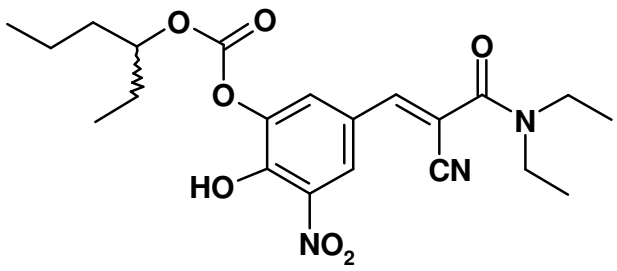
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,50 + 13,63 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 13,96 (CH$_2$-*C*H$_3$); 19,74 (CH-*C*H$_3$); 22,46 (*C*H$_2$-CH$_3$); 27,31 (*C*H$_2$); 35,41 (CH-*C*H$_2$); 40,92 + 43,43 (N-*C*H$_2$); 78,25 (O-*C*H); 108,67 (*C*-CN); 115,34 (C-*C*N); 123,80 (C$_5$ aromat.); 124,87 (C$_4$ aromat.); 129,60 (C$_6$ aromat.); 134,39 (C$_3$ aromat.); 141,64 (C$_2$ aromat.); 147,17 (*C*H=C); 150,31 (C$_1$ aromat.); 151,87 (C=O [Carbonat]); 162,31 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 16,85 min (96%, Methode 3)

Ber. [%]:	C	58,19	H	6,28	N	9,69
Gef. [%]:	C	57,99	H	6,20	N	9,60

$C_{21}H_{27}N_3O_7$ [433,47]

(E)-(*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ethylbutylester **2-17**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 659 mg (6,5 mmol) (*R*/*S*)-3-Hexanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 197 mg, gelbes Pulver

Smp.: 70,5°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1778 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1641 cm^{-1} + 1627 cm^{-1} (C=O [Amid])

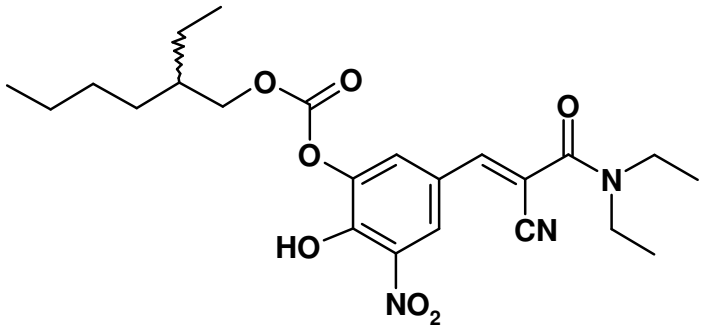
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,97 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,01 (t, *J* = 7,38 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,28 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,38-1,54 (m, 2H, C*H*$_2$); 1,59-1,67 (m, 1H, CH-C*H*$_2$); 1,69-1,77 (m, 2+1H, CH$_2$ + CH-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,80 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
9,44 + 13,92 (*C*H$_3$); 12,91 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 18,85 + 26,94 + 35,59 (*C*H$_2$); 41,40 + 43,18 (N-*C*H$_2$); 82,73 (O-*C*H); 108,73 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,84 (C$_5$ aromat.); 124,79 (C$_4$ aromat.); 129,67 (C$_6$ aromat.); 134,38 (C$_3$ aromat.); 141,67 (C$_2$ aromat.); 147,14 (*C*H=C); 150,30 (C$_1$ aromat.); 150,30 (C=O [Carbonat]); 162,30 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 20,53 min (98%, Methode 2)

$C_{21}H_{27}N_3O_7$ [433,47]

(E)-(2*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-2-ethylhexylester **2-18**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**, doppelter Ansatz) und 3,0 ml (*R*/*S*)-2-Ethylhexanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan und Umkristallisieren aus Dichlormethan/Diethylether/ n-Hexan.

Ausbeute: 555 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 69,1°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1775 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} + 1626 (C=O [Amid])

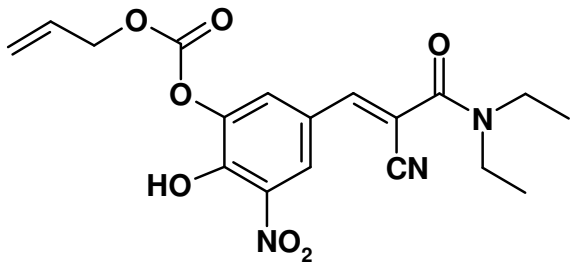
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,92 (t, *J* = 7,03 Hz, 3H, C*H*$_3$); 0,95 (t, *J* = 7,28 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,29 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,45-1,29 (m, 8H, C*H*$_2$); 1,72 (m, *J* = 6,27 Hz, 1H, O-C*H*); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,24 (d, *J* = 6,03 Hz, 1H, O-C*H*$_2$); 4,25 (d, *J* = 5,78 Hz, 1H, O-C*H*$_2$); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,26 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,00 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
10,94 (*C*H$_3$); 12,50 + 13,653 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 14,04 (*C*H$_3$); 22,93 (*C*H$_2$-CH$_3$); 23,50 (*C*H$_2$); 28,87 (CH-*C*H$_2$); 30,01 (CH-*C*H$_2$); 38,86 (*C*H); 40,90 + 43,47 (N-*C*H$_2$); 72,47 (O-CH$_2$); 108,77 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,87 (C$_5$ aromat.); 125,01 (C$_4$ aromat.); 129,58 (C$_6$ aromat.); 134,41 (C$_3$ aromat.); 141,56 (C$_2$ aromat.); 147,14 (*C*H=C); 150,25 (C$_1$ aromat.); 152,41 (C=O [Carbonat]); 162,28 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 19,26 + 19,46 min (99%, Methode 4)

$C_{23}H_{31}N_3O_7$ [461,52]

(E)-Kohlensäure-allyl-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **2-19**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 15 ml Allylalkohol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan.

Ausbeute: 122 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 74,6°C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1765 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1636 cm^{-1} + 1617 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,80 (d, *J* = 5,67 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 5,38 (dd, *J* = 1,26/10,09 Hz, 1H, C*H*$_2$=CH); 5,47 (dd, *J* = 1,26/17,02 Hz, 1H, C*H*$_2$=CH); 5,97-6,05 (m, 1H, CH_2=C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,53 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 1,89 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,7 (N-CH_2-*C*H$_3$); 43,89 (N-*C*H$_2$); 70,18 (O-*C*H$_2$); 108,88 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 120,09 (CH=*C*H$_2$); 123,88 (C_5 aromat.); 125,00 (C_4 aromat.); 129,59 (C_6 aromat.); 130,52 (*C*H=CH$_2$); 134,43 (C_3 aromat.); 141,44 (C_2 aromat.); 147,04 (*C*H=C); 150,16 (C_1 aromat.); 152,04 (C=O [Carbonat]); 162,25 (C=O [Amid])

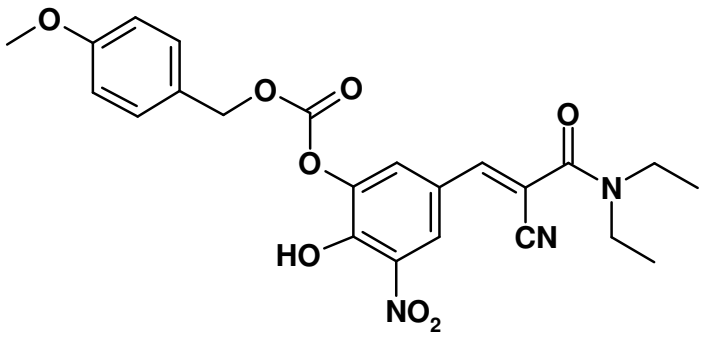
HPLC: R_t: 18,31 min (95%, Methode 2)

EI-MS: [M+] ber.: 389
[M+] gef.: 389

Ber. [%]:	C	55,53	H	4,92	N	10,79
Gef. [%]:	C	55,42	H	5,00	N	10,70

$C_{18}H_{19}N_3O_7$ [389,37]

(E)-Kohlensäure--[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-4-methoxybenzylester **2-20**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 729 mg (5,5 mmol) 4-Methoxybenzylalkohol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 263 mg, gelbe Kristalle

Smp.: 128,5 °C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1773 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1645 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,83 (s, 3H, O-CH_3); 5,26 (s, 2H, O-CH_2); 6,93 (d, *J* = 8,90 Hz, 2H, aromat.); 7,39 (d, *J* = 8,69 Hz, 2H, aromat.); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s (br), 0,8H, O*H*)

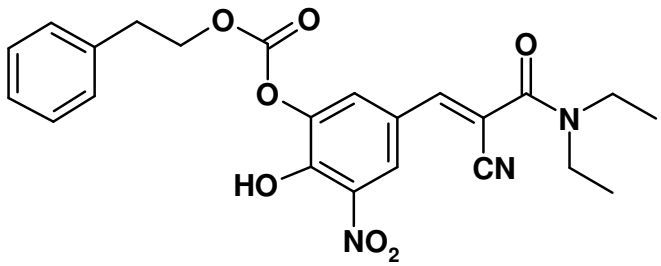
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,54 (N-CH_2-*C*H_3); 46,23 (N-*C*H_2); 55,34 (O-*C*H_3); 71,43 (O-*C*H_2); 108,87 (*C*-CN); 114,17 (phenyl-*C*H); 115,29 (C-*C*N); 123,86 (C_5 aromat.); 124,87 (C_4 aromat.); 126,16 (phenyl-*C*-CH_2); 129,66 (C_6 aromat.); 130,62 (phenyl-*C*H); 134,44 (C_3 aromat.); 141,52 (C_2 aromat.); 147,06 (*C*H=C); 150,17 (C_1 aromat.); 152,24 (C=O [Carbonat]); 160,29 (Phenyl-*C*-OCH_3); 162,25 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 14,44 min (97%, Methode 3)

Ber. [%]:	C	58,85	H	4,94	N	8,95
Gef. [%]:	C	58,84	H	5,06	N	9,10

$C_{23}H_{23}N_3O_7$ [469,46]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-2'-phenylethylester **2-21**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 5 ml 2-Phenylethanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/n-Hexan 10:1.

Ausbeute: 65 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 106,4°C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1766 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1644 cm^{-1} (C=O [Amid])

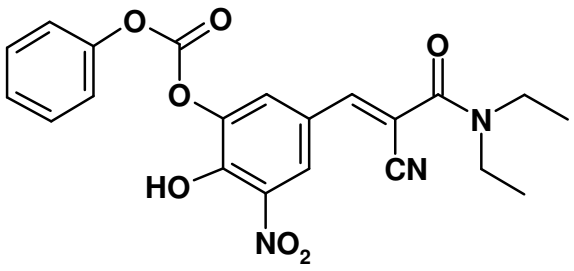
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,09 (t, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,51 (t, *J* = 6,87 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 7,25-7,28 (m, 3H, aromat.); 7,32–7,36 (m, 2H, aromat.); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,12 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat.); 10,92 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,55 + 13,67 (N-CH_2-*C*H$_3$); 34,93 (*C*H$_2$-CH_2-O); 40,90 + 43,29 (N-*C*H$_2$); 70,11 (CH_2-*C*H$_2$-O); 108,85 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,84 (C_5 aromat.); 124,88 (C_4 aromat.); 126,92 128,67 + 128,95 (phenyl-*C*H); 129,53 (C_6 aromat.); 134,40 (C_3 aromat.); 136,64 (phenyl-*C*); 141,45 (C_2 aromat.); 147,04 (*C*H=C); 150,12 (C_1 aromat.); 152,03 (C=O [Carbonat]); 162,24 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,04 min (96%, Methode 3)

$C_{23}H_{23}N_3O_7$ [453,46]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-phenylester **2-22**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 286 mg (3 mmol) Phenol mit Triethylaminkatalyse nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/ n-Hexan.

Ausbeute: 67 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 105,5°C

IR: 2204 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,51 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 7,30-7,32 (m, 3H, aromat.); 7,42–7,46 (m, 2H, aromat.); 7,61 (s, 1H, C*H*=C); 8,26 (d, *J* = 2,53 Hz, 1H, aromat.); 8,51 (d, *J* = 2,52 Hz, 1H, aromat.); 11,04 (s (br), 0,8H, O*H*)

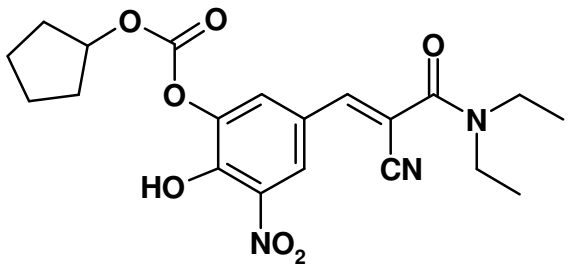
^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,57 (N-CH_2-*C*H$_3$); 43,37 (N-*C*H$_2$); 109,01 (*C*-CN); 115,31 (C-*C*N); 120,71 (phenyl-*C*H); 123,97 (C_5 aromat.); 125,26 (C_4 aromat.); 126,71 (phenyl-*C*H); 129,43 (C_6 aromat.); 129,73 (phenyl-*C*H); 134,49 (C_3 aromat.); 141,30 (C_2 aromat.); 146,96 (*C*H=C); 150,03 (C_1 aromat.); 150,66 (O-*C*); 155,64 (C=O [Carbonat]); 162,20 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 14,23 min (96%, Methode 2)

Ber. [%]:	C	59,29	H	4,50	N	9,88
Gef. [%]:	C	59,03	H	4,69	N	9,90

$C_{21}H_{19}N_3O_7$ [425,40]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-cyclopentylester **2-23**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 895 mg (10 mmol) Cyclopentanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 40 mg, gelbe Kristalle

Smp.: 103,8°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

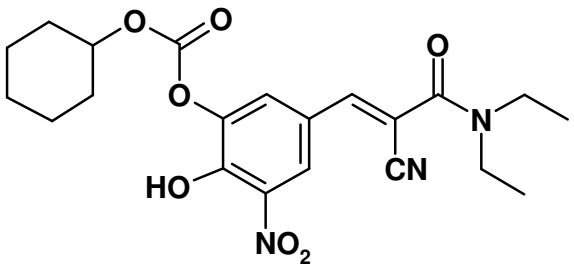
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,63-1,71 (m, 2H, CH_2); 1,79-1,87 (m, 2H, CH_2); 1,92-1,99 (m, 4H, CH-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 5,24 (m, *J* = 4,33 Hz, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,98 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,56 (N-CH_2-*C*H_3); 23,60 (*C*H_2); 32,63 (CH-*C*H_2); 40,97 (N-*C*H_2); 83,61 (O-CH); 108,80 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,88 (C_5 aromat.); 125,59 (C_4 aromat.); 129,72 (C_6 aromat.); 134,43 (C_3 aromat.); 141,63 (C_2 aromat.); 146,25 (*C*H=C); 150,25 (C_1 aromat.); 151,87 (C=O [Carbonat]); 162,31 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 14,13 min (99%, Methode 4)

$C_{22}H_{23}N_3O_7$ [417,42]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-cyclohexylester **2-24**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 969 mg (10 mmol) Cyclohexanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 433 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 131,7°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1774 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1640 cm^{-1} (C=O [Amid])

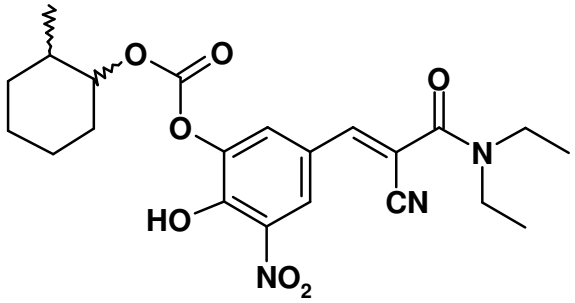
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,36-1,46 (m, 2H, CH_2); 1,55-1,66 (m, 4H, CH_2); 1,79-1,84 (m, 2H, CH-CH_2); 2,00-2,04 (m, 2H, CH-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,77 (m, *J* = 4,07 Hz, 1H, O-C*H*); 7,69 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,48 + 13,63 (N-CH_2-*C*H_3); 23,60 + 25,08 + 32,63 (*C*H_2); 40,90 + 43,42 (N-*C*H_2); 79,24 (O-CH); 108,69 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,82 (C_5 aromat.); 124,78 (C_4 aromat.); 129,60 (C_6 aromat.); 134,37 (C_3 aromat.); 141,59 (C_2 aromat.); 147,12 (*C*H=C); 150,24 (C_1 aromat.); 151,55 (C=O [Carbonat]); 162,27 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,48 min (97%, Methode 4)

$C_{21}H_{25}N_3O_7$ [431,45]

(E)-(cis/trans)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(2-methylcyclohexyl)ester **2-25**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 582 mg (5 mmol) (cis/trans)-2-Methylcyclohexanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan und Umkristallisieren aus Dichlormethan/Diethylether/ n-Hexan.

Ausbeute: 395 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 140,9°C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1645 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

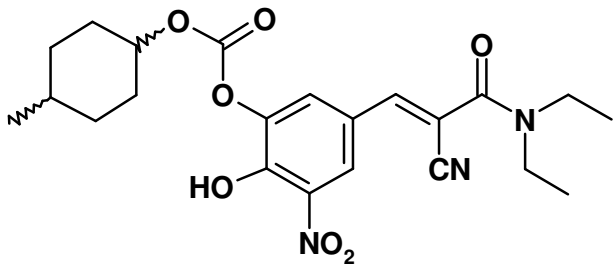
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,05 (d, *J* = 6,61 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 1,07-1,16 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,27 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,43-1,53 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,64-1,74 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,80-1,84 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 2,14 (m, 1H, C*H*-CH$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,40 + 4,93 (dt + s, *J* = 4,32/10,43 Hz, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,49 + 13,82 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 18,28 (*C*H$_3$); 24,60 + 25,04 + 31,37 + 33,37 (*C*H$_2$); 37,30 (*C*-CH$_3$); 40,89 + 43,42 (N-*C*H$_2$); 85,29 (O-*C*); 108,72 (*C*-CN); 115,33 (C-*C*N); 123,84 (C$_5$ aromat.); 124,71 (C$_4$ aromat.); 129,70 (C$_6$ aromat.); 134,39 (C$_3$ aromat.); 141,68 (C$_2$ aromat.); 147,14 (*C*H=C); 150,30 (C$_1$ aromat.); 152,02 (C=O [Carbonat]); 162,32 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 16,94 min (99%, Methode 4)

$C_{22}H_{27}N_3O_7$ [445,48]

(E)-(cis/trans)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(4-methylcyclohexyl)-ester **2-26**



Aus (*E*)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,28 g (11 mmol) (cis/trans)-4-Methylcyclohexanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 162 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 124,4 °C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1775 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1645 cm^{-1} + 1630 cm^{-1} (C=O [Amid])

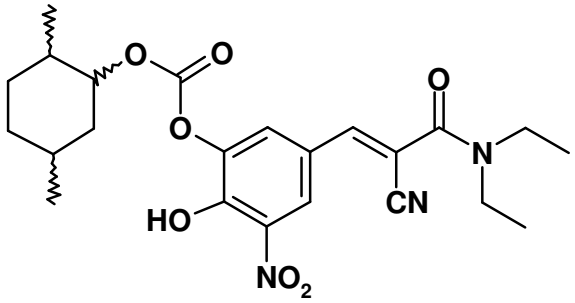
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,92 (d, *J* = 6,61 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 1,01-1,12 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,27 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,38-1,46 (m, 1H, C*H*-CH$_3$); 1,48-1,55 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,79 (s (br), 1H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,82 (s (br), 1H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 2,02-2,17 (m, 2H, cyclo-hexyl-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,63-4,70 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,55 + 13,67 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 21,66 (*C*H$_3$); 31,32 (*C*H$_2$); 31,47 (*C*-CH$_3$); 32,78 (CH-*C*H$_2$); 40,93 + 43,36 (N-*C*H$_2$); 80,04 (O-*C*); 108,69 (*C*-CN); 115,33 (C-*C*N); 123,83 (C$_5$ aromat.); 124,76 (C$_4$ aromat.); 129,55 (C$_6$ aromat.); 134,39 (C$_3$ aromat.); 141,58 (C$_2$ aromat.); 147,20 (*C*H=C); 150,26 (C$_1$ aromat.); 151,61 (C=O [Carbonat]); 162,31 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 17,15 + 17,46 min (98%, Methode 4)

$C_{22}H_{27}N_3O_7$ [445,48]

(E)-(cis/trans)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(2,5-dimethylcyclohexyl)-ester **2-27**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 908 mg (7 mmol) 2,5-Dimethylcyclohexanol (Isomerengemisch) nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 68 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 129,5°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1777 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1645 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$)*: δ (ppm):
0,97 + 0,98 + 1,04 (3m, 6H, CH-C*H*$_3$); 1,08-1,48 (m, 10H, cyclohexyl-C*H*$_2$ + N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,60-2,06 (m, 4H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,40 + 4,72 + 4,82 (3m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, 1H, aromat.); 8,49 (d, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,9H, O*H*)

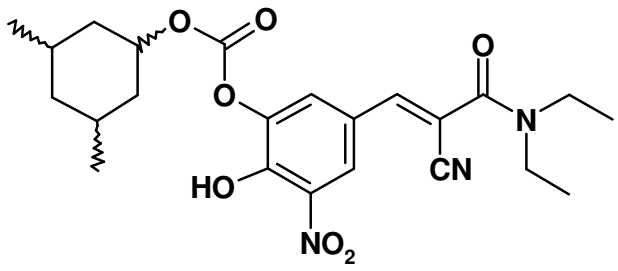
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,46 + 13,52 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 18,12 + 21,98 (*C*H$_3$); 30,94 + 31,61 + 33,07 (*C*H$_2$); 37,03 + 39,93 (*C*-CH$_3$); 40,92 (N-*C*H$_2$); 85,11 (O-*C*); 108,72 (*C*-CN); 115,33 (C-*C*N); 123,84 (C$_5$ aromat.); 124,92 (C$_4$ aromat.); 129,73 (C$_6$ aromat.); 134,39 (C$_3$ aromat.); 141,68 (C$_2$ aromat.); 147,18 (*C*H=C); 150,29 (C$_1$ aromat.); 152,04 (C=O [Carbonat]); 162,31 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 18,06 + 18,42 min (96%, Methode 4)

$C_{23}H_{29}N_3O_7$ [459,50]

* Da es sich bei der Substanz um ein Diastereomerengemisch handelt, zeigen die aliphatischen Protonen des Dimethylcyclohexylrests einen multiplen Signalsatz. Die Zuordnung der Signale zu den einzelnen Strukturen ist daher nicht einwandfrei zu bestimmen.

(E)-(cis/trans)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(3,5-dimethylcyclohexyl)-ester **2-28**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 655 mg (5 mmol) 3,5-Dimethylcyclohexanol (Isomerengemisch) nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 68 mg, gelbe Kristallnadeln

Smp.: 127,1 °C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1773 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

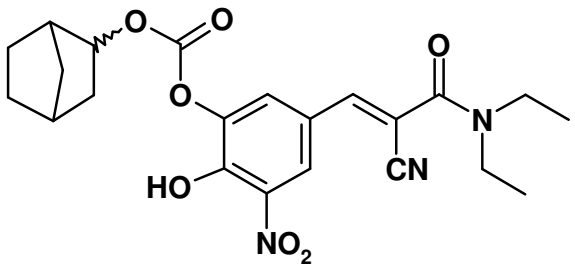
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,93-0,98 (d, *J* = 6,62 Hz, 6H, CH-C*H*$_3$); 1,11 (q, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,28 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,40-1,52 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,60-1,68 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 2,04-2,15 (m, 2H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,68-5,13 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,28 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,82 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 22,03 (*C*H$_3$); 30,57 + 39,51 (*C*H$_2$); 42,71 (*C*-CH$_3$); 43,20 (N-*C*H$_2$); 79,52 (O-*C*); 108,69 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,82 (C$_5$ aromat.); 124,75 (C$_4$ aromat.); 128,12 (C$_6$ aromat.); 134,37 (C$_3$ aromat.); 141,59 (C$_2$ aromat.); 147,21 (*C*H=C); 150,27 (C$_1$ aromat.); 151,61 (C=O [Carbonat]); 162,30 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 18,16 + 18,58 min (98%, Methode 4)

$C_{23}H_{29}N_3O_7$ [459,50]

(E)-Kohlensäure-(bicyclo[2.2.1]hept-2-yl)-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **2-29**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,80 g (16 mmol) Norborneol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch mehrfaches Umkristallisieren aus Dichlormethan/Diethylether/ n-Hexan.

Ausbeute: 297 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 124,0°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1773 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1644 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O [Amid])

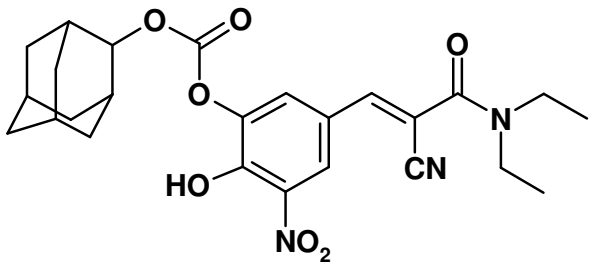
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,14 (m, 2H, CH-C*H*$_2$-CH); 1,27 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,38-1,51 (m, 2H, CH$_2$, Tricyclus); 1,60-1,69 (m, 2H, C*H*$_2$, Tricyclus); 1,80-1,92 und 2,05-2,14 (m, 2H, C*H*$_2$, Tricyclus); 2,29 + 2,37 (2t, *J* = 4,07 Hz bzw. *J* = 3,82 Hz, 1H, C*H*-CH$_3$); 2,51 + 2,64 (2m, *J* = 4,83 Hz, 1H, C*H*-CH$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,01 + 4,49 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,41 + 13,67 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 23,93 + 27,94 + 35,19 (*C*H$_2$); 35,36 (*C*H); 39,20 (*C*H$_2$); 41,41 (*C*H); 40,86 + 43,47 (N-*C*H$_2$); 83,61 (O-*C*H); 108,67 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,81 (C$_5$ aromat.); 124,85 (C$_4$ aromat.); 129,58 (C$_6$ aromat.); 134,35 (C$_3$ aromat.); 141,55 (C$_2$ aromat.); 147,11 (*C*H=C); 150,21 (C$_1$ aromat.); 151,68 (C=O [Carbonat]); 162,26 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,90 min (95%, Methode 4)

$C_{22}H_{25}N_3O_7$ [443,46]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan-2-yl)-ester **2-30**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,9 g (13 mmol) 2-Adamantanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan und Umkristallisieren aus Dichlormethan/Diethylether/n-Hexan.

Ausbeute: 353 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 167,0 °C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1746 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1634 cm^{-1} + 1619 cm^{-1} (C=O)

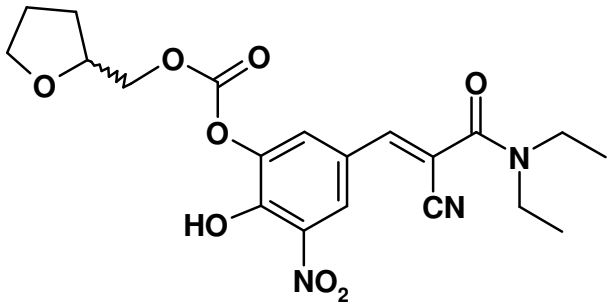
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,63-2,22 (m, 14H, adamantyl); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,94 (s, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,20 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,20 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,35 + 13,66 (N-CH_2-*C*H$_3$); 26,79 + 27,01 + 31,71 (*C*H); 31,51 + 36,23 + 37,20 (CH_2); 40,96 + 43,42 (N-*C*H$_2$); 83,69 (O-*C*); 108,70 (*C*-CN); 115,34 (C-*C*N); 123,85 (C_5 aromat.); 124,82 (C_4 aromat.); 129,65 (C_6 aromat.); 134,37 (C_3 aromat.); 141,70 (C_2 aromat.); 147,20 (*C*H=C); 150,30 (C_1 aromat.); 151,58 (C=O [Carbonat]); 162,32 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 17,52 min (98%, Methode 4)

$C_{25}H_{29}N_3O_7$ [483,53]

(E)-(2*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(tetrahydrofuran-2-yl-methyl)ester **2-31**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 534 mg (5,2 mmol) (*R*/*S*)-2-Tetrahydrofurfurylalkohol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 228 mg, gelbe Kristallnadeln

Smp.: 103,0 °C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1763 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1633 cm^{-1} + 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

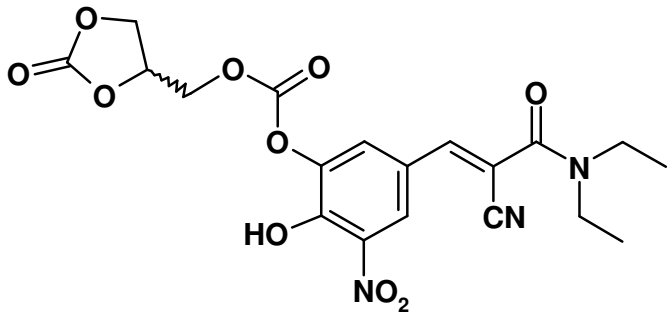
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,29 (s (br), 3H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,69-1,77 (m, 1H, CH-C*H*$_2$); 1,91-2,01 (m, 2H, C*H*$_2$); 2,04-2,12 (m, 1H, CH-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 3,84 (m, 1H, O-C*H*$_2$-CH_2); 3,93 (m, 1H, O-C*H*$_2$-CH_2); 4,22-4,29 (m, 2H, O-C*H*$_2$-CH); 4,32-4,39 (1H, m, C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,96 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,52 + 13,71 (N-CH_2-*C*H_3); 25,70 (*C*H_2); 27,84 (CH_2); 40,93 + 43,38 (N-*C*H_2); 68,62 (O-*C*H_2-CH); 71,29 (O-*C*H_2); 75,96 (O-*C*H); 108,83 (*C*-CN); 115,29 (C-*C*N); 123,85 (C_5 aromat.); 125,01 (C_4 aromat.); 129,60 (C_6 aromat.); 134,46 (C_3 aromat.); 141,43 (C_2 aromat.); 147,02 (*C*H=C); 150,16 (C_1 aromat.); 152,30 (C=O [Carbonat]); 162,27 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 10,69 + 11,10 min (96%, Methode 4)

$C_{20}H_{23}N_3O_8$ [433,42]

(E)-(4*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(2-oxo-1,3-dioxolan-4-yl-methyl)-ester **2-32**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 648 mg (5,5 mmol) (*R*/*S*)-4-Hydroxymethyl-1,3-dioxolan-2-on nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch MPLC. Die Extraktion der produktenthaltenen Fraktionen erfolgt mit Ethylacetat.

Ausbeute: 299 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 127,2°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1789 cm^{-1} (C=O [cycl. Carbonat]); 1771 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1642 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,24 (s (br), 3H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,31 (s (br), 3H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,42-4,50 (m, 2H, Heterocyclus-C*H*$_2$)*; 4,60-4,67 (m, 2H, O-C*H*$_2$)*; 5,01-5,06 (m, 1H, C*H*); 7,60 (s, 1H, C*H*=C); 8,18 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,98 (s (br),0,9 H, O*H*)

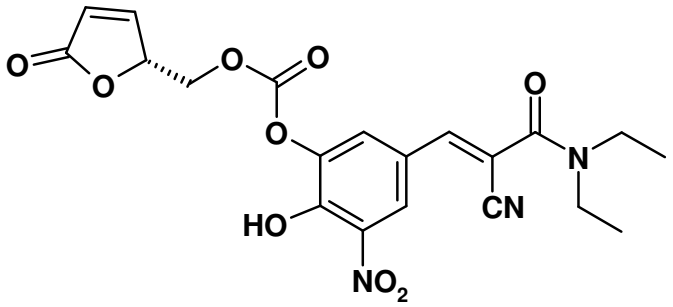
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,60 + 13,60 (N-CH_2-*C*H_3); 40,87 + 43,34 (N-*C*H_2); 65,61 (O-CH_2); 67,45 (O-*C*H_2); 73,03 (O-*C*H); 109,13 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,98 (C_5 aromat.); 125,36 (C_4 aromat.); 129,21 (C_6 aromat.); 134,49 (C_3 aromat.); 141,01 (C_2 aromat.); 146,84 (*C*H=C); 149,78 (C_1 aromat.); 151,65 (C=O [Carbonat]); 153,88 (C=O [cycl. Carbonat]); 162,14 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 8,92 + 9,08 min.(96%, Methode 4)

$C_{19}H_{19}N_3O_{10}$ [449,38]

* Diese Signalzuordnungen sind austauschbar.

(E)-(2*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl-methyl)-ester **2-33**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 341 mg (3 mmol) (S)-5-Hydroxymethylfuranon nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch zweimaliges Umkristallisieren aus Dichlormethan/Diethylether.

Ausbeute: 475 mg, gelbe Kristallnadeln

Smp.: 123,9°C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1739 cm^{-1} (C=O [Lacton]); 1645 cm^{-1} (C=O [Amid])*

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,49 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 3,51 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 4,56 (m, 2H, O-C*H*$_2$); 5,33 (m, 1H, O-C*H*); 6,30 (m, *J* = 2,04 Hz, 1H, CO-C*H*=CH); 7,51 (dd, *J* = 2,04/5,84 Hz, 1H, CO-CH=C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,28 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s (br), 0,9H, O*H*)

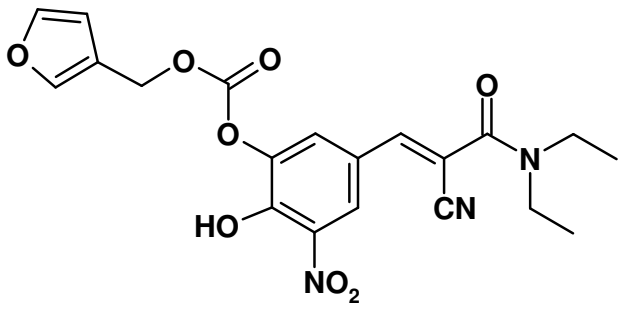
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,52 + 13,78 (N-CH_2-*C*H_3); 40,91 + 43,45 (N-*C*H_2-CH_3); 67,14 (O-*C*H_2); 79,92 (O-*C*H); 109,06 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,93 (C_5 aromat.); 124,08 (CH-*C*H=CH); 125,30 (C_4 aromat.); 129,29 (C_6 aromat.); 134,45 (C_3 aromat.); 141,04 (C_2 aromat.); 146,87 (*C*H=C); 149,87 (C_1 aromat.); 151,39 (CH-CH=*C*H); 151,88 (C=O [Carbonat]); 162,15 (C=O [Amid]); 171,76 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 8,69 min (96%, Methode 4)

$C_{20}H_{19}N_3O_9$ [445,39]

* Die C=O-Valenzschwingung der Carbonatgruppe wird von der breiten Bande der C=O-Valenzschwingung des Lactons verdeckt.

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(furan-3-yl-methyl)-ester **2-34**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,97 g (20 mmol) Furan-3-methanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan und anschließendes Umkristallisieren aus Dichlormethan/ Diethylether.

Ausbeute: 326 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 124,0 °C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1756 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1637 cm^{-1} + 1616 cm^{-1} (C=O [Amid])

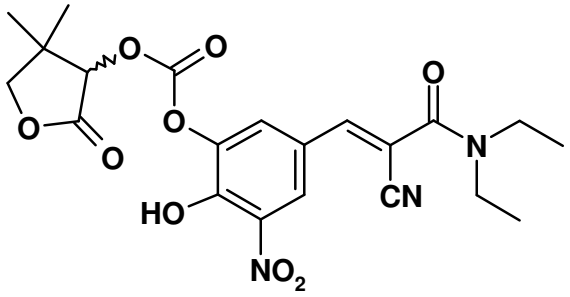
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,21 (s, 2H, O-C*H*$_2$); 6,53 (d, *J* = 1,25 Hz, 1H, O-CH=C*H*); 7,45 (t, *J* = 1,76 Hz, 1H, O-C*H*=C); 7,58 (d, *J* = 0,75 Hz, 1H, O-C*H*=CH); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,26 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,01 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,57 + 13,68 (N-CH_2-*C*H_3); 40,98 + 43,38 (N-*C*H_2); 62,91 (O-*C*H_2); 108,86 (*C*-CN); 110,66 (CH_2-*C*); 115,30 (C-*C*N); 118,94 (C-*C*H); 123,86 (C_5 aromat.); 124,90 (C_4 aromat.); 129,50 (C_6 aromat.); 134,43 (C_3 aromat.); 141,41 (C_2 aromat.); 142,48 (O-*C*H-C); 143,67 (O-*C*H); 147,00 (*C*H=C); 150,12 (C_1 aromat.); 152,21 (C=O [Carbonat]); 162,24 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 12,63 min (95%, Methode 4)

$C_{20}H_{19}N_3O_8$ [429,39]

(E)-(3*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(4,4-dimethyl-2-oxotetrahydrofuran-3-yl)-ester **2-35**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,12 g (9 mmol) (*R*/*S*)-3,3-Dimethyl-2-hydroxybutyrolacton nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/ Diethylether 10:1).

Ausbeute: 324 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 128,2°C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1809 (C=O [Lacton]); 1770 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1631 cm^{-1} + 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

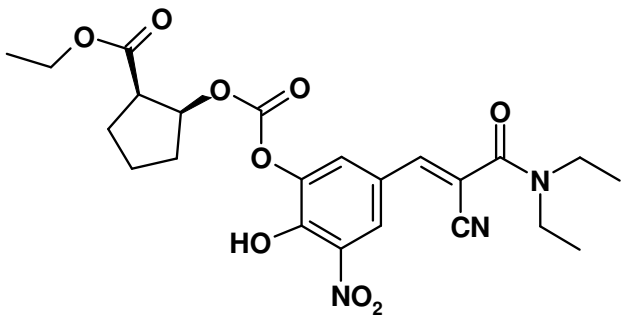
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,25 (s, 3H, C-C*H*$_3$); 1,27 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,33 (s, 3H, C-C*H*$_3$); 3,49 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 3,51 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 4,07 (q, ^2J = 9,16 Hz, 1H, O-C*H*$_2$); 4,12 (q, ^2J = 9,16 Hz, 1H, O-C*H*$_2$); 5,24 (s, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,56 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,99 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,69 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 19,75 + 23,05 (*C*H$_3$); 40,36 (*C*(CH$_3$)$_2$); 43,58 (N-*C*H$_2$); 76,16 (O-*C*H); 79,97 (O-*C*H$_2$); 109,33 (*C*-CN); 115,23 (C-*C*N); 124,02 (C$_5$ aromat.); 124,98 (C$_4$ aromat.); 129,63 (C$_6$ aromat.); 134,57 (C$_3$ aromat.); 141,17 (C$_2$ aromat.); 146,80 (*C*H=C); 149,87 (C$_1$ aromat.); 151,74 (C=O [Carbonat]); 162,18 (C=O [Amid]); 170,69 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 11,73 + 12,07 min (95%, Methode 4)

$C_{21}H_{23}N_3O_9$ [461,43]

(*E*)-(1*R*/2*S*)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyloxy-carbonyloxy]-cyclopentancarbonsäureethylester **2-36**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,04 g (6,6 mmol) (1*R*/2*S*)-2-Hydroxycyclopentancarbonsäureethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1) und Umkristallisieren aus Dichlormethan/ Diethylether/n-Hexan.
Ausbeute: 172 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 76,7°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1759 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1733 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1633 cm^{-1} (C=O [Amid])

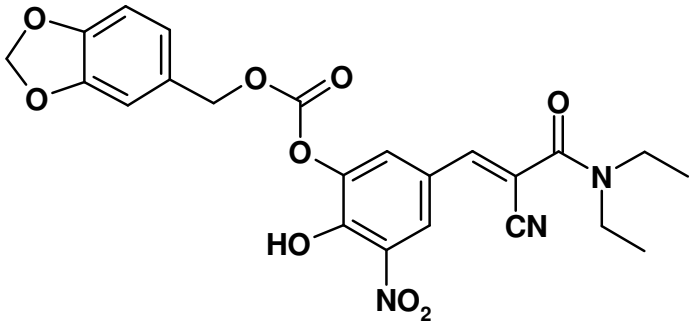
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,29 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, O-CH_2-CH_3); 1,64-1,81 (m, 1H, cyclopentyl-CH_2); 1,94-2,03 (m, 2H, cyclopentyl-CH_2); 2,04-2,08 (m, 2H, cyclopentyl-CH_2); 2,16-2,26 (m, 1H, cyclopentyl-CH_2); 2,95-3,01 (m, 1H, CO-C*H*); 3,50 (s (br), 2H, N-CH_2); 4,14-4,28 (m, 2H, O-CH_2); 5,45 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,11 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,51 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,56 + 13,40 (N-CH_2-*C*H_3); 14,29 (O-CH_2-*C*H_3); 21,85 (*C*H_2); 25,53 (O-CH-*C*H_2); 32,19 (O=C-CH-*C*H_2); 43,56 (N-*C*H_2); 49,01 (O=C-*C*H); 60,88 (O-*C*H_2); 82,69 (O-*C*H); 108,87 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,87 (C_5 aromat.); 124,87 (C_4 aromat.); 129,62 (C_6 aromat.); 134,49 (C_3 aromat.); 141,48 (C_2 aromat.); 146,97 (*C*H=C); 150,17 (C_1 aromat.); 151,57 (C=O [Carbonat]); 162,30 (C=O [Amid]); 171,00 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 13,78 min (96%, Methode 4)

$C_{23}H_{27}N_3O_9$ [489,49]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(1,3-benzodioxol-5-yl-methyl)-ester **2-37**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 976 mg (6,5 mmol) Piperonylalkohol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 260 mg, gelbe Kristallnadeln

Smp.: 142,5°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1765 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

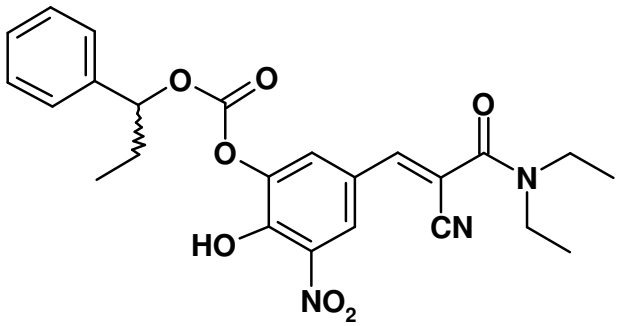
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,22 (s, 2H, O-C*H*$_2$); 6,00 (s, 2H, O-CH_2-O); 6,83 (dd, *J* = 1,27/8,39 Hz, 1H, aromat.); 6,93 (dd, *J* = 1,78/7,78 Hz, 1H, aromat.); 6,94 (s, 1H, aromat.); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,54 + 13,80 (N-CH_2-*C*H$_3$); 40,96 + 43,29 (N-*C*H$_2$); 71,51 (O-*C*H$_2$); 101,35 (O-*C*H$_2$-O); 108,41 (phenyl-*C*H); 108,84 (*C*-CN); 109,44 (phenyl-*C*H); 115,30 (C-*C*N); 123,09 (phenyl-*C*H); 123,86 (C_5 aromat.); 124,85 (C_4 aromat.); 129,67 (C_6 aromat.); 134,42 (C_3 aromat.); 136,40 (phenyl-*C*-CH_2); 141,45 (C_2 aromat.); 147,01 (*C*H=C); 148,00 + 148,34 (phenyl-*C*-O); 150,13 (C_1 aromat.); 152,18 (C=O [Carbonat]); 162,26 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 13,93 + 14,18 min (95%, Methode 4)

$C_{23}H_{21}N_3O_9$ [483,44]

(E)-(*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-phenylpropylester **2-38**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propen amid (**4**) und 1,32 g (10 mmol) (*R*/*S*)-Phenylpropanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 132 mg, gelbe Kristallnadeln

Smp.: 98,2°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1774 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} + 1628 cm^{-1} (C=O)

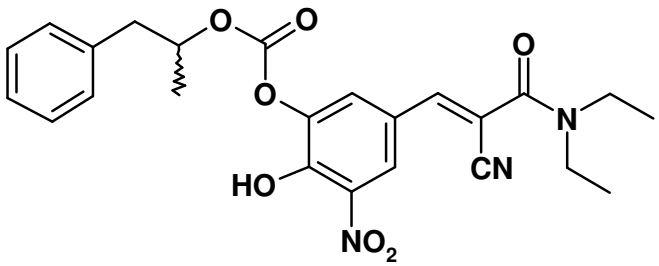
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,99 (t, *J* = 7,63 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,25 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,96 (m, *J* = 6,68/7,38 Hz, 1H, CH-C*H*$_2$); 2,12 (m, *J* = 6,61/7,38 Hz, 1H, CH-C*H*$_2$); 3,49 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,61 (t, *J* = 6,61 Hz, 1H, O-C*H*); 7,33-7,40 (m, 5H, aromat.); 7,56 (s, 1H, C*H*=C); 8,09 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,89 (s, 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
9,80 (CH-*C*H$_3$); 12,52 + 13,75 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 29,29 (CH-*C*H$_2$); 41,43 + 43,39 (N-*C*H$_2$); 83,95 (O-*C*H); 108,80 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,81 (C$_5$ aromat.); 124,73 (C$_4$ aromat.); 126,56 + 128,55 + 128,64 (phenyl-*C*H); 129,71 (C$_6$ aromat.); 134,38 (C$_3$ aromat.); 138,79 (phenyl-*C*); 141,53 (C$_2$ aromat.); 147,05 (*C*H=C); 150,16 (C$_1$ aromat.); 151,80 (C=O [Carbonat]); 162,27 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,46 min (97%, Methode 4)

$C_{24}H_{25}N_3O_7$ [467,48]

(E)-(*R*/*S*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(methyl-2-phenylethyl)-ester **2-39**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 557 mg (4 mmol) (*R*/*S*)-Phenyl-2-propanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 243 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 108,0 °C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1770 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} + 1629 cm^{-1} (C=O)

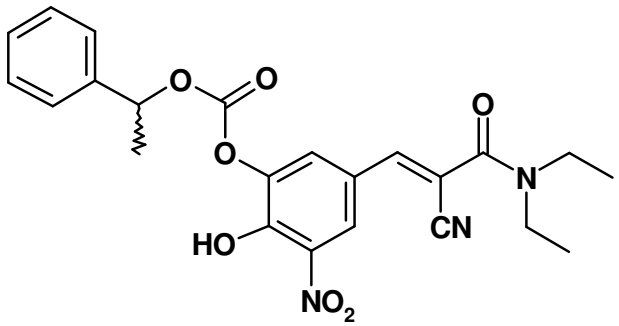
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,40 (d, *J* = 6,36 Hz, 3H, C*H*$_3$); 2,91 (dd, *J* = 6,61/7,12 Hz, 1H, CH-C*H*$_2$); 3,08 (dd, *J* = 6,61/7,12 Hz, 1H, CH-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,10 (m, *J* = 6,35 Hz, 1H, O-C*H*); 7,25 (m, 3H, aromat.); 7,33 (m, 2H, aromat.); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,08 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,89 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,53 + 13,19 (N-CH_2-*C*H_3); 19,24 (*C*H_3); 42,04 (*C*H_2); 42,96 (N-*C*H_2); 78,25 (O-*C*H); 108,80 (*C*-CN); 115,31 (C-*C*N); 123,83 (C_5 aromat.); 124,77 (C_4 aromat.); 126,85 + 128,56 + 129,52 (phenyl-*C*H); 129,64 (C_6 aromat.); 134,39 (C_3 aromat.); 136,57 (phenyl-*C*); 141,54 (C_2 aromat.); 147,12 (*C*H=C); 150,18 (C_1 aromat.); 151,61 (C=O [Carbonat]); 162,29 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,00 min (98%, Methode 4)

$C_{24}H_{25}N_3O_7$ [467,48]

(E)-(R/S)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-phenylethylester **2-40**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,33 g (11 mmol) Natrium-(R/S)-phenylethylalkoholat* nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 121 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 109,6 °C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1642 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O)

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,72 (d, *J* = 6,62 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 3,49 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,85 (q, *J* = 6,61 Hz, 1H, O-C*H*); 7,34-7,45 (m, 5H, aromat.); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,11 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 10,91 (s, 1H, O*H*)

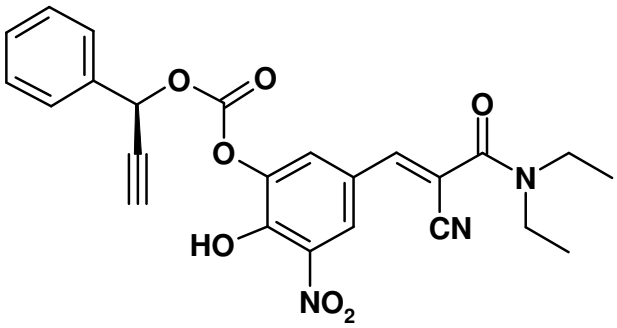
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,79 + 13,72 (N-CH_2-*C*H_3); 22,11 (*C*H_3); 40,94 + 43,41 (N-*C*H_2); 78,88 (O-*C*H); 108,81 (*C*-CN); 115,29 (C-*C*N); 123,82 (C_5 aromat.); 124,80 (C_4 aromat.); 126,12 + 128,60 + 128,73 (phenyl-*C*H); 129,68 (C_6 aromat.); 134,39 (C_3 aromat.); 139,92 (phenyl-*C*); 141,50 (C_2 aromat.); 147,06 (*C*H=C); 150,16 (C_1 aromat.); 151,61 (C=O [Carbonat]); 162,27 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 14,39 min (95%, Methode 4)

$C_{23}H_{23}N_3O_7$ [453,46]

* Das Natriumsalz des Alkohols wurde durch Auflösen von elementarem Natrium in 2-Phenylethanol erhalten (0,1 mol Na pro mol Alkohol)

(E)-(*R*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-(phenylprop-2-inyl)-ester **2-41**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,00 g (7,5 mmol) (*R*)-Phenyl-2-propinol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 109 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 134,0°C

IR: 2211 cm^{-1} (C≡N); 2131 cm^{-1} (C≡C); 1763 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1636 cm^{-1} (C=O)

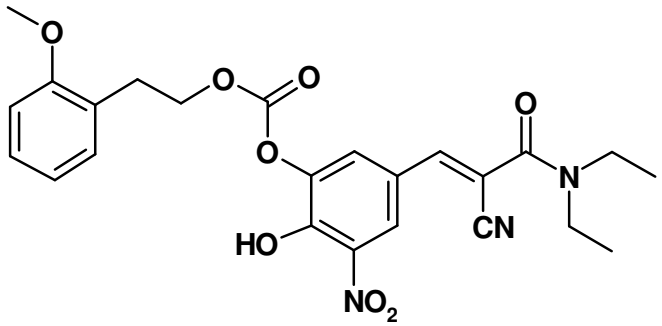
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,83 (s, 1H, C≡C*H*); 3,49 (s (br), 4H, N-CH_2); 6,37 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, O-C*H*); 7,44 (m, 3H, aromat.); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 7,61 (m, 2H, aromat.); 8,13 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,92 (s, 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,58 + 13,70 (N-CH_2-*C*H_3); 41,01 + 43,51 (N-*C*H_2); 71,32 (C≡*C*H); 77,61 (O-*C*H); 78,55 (CH-*C*≡C); 108,95 (*C*-CN); 115,27 (C-*C*N); 123,86 (C_5 aromat.); 124,98 (C_4 aromat.); 127,91 + 128,92 (phenyl-*C*H); 129,62 (C_6 aromat.); 129,82 (phenyl-*C*H); 134,43 (C_3 aromat.); 134,87 (phenyl-*C*); 141,32 (C_2 aromat.); 146,98 (*C*H=C); 150,01 (C_1 aromat.); 151,40 (C=O [Carbonat]); 162,22 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 14,15 min (98%, Methode 4)

$C_{24}H_{21}N_3O_7$ [463,45]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-[2-(2-methoxyphenyl)-ethyl]-ester **2-42**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 316 mg (7,7 mmol) 2-(2-Methoxyphenyl)ethanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1) und anschließende Umkristallisation aus Dichlormethan/Diethylether/ n-Hexan.

Ausbeute: 324 mg, gelbe Kristalle

Smp.: 126,3 °C

IR: 2207 cm^{-1} (C≡N); 1766 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1625 cm^{-1} (C=O)

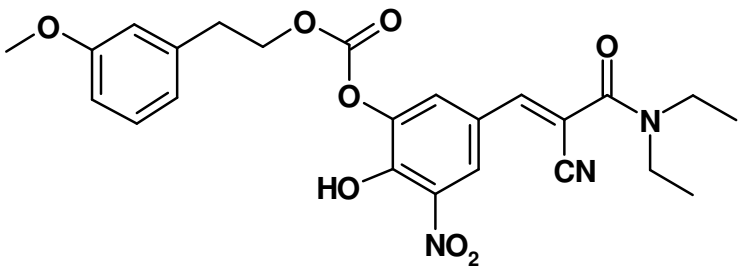
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,10 (t, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,85 (s, 3H, O-CH_3); 4,50 (t, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2); 6,90 (m, 2H, aromat.); 7,18 (m, 1H, aromat.); 7,24 (m, 1H, aromat.); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,11 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 10,92 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
11,79 + 13,74 (N-CH_2-*C*H_3); 30,01 (*C*H_2); 41,07 + 43,40 (N-*C*H_2); 55,28 (*C*H_3); 69,09 (O-*C*H_2); 108,75 (*C*-CN); 110,34 (phenyl-*C*H); 115,31 (C-*C*N); 120,51 (phenyl-*C*H); 123,80 (C_5 aromat.); 124,82 (C_4 aromat.); 128,32 (phenyl-*C*H); 129,22 (phenyl-*C*); 129,62 (C_6 aromat.); 130,91 (phenyl-*C*H); 134,37 (C_3 aromat.); 141,52 (C_2 aromat.); 147,13 (*C*H=C); 150,20 (C_1 aromat.); 152,09 (C=O [Carbonat]); 157,66 (phenyl-*C*-O); 162,28 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 14,54 min (93%, Methode 4)

$C_{24}H_{25}N_3O_8$ [497,51]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-[2-(3-methoxyphenyl)-ethyl]-ester **2-43**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 325 mg (2 mmol) 2-(3-Methoxyphenyl)-ethanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1) und anschließendes Umkristallisieren aus Dichlormethan/Diethylether/ n-Hexan.

Ausbeute: 250 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 78,2°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1775 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1643 cm^{-1} + 1626 cm^{-1} (C=O)

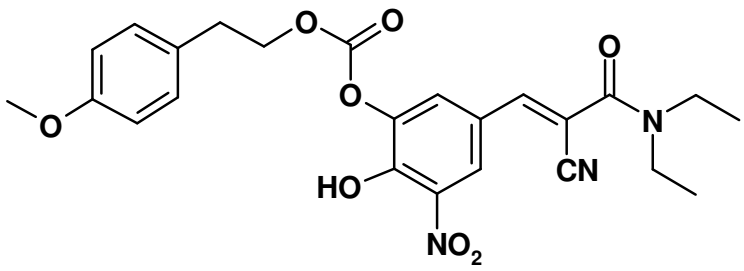
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,20 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,99 (t, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2-CH_2); 3,44 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,84 (s, 3H, O-CH_3); 4,44 (t, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2); 6,72-6,78 (m, 3H, aromat.); 7,17 (m, 1H, aromat.); 7,52 (s, 1H, C*H*=C); 8,05 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 10,85 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
11,21 (N-CH_2-*C*H_3); 34,97 (*C*H_2); 41,64 + 43,31 (N-*C*H_2); 55,22 (*C*H_3); 70,05 (O-*C*H_2); 108,84 (*C*-CN); 112,49 (phenyl-*C*H); 114,92 (phenyl-*C*H); 115,32 (C-*C*N); 121,27 (phenyl-*C*H); 123,84 (C_5 aromat.); 124,91 (C_4 aromat.); 129,55 (phenyl-*C*H); 129,70 (C_6 aromat.); 134,40 (C_3 aromat.); 138,23 (phenyl-*C*); 141,48 (C_2 aromat.); 147,10 (*C*H=C); 150,14 (C_1 aromat.); 152,02 (C=O [Carbonat]); 159,81 (phenyl-*C*-O); 162,27 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 17,32 min (95%, Methode 4)

$C_{24}H_{25}N_3O_8$ [497,51]

(E)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]-ester **2-44**



Aus *(E)*-2-Cyano-N,N-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 615 mg (4 mmol) 2-(4-Methoxyphenyl)ethanol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan und Umkristallisieren aus Dichlormethan/Diethylether/ n-Hexan.

Ausbeute: 288 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 104,6 °C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1767 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1640 cm^{-1} + 1627 cm^{-1} (C=O)

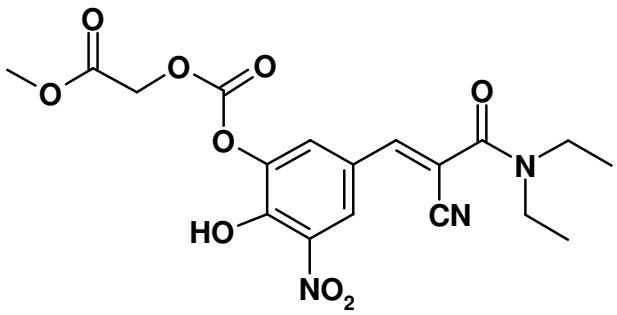
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,02 (t, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,80 (s, 3H, O-CH_3); 4,47 (t, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2); 6,88 (d, *J* = 8,65 Hz, 2H, aromat.); 7,17 (d, *J* = 8,65 Hz, 2H, aromat.); 7,68 (s, 1H, CH=C); 8,12 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,93 (s, 0,9H, OH)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,76 + 13,80 (N-CH_2-*C*H_3); 34,07 (*C*H_2); 41,02 + 43,55 (N-*C*H_2); 55,28 (*C*H_3); 70,39 (O-*C*H_2); 108,84 (*C*-CN); 114,10 (phenyl-CH); 115,31 (C-*C*N); 123,86 (C_5 aromat.); 124,92 (C_4 aromat.);128,62 (phenyl-CH); 129,56 (phenyl-C); 129,97 (C_6 aromat.); 134,39 (C_3 aromat.); 141,46 (C_2 aromat.); 147,07 (*C*H=C); 150,15 (C_1 aromat.); 152,07 (C=O [Carbonat]); 158,59 (phenyl-*C*-O); 162,25 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 13,83 min (96%, Methode 4)

$C_{24}H_{25}N_3O_8$ [497,51]

(E)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyloxy-carbonyloxy]-essigsäuremethylester **2-45**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 293 mg (3 mmol) Hydroxyessigsäuremethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 214 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 99,7°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1786 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1765 cm^{-1} (C=O [Ester])

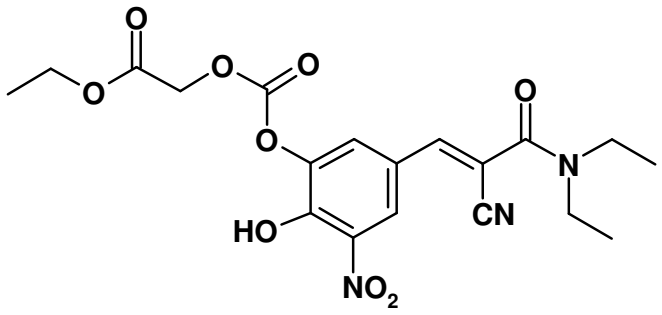
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 3,84 (s, 3H, O-C*H*$_3$); 4,80 (s, 2H, O-C*H*$_2$); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,53 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat.); 10,96 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,53 + 13,61 (N-CH_2-*C*H_3); 40,87 (N-*C*H_2); 52,65 (O-*C*H_2); 64,47 (O-CH_3); 109,17 (*C*-CN); 115,25 (C-*C*N); 123,92 (C_5 aromat.); 125,00 (C_4 aromat.); 129,71 (C_6 aromat.); 134,54 (C_3 aromat.); 141,21 (C_2 aromat.); 146,89 (*C*H=C); 150,01 (C_1 aromat.); 152,03 (C=O [Carbonat]); 162,21 (C=O [Amid]); 166,98 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 9,83 min (95%, Methode 4)

$C_{18}H_{19}N_3O_9$ [421,37]

(E)-2-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-essigsäureethylester **2-46**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 600 mg (5,5 mmol) 2-Hydroxyessigsäureethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan →Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 159 mg, bernsteinfarbene Kristalle

Smp.: 120,1 °C

IR: 2218 cm^{-1} (C≡N); 1780 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1759 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1635 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,33 (t, *J* = 7,37 Hz, 3H, CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,30 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 4,78 (s, 2H, C*H*$_2$-CO); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,54 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,99 (s, 0,9H, O*H*)

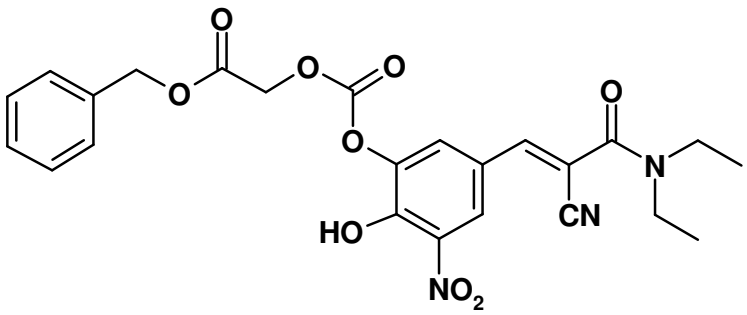
^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,54 (N-CH_2-*C*H_3); 14,85 (O-CH_2-*C*H_3); 43,54 (N-*C*H_2); 62,00 (O-*C*H_2-CH_3); 64,58 (O-*C*H_2); 109,10 (*C*-CN); 115,25 (C-*C*N); 123,90 (C_5 aromat.); 124,99 (C_4 aromat.); 129,76 (C_6 aromat.); 134,51 (C_3 aromat.); 141,19 (C_2 aromat.); 146,93 (*C*H=C); 150,03 (C_1 aromat.); 152,06 (C=O [Carbonat]); 162,22 (C=O [Amid]); 166,54 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 11,35 min (96%, Methode 3)

EI-MS: [M+] ber.: 435
[M+] gef.: 435

$C_{19}H_{21}N_3O_9$ [435,39]

(E)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-essigsäurebenzylester **2-47**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 670 mg (4 mmol) 2-Hydroxyessigsäurebenzylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 260 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 134,1 °C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1785 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1764 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1641 cm^{-1} (C=O [Amid])

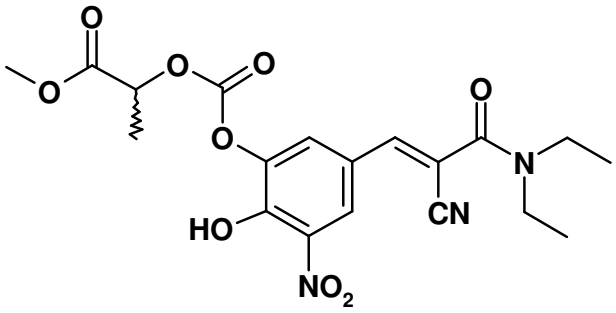
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,30 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,83 (s, 2H, O-CH_2); 5,26 (s, 2H, O-CH_2-C=O); 7,38 (s, 5H, aromat.); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,10 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,55 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,87 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
14,08 (N-CH_2-*C*H_3); 43,39 (N-*C*H_2); 64,54 (O-*C*H_2); 67,64 (O-*C*H_2-C=O); 109,04 (*C*-CN); 115,24 (C-*C*N); 123,84 (C_5 aromat.); 124,82 (C_4 aromat.); 128,79 (5C, phenyl-*C*H); 129,68 (C_6 aromat.); 134,47 (C_3 aromat.); 134,72 (phenyl-*C*); 141,12 (C_2 aromat.); 146,86 (*C*H=C); 149,97 (C_1 aromat.); 151,02 (C=O [Carbonat]); 162,20 (C=O [Amid]); 166,46 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 14,47 min (96%, Methode 4)

$C_{24}H_{23}N_3O_9$ [497,47]

(E)-(*R*/*S*)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-propionsäuremethylester **2-48**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,04 g (10 mmol) (*R*/*S*)-2-Hydroxypropansäuremethylester unter TBD-Katalyse nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 322 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 97,2°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1780 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1753 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1641 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,66 (d, *J* = 7,12 Hz, 3H, CH-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,82 (s, 3H, O-CH_3); 5,17 (q, *J* = 7,12 Hz, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 0,9H, O*H*)

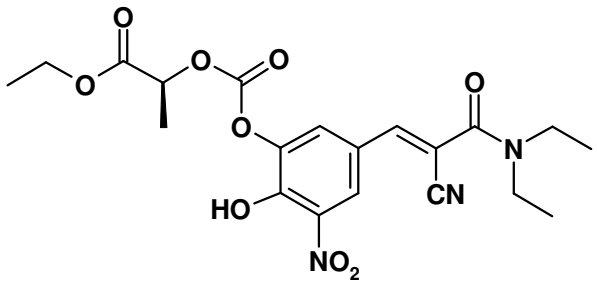
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,12 (N-CH_2-*C*H_3); 16,92 (O-CH-*C*H_3); 43,04 (N-*C*H_2); 52,77 (O-*C*H_3); 73,30 (O-*C*H); 109,03 (*C*-CN); 115,27 (C-*C*N); 123,89 (C_5 aromat.); 124,99 (C_4 aromat.); 129,74 (C_6 aromat.); 134,50 (C_3 aromat.); 141,20 (C_2 aromat.); 146,94 (*C*H=C); 150,06 (C_1 aromat.); 151,69 (C=O [Carbonat]); 162,23 (C=O [Amid]); 169,98 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 11,12 min (93%, Methode 3)

EI-MS: [M+] ber.: 435
[M+] gef.: 435

$C_{19}H_{21}N_3O_9$ [435,39]

(*E*)-(2*S*)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-propionsäureethylester **2-49**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,48 g (13 mmol) (*L*)-2-Hydroxypropansäureethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/ Diethylether 10:1).
Ausbeute: 123 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 106,0 °C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1770 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1753 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1630 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,32 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, O-CH_2-C*H*$_3$); 1,65 (d, *J* = 7,12 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,27 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 5,13 (q, *J* = 7,12 Hz, 1H, O-C*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,53 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,54 + 13,66 (N-CH_2-*C*H$_3$); 14,12 (O-CH_2-*C*H$_3$); 16,90 (O-CH-*C*H$_3$); 41,03 + 43,38 (N-*C*H$_2$); 61,94 (O-*C*H$_2$); 73,39 (O-*C*H); 109,03 (*C*-CN); 115,26 (C-*C*N); 123,89 (C_5 aromat.); 124,93 (C_4 aromat.); 129,78 (C_6 aromat.); 134,50 (C_3 aromat.); 141,23 (C_2 aromat.); 146,93 (*C*H=C); 150,08 (C_1 aromat.); 151,70 (C=O [Carbonat]); 162,24 (C=O [Amid]); 169,51 (C=O [Ester])

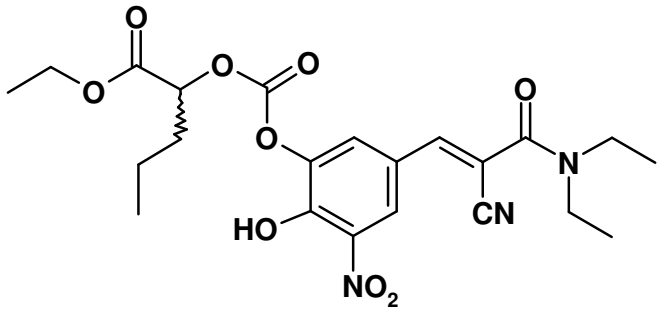
HPLC: R_t: 12,39 min (98%, Methode 3)

EI-MS: [M+] ber.: 449
[M+] gef.: 449

Ber. [%]:	C	53,45	H	5,16	N	9,35
Gef. [%]:	C	53,33	H	5,30	N	9,29

$C_{20}H_{23}N_3O_9$ [449,42]

(E)-(*R*/*S*)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-pentansäureethylester **2-50**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 969 mg (6 mmol) (*R*/*S*)-2-Hydroxypentansäureethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/ Diethylether 10:1).

Ausbeute: 83 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 82,4°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1782 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1743 cm^{-1} (C=O [Ester])

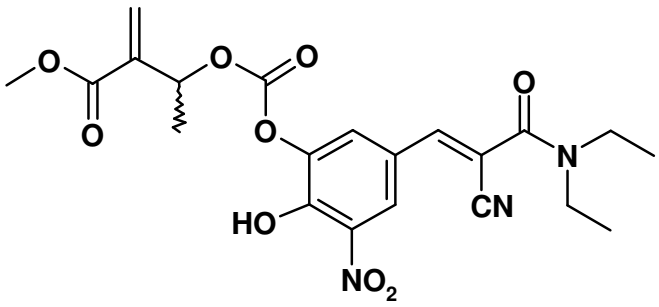
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,00 (t, *J* = 7,38 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,27 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,31 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, O-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,50-1,60 (m, 2H, C*H*$_2$); 1,93-1,98 (m, 2H, C*H*$_2$); 3,49 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 3,51 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 4,27 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 5,04 (t, *J* = 6,36 Hz, 1H, O-C*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,52 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,96 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,80 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 13,57 (*C*H$_3$); 14,16 (*C*H$_2$-CH$_3$); 18,29 (CH-*C*H$_2$); 33,08 (*C*H); 41,07 + 43,30 (N-*C*H$_2$); 61,81 (O-*C*H$_2$); 76,95 (O-*C*H); 109,07 (*C*-CN); 115,27 (C-*C*N); 123,90 (C$_5$ aromat.); 124,87 (C$_4$ aromat.); 129,81 (C$_6$ aromat.); 134,53 (C$_3$ aromat.); 141,32 (C$_2$ aromat.); 146,93 (*C*H=C); 150,11 (C$_1$ aromat.); 151,96 (C=O [Carbonat]); 162,26 (C=O [Amid]); 169,14 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 15,29 + 15,42 min (93%, Methode 4)

$C_{22}H_{27}N_3O_9$ [477,48]

(E)-(*R*/*S*)-3-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-2-methylenbutansäuremethylester **2-51**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 664 mg (5 mmol) (*R*/*S*)-3-Hydroxy-2-methylenbutansäuremethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 80 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 153,6°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1786 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1716 cm^{-1} (C=O [Ester]);

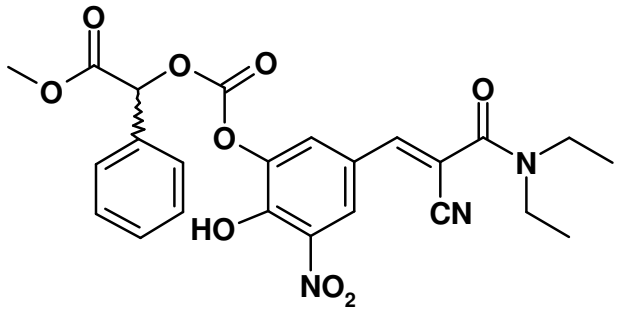
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (t, *J* = 7,12 Hz, 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,57 (d, *J* = 6,36 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 3,50 (q, *J* = 7,12 Hz, 4H, N-C*H*$_2$); 3,81 (s, 3H, O-C*H*$_3$); 5,71 (q, *J* = 6,61 Hz, 1H, O-C*H*); 6,00 (s, 1H, C=C*H*$_2$); 6,40 (s, 1H, C=C*H*$_2$); 7,56 (s, 1H, C*H*=C); 8,12 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,47 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,90 (s, 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
20,13 (CH-*C*H$_3$); 52,19 (O-*C*H$_3$); 74,26 (O-*C*H); 108,86 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,87 (C_5 aromat.); 125,01 (C_4 aromat.); 125,82 (*C*H$_2$=C); 129,57 (C_6 aromat.); 134,41 (C_3 aromat.); 139,73 (CH$_2$=*C*); 141,21 (C_2 aromat.); 147,02 (*C*H=C); 150,12 (C_1 aromat.); 151,31 (C=O [Carbonat]); 162,24 (C=O [Amid]); 170,39 (C=O [Ester]); Signale der amidischen Ethylgruppen nicht detektierbar.

HPLC: R_t: 12,88 min (96%, Methode 4)

$C_{21}H_{23}N_3O_9$ [461,43]

(E)-(*R*/*S*)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-phenylessigsäuremethylester **2-52**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 512 mg (3 mmol) (*R*/*S*)-2-Hydroxy-2-phenylessigsäuremethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 400 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 160,0 °C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1753 cm^{-1} (C=O [Ester])

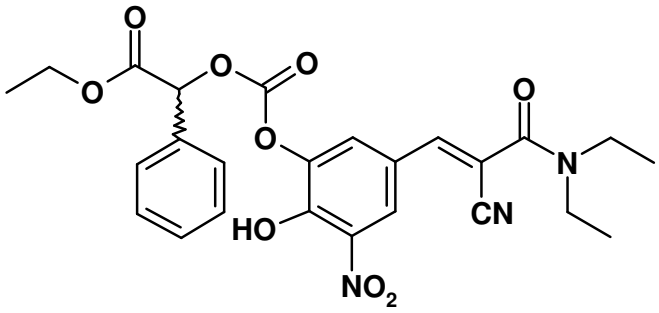
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,79 (s, 3H, O-CH_3); 5,98 (s, 1H, O-C*H*); 7,42-7,45 (m, 3H, aromat.), 7,51-7,54 (m, 2H, aromat.) 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, H, aromat.); 8,54 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,82 (N-CH_2-*C*H_3); 43,44 (N-*C*H_2); 53,01 (O-*C*H_3); 78,56 (O-*C*H); 109,14 (*C*-CN); 115,25 (C-*C*N); 123,91 (C_5 aromat.); 124,91 (C_4 aromat.); 127,72 (phenyl-*C*H); 129,02 (phenyl-*C*H); 129,81 (C_6 aromat.); 129,86 (phenyl-*C*H); 132,40 (phenyl-*C*); 134,53 (C_3 aromat.); 141,22 (C_2 aromat.); 146,90 (*C*H=C); 150,02 (C_1 aromat.); 151,66 (C=O [Carbonat]); 162,23 (C=O [Amid]); 168,20 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 14,17 min (93%, Methode 4)

$C_{24}H_{23}N_3O_9$ [497,47]

(E)-(*R*/*S*)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-phenylessigsäureethylester **2-53**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 720 mg (4 mmol) (*R*/*S*)-2-Hydroxy-2-phenylessigsäureethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1) und Umkristallisieren aus Dichlormethan/ Diethylether/n-Hexan.

Ausbeute: 251 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 110,4°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1774 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1759 cm^{-1} (C=O [Ester]);

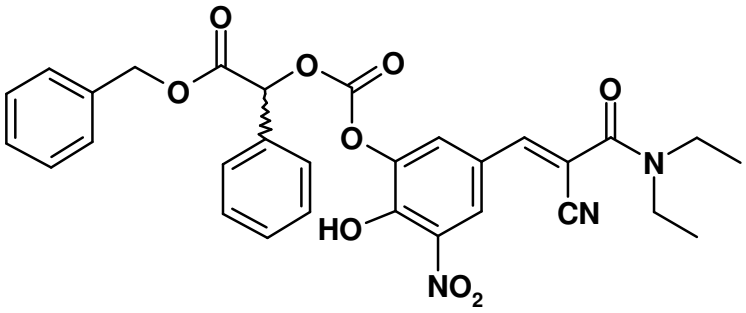
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,25 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, O-CH_2-C*H*$_3$); 1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 4,18-4,33 (m, 2H, O-C*H*$_2$); 5,95 (s, 1H, O-C*H*); 7,41-7,45 (m, 3H, aromat.); 7,52-7,54 (m, 2H, aromat.) 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,54 Hz, 1H, aromat.); 8,55 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,94 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,56 (N-CH_2-*C*H_3); 14,02 (O-CH_2-*C*H_3); 43,32 (N-*C*H_2); 62,24 (O-*C*H_2-CH_3); 78,67 (O-*C*H); 109,14 (*C*-CN); 115,24 (C-*C*N); 123,91 (C_5 aromat.); 124,87 (C_4 aromat.); 127,69 (phenyl-*C*H); 128,96 (phenyl-*C*H); 129,78 (C_6 aromat.); 129,84 (phenyl-*C*H); 132,62 (phenyl-*C*); 134,53 (C_3 aromat.); 141,24 (C_2 aromat.); 146,90 (*C*H=C); 150,04 (C_1 aromat.); 151,67 (C=O [Carbonat]); 162,23 (C=O [Amid]); 167,69 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 15,27 min (94%, Methode 4)

$C_{25}H_{25}N_3O_9$ [511,49]

(E)-(*R*/*S*)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxycarbonyloxy]-phenylessigsäurebenzylester **2-54**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,03 g (4,5 mmol) (*R*/*S*)-2-Hydroxy-2-phenylessigsäurebenzylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 307 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 160,1 °C

IR: 2204 cm^{-1} (C≡N); 1774 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1755 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1645 cm^{-1} + 1630 cm^{-1} (C=O [Amid])

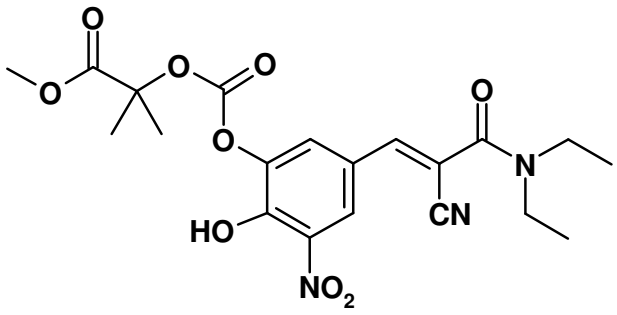
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,49 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 3,51 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 5,22 (s, 2H, O-C*H*$_2$); 6,01 (s, 1H, O-C*H*); 7,22-7,24 (m, 2H, aromat.); 7,29-7,32 (m, 3H, aromat.); 7,41-7,43 (m, 3H, aromat.); 7,50-7,52 (m, 2H, aromat.) 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,06 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,55 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,83 (s, 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,69 (N-CH_2-*C*H$_3$); 42,68 (N-*C*H$_2$); 67,68 (O-*C*H$_2$); 78,57 (O-*C*H); 109,02 (*C*-CN); 115,23 (C-*C*N); 123,81 (C_5 aromat.); 124,84 (C_4 aromat.); 127,72 + 128,12 + 128,51 + 128,56 + 128,98 (9C, phenyl-*C*H); 129,84 (C_6 aromat.); 129,85 (phenyl-*C*H); 132,31 (phenyl-*C*); 134,45 (C_3 aromat.); 134,85 (phenyl-*C*); 141,12 (C_2 aromat.); 146,98 (*C*H=C); 149,99 (C_1 aromat.); 151,62 (C=O [Carbonat]); 162,20 (C=O [Amid]); 167,60 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 17,34 min (97%, Methode 4)

$C_{30}H_{27}N_3O_9$ [573,56]

(E)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-2-methylpropionsäuremethylester **2-55**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 700 mg (6 mmol) 2-Hydroxy-2-methylpropansäuremethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch zweimalige Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 85 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 125,5°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1782 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1751 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1641 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,29 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,72 (s, 6H, C-CH_3); 3,51 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,80 (s, 3H, O-CH_3); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (s, 1H, aromat.); 8,50 (s, 1H, aromat.); 10,97 (s, 1H, O*H*)

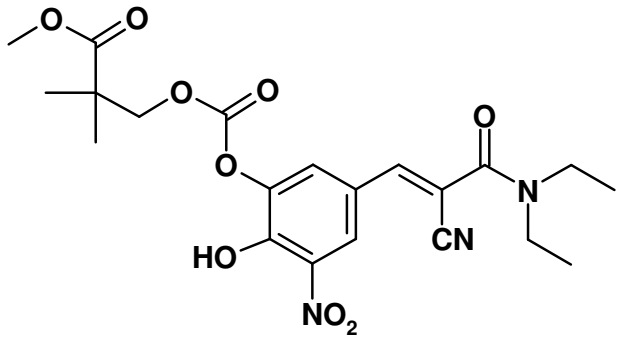
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,70 (N-CH_2-*C*H_3); 24,42 (O-C(*C*H_3)$_2$); 43,47 (N-*C*H_2); 52,84 (O-*C*H_3); 82,55 (O-*C*); 108,99 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,89 (C_5 aromat.); 124,89 (C_4 aromat.); 129,78 (C_6 aromat.); 134,48 (C_3 aromat.); 141,26 (C_2 aromat.); 146,94 (*C*H=C); 150,10 (C_1 aromat.); 150,73 (C=O [Carbonat]); 162,26 (C=O [Amid]); 171,83 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 12,40 min (95%, Methode 3)

Ber. [%]:	C	53,45	H	5,16	N	9,35
Gef. [%]:	C	53,39	H	5,22	N	9,65

$C_{20}H_{23}N_3O_9$ [449,42]

(E)-3-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-2,2-dimethylpropionsäuremethylester **2-56**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 242 mg (2 mmol) 3-Hydroxy-2,2-dimethylpropancarbonsäuremethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 405 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 111,4 °C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1760 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1745 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1632 cm^{-1} (C=O [Amid])

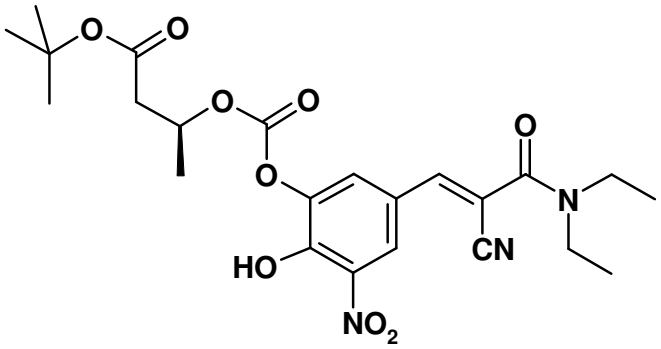
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,31 (s, 6H, C(CH_3)$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,75 (s, 3H, O-CH_3); 4,36 (s, 2H, O-CH_2); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,96 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,59 + 13,72 (N-CH_2-*C*H_3); 22,17 (*C*H_3); 41,03 + 43,40 (N-*C*H_2); 42,83 (CH_2-*C*H); 52,32 (O-*C*H_3); 74,82 (O-CH_2); 108,92 (*C*-CN); 115,29 (C-*C*N); 123,90 (C_5 aromat.); 124,88 (C_4 aromat.); 129,49 (C_6 aromat.); 134,48 (C_3 aromat.); 141,42 (C_2 aromat.); 146,94 (*C*H=C); 150,14 (C_1 aromat.); 152,07 (C=O [Carbonat]); 162,27 (C=O [Amid]); 175,42 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 12,76 min (98%, Methode 4)

$C_{21}H_{25}N_3O_9$ [463,45]

(E)-(3*S*)-3-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-butansäure-*tert.*-butylester **2-57**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 960 mg (6,5 mmol) (*S*)-3-Hydroxybutansäure-*tert.*-butylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 54 mg, gelbe Kristallnadeln

Smp.: 106,6°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1777 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1735 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1643 cm^{-1} + 1629 cm^{-1} (C=O)

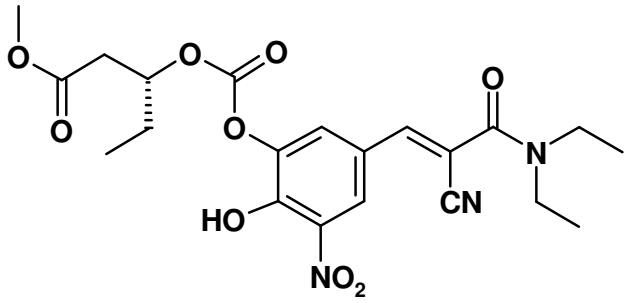
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (b), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,46 (d, *J* = 6,36 Hz, 3H, C-CH_3); 1,48 (s, 9H, C(CH_3)$_3$); 2,55 (dd, *J* = 5,85/15,76 Hz, 1H, CH-CH_2); 2,74 (dd, *J* = 7,37/15,77 Hz, 1H, CH-CH_2); 3,51 (s (br), 4H, N-CH_2); 5,27 (m, 1H, O-C*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
11,03 + 13,89 (N-CH_2-*C*H_3); 19,63 (CH-*C*H_3); 28,07 (C(*C*H_3)$_3$); 40,88 + 43,35 (N-*C*H_2); 41,77 (CH_2-*C*H); 74,10 (O-*C*H); 81,43 (O-*C*(CH_3)$_3$); 108,81 (*C*-CN); 115,29 (C-*C*N); 123,85 (C_5 aromat.); 124,83 (C_4 aromat.); 129,70 (C_6 aromat.); 134,43 (C_3 aromat.); 141,46 (C_2 aromat.); 147,10 (*C*H=C); 150,19 (C_1 aromat.); 151,45 (C=O [Carbonat]); 162,03 (C=O [Amid]); 170,69 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 14,34 min (96%, Methode 4)

$C_{23}H_{29}N_3O_9$ [491,50]

(E)-(3*R*)-3-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-pentansäuremethylester **2-58**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,03 g (7,8 mmol) (*R*)-3-Hydroxypentansäuremethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/ Diethylether 10:1).

Ausbeute: 40 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 77,1°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1778 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1736 cm^{-1} (C=O [Ester])

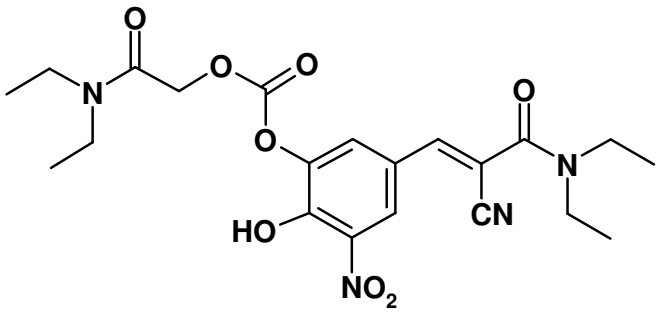
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,04 (t, *J* = 7,37 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,28 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,81 (m, 2H, CH-C*H*$_2$-CH$_3$); 2,72 (m, 2H, C*H*$_2$-CO); 3,49 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 3,51 (s (br), 2H, N-C*H*$_2$); 3,73 (s, 3H, O-C*H*$_3$); 5,18 (m, *J* = 7,89 Hz, 1H, O-C*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,12 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,50 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,94 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
9,24 (CH_3); 26,94 (*C*H$_2$-CH$_3$); 38,24 (CH-*C*H$_2$); 52,04 (O-*C*H$_3$); 78,06 (O-*C*H); 108,82 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,85 (C_5 aromat.); 124,84 (C_4 aromat.); 129,70 (C_6 aromat.); 134,64 (C_3 aromat.); 141,46 (C_2 aromat.); 147,07 (*C*H=C); 150,47 (C_1 aromat.); 152,67 (C=O [Carbonat]); 162,27 (C=O [Amid]); 170,35 (C=O [Ester]); amidische Ethylsignale nicht detektierbar

HPLC: R_t: 12,82 + 12,93 min (96%, Methode 4)

$C_{21}H_{25}N_3O_9$ [463,45]

(E)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-essigsäurediethylamid **2-59**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 596 mg (4,5 mmol) Glykolsäurediethylamid nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristalisieren aus Dichlormethan/ Diethylether.

Ausbeute: 73 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 118,9°C

IR: 1786 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1664 cm^{-1} (C=O [Amid]); 1637 cm^{-1} (C=O [Amid])

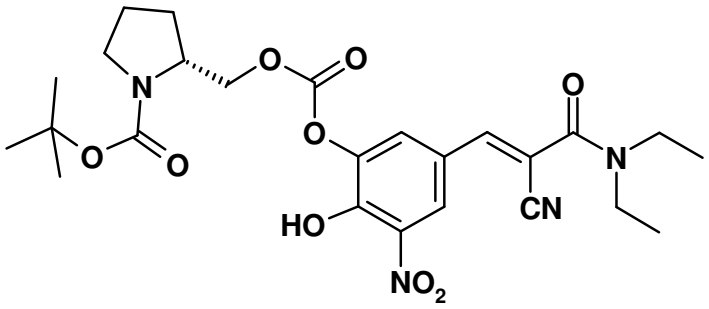
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,16 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, N-CH_2-CH_3); 1,24 (t, *J* = 7,13 Hz, 3H, N-CH_2-CH_3); 1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3 [Entacapon]); 3,25 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, N-CH_2); 3,44 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, N-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,88 (s, 2H, O-CH_2); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,11 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,57 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 10,99 (s, 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,74 (N-CH_2-CH_3); 12,92 (N-CH_2-CH_3 [Glykolamid]); 14,14 (N-CH_2-CH_3 [Glykolamid]); 40,62 (N-CH_2-CH_3 [Glykolamid]); 40,91 (N-CH_2-CH_3 [Glykolamid]); 43,48 (N-CH_2); 65,29 (O-CH_2); 109,05 (*C*-CN); 115,26 (C-*C*N); 123,82 (C_5 aromat.); 124,48 (C_4 aromat.); 130,17 (C_6 aromat.); 134,69 (C_3 aromat.); 141,33 (C_2 aromat.); 146,95 (*C*H=C); 150,00 (C_1 aromat.); 152,27 (C=O [Carbonat]); 162,28 (C=O [Amid]); 164,20 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 10,26 min (94%, Methode 3)

$C_{21}H_{26}N_4O_8$ [462,46]

(E)-(2*R*)-Kohlensäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-[*N*-(*tert.*-butyloxycarbonyl)-pyrrolidin-2-yl-methyl)ester **2-60**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 615 mg (3 mmol) *N*-(*tert.*-Butyloxycarbonyl)-D-prolinol nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan.

Ausbeute: 301 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 86,3°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1780 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1690 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1632 cm^{-1} (C=O [Amid])

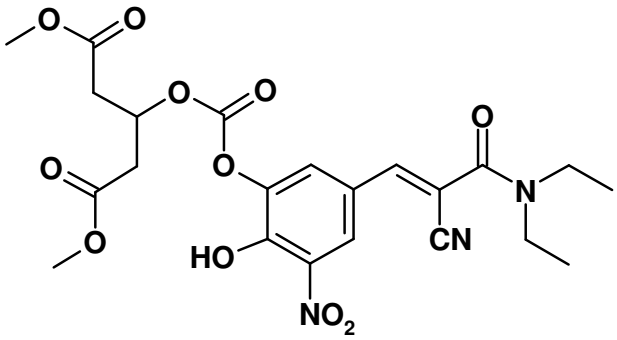
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,48 (s, 9H, C(CH_3)$_3$); 1,87-2,07 (m, 4H, CH_2); 3,41 (s (br), N-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2 [Entacapon]); 4,07-4,29 (m, 1H, N-C*H*); 4,73 (s, 2H, O-CH_2); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (s (br), 1H, aromat.); 8,48 (d, *J* = 2,29 Hz , 1H, aromat); 10,94 (s (br), 0.9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,45 + 13,88 (N-CH_2-*C*H_3); 22,98 (*C*H_2); 28,71 (*C*H_2); 28,46 (C(*C*H_3)$_3$); 40,95 + 43,45 (N-*C*H_2); 46,85 (N-*C*H_2); 55,73 (N-*C*H); 69,72 (O-*C*H_2); 80,02 (*C*(CH_3)$_3$); 108,70 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,79 (C_5 aromat.); 125,00 (C_4 aromat.); 129,48 (C_6 aromat.); 134,77 (C_3 aromat.); 141,37 (C_2 aromat.); 147,05 (*C*H=C); 150,05 (C_1 aromat.); 152,19 (C=O [Carbonat]); 154,72 (C=O [Urethan]); 162,26 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,25 min (96%, Methode 4)

$C_{25}H_{32}N_4O_9$ [532,56]

(E)-3-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxy-carbonyloxy]-glutarsäuredimethylester **2-61**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 806 mg (4,6 mmol) Glutarsäuredimethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 310 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 127,2°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1738 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1730 cm^{-1} (C=O [Ester])

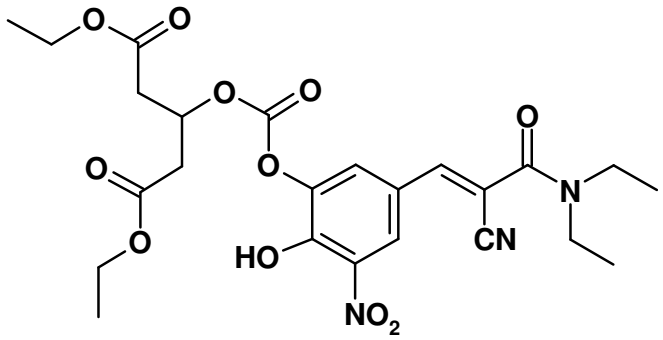
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (b), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,87 (d, *J* = 6,35 Hz, 2H, CH-CH_2); 2,89 (d, *J* = 6,35 Hz, 2H, CH-CH_2); 3,49 (s, 2H, N-CH_2); 3,51 (s, 2H, N-CH_2); 3,74 (s, 6H, O-CH_3); 5,54 (m, *J* = 6,10 Hz, 1H, O-C*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,51 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,95 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,84 (N-CH_2-*C*H_3); 37,95 (CH-*C*H_2); 42,42 (N-*C*H_2); 52,13 (O-*C*H_3); 72,71 (O-*C*H); 109,06 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,93 (C_5 aromat.); 124,85 (C_4 aromat.); 129,69 (C_6 aromat.); 134,51 (C_3 aromat.); 141,35 (C_2 aromat.); 146,94 (*C*H=C); 150,05 (C_1 aromat.); 151,25 (C=O [Carbonat]); 162,26 (C=O [Amid]); 169,70 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 11,32 min (97%, Methode 4)

$C_{22}H_{25}N_3O_{11}$ [507,46]

(E)-3-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl-oxycarbonyloxy]-glutarsäurediethylester **2-62**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,27 g (6 mmol) Glutarsäurediethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 287 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 105,9 °C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1772 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1736 cm^{-1} (C=O [Ester])

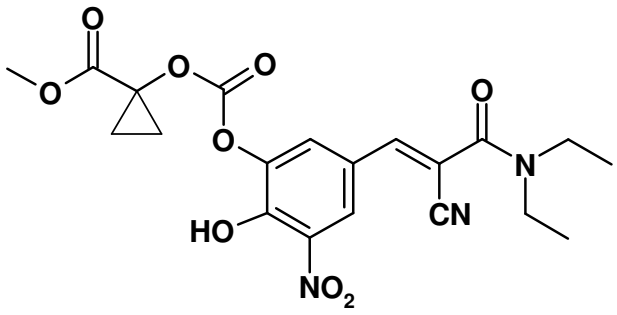
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (b), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,29 (t, *J* = 7,12 Hz, 6H, O-CH_2-CH_3); 2,85 (d, *J* = 6,10 Hz, 2H, CH-CH_2); 2,86 (d, *J* = 6,10 Hz, 2H, CH-CH_2); 3,49 (s, 2H, N-CH_2); 3,51 (s, 2H, N-CH_2); 4,20 (q, *J* = 7,12 Hz, 4H, O-CH_2); 5,54 (m, *J* = 6,36 Hz, 1H, O-CH); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,11 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,52 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,94 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,60 (N-CH_2-*C*H_3); 14,17 (O-CH_2-*C*H_3); 38,24 (CH-*C*H_2); 40,87 (N-*C*H_2); 61,13 (O-*C*H_2-CH_3); 72,88 (O-*C*H); 109,05 (*C*-CN); 115,27 (C-*C*N); 123,91 (C_5 aromat.); 124,77 (C_4 aromat.); 129,74 (C_6 aromat.); 134,52 (C_3 aromat.); 141,39 (C_2 aromat.); 146,95 (*C*H=C); 150,06 (C_1 aromat.); 151,26 (C=O [Carbonat]); 162,28 (C=O [Amid]); 169,26 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 13,68 min (95%, Methode 4)

$C_{24}H_{29}N_3O_{11}$ [535,51]

(E)-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl-oxycarbonyloxy]-cyclopropancarbonsäuremethylester **2-63**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,00 g (8,6 mmol) Hydroxycyclopropancarbonsäuremethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 281 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 102,2°C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1795 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1745 cm^{-1} (C=O [Ester])

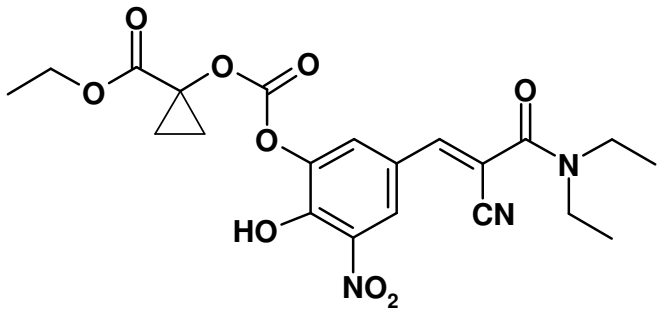
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,47 (m, *J* = 5,84/3,31 Hz, 2H, cyclopropyl-CH_2); 1,64 (m, *J* = 5,34/3,31 Hz, 2H, cyclopropyl-CH_2); 3,49 (s (br), 2H, N-CH_2); 3,51 (s (br), 2H, N-CH_2); 3,81 (s, 3H, O-CH_3); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 8,51 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,49 + 13,51 (N-CH_2-*C*H_3); 15,96 (O-C(*C*H_2)$_2$); 40,92 + 43,61 (N-*C*H_2); 52,95 (O-*C*H_3); 60,07 (O-*C*); 108,96 (*C*-CN); 115,28 (C-*C*N); 123,88 (C_5 aromat.); 125,12 (C_4 aromat.); 129,65 (C_6 aromat.); 134,45 (C_3 aromat.); 141,14 (C_2 aromat.); 146,92 (*C*H=C); 149,99 (C_1 aromat.); 151,76 (C=O [Carbonat]); 162,21 (C=O [Amid]); 170,17 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 11,51 + 11,78 min (95%, Methode 4)

$C_{20}H_{21}N_3O_9$ [447,41]

(E)-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxycarbonyloxy]-cyclopropancarbonsäureethylester **2-64**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 1,00 g (7,7 mmol) Hydroxycyclopropancarbonsäureethylester nach **AAV 6**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 128 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 119,4 °C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1786 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1741 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1645 cm^{-1} (C=O [Amid])

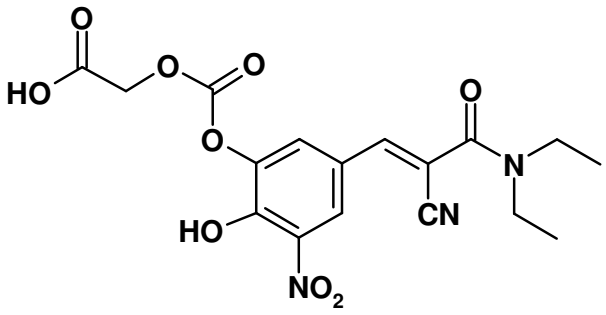
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,30 (t, *J* = 7,13 Hz, 3H, O-CH_2-CH_3); 1,44 (m, *J* = 5,85/3,30 Hz, 2H, cyclopropyl-CH_2); 1,62 (m, *J* = 5,43/3,31 Hz, 2H, cyclopropyl-CH_2); 3,49 (s (br), 2H, N-CH_2); 3,51 (s (br), 2H, N-CH_2); 4,26 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2); 7,58 (s, 1H, CH=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,51 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 10,97 (s, 1H, OH)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,65 + 13,72 (N-CH_2-CH_3); 14,16 (O-CH_2-CH_3); 15,84 (O-C(CH_2)$_2$); 40,85 + 43,44 (N-CH_2); 60,11 (O-C); 62,06 (O-CH_2); 108,98 (C-CN); 115,27 (C-CN); 123,89 (C_5 aromat.); 125,06 (C_4 aromat.); 129,68 (C_6 aromat.); 134,47 (C_3 aromat.); 141,18 (C_2 aromat.); 146,91 (CH=C); 150,03 (C_1 aromat.); 151,75 (C=O [Carbonat]); 162,22 (C=O [Amid]); 169,65 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 12,82 min (95%, Methode 4)

$C_{21}H_{23}N_3O_9$ [461,43]

(E)-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyloxycarbonyloxy]-essigsäure **2-65**



200 mg (0,4 mmol) *(E)*-2-[5-(2-Cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyloxycarbonyloxy]-phenylessigsäurebenzylester (**2-47**) werden in 5 ml Dichlormethan gelöst und unter Schutzgas (N_2) und Eiskühlung mit 1 ml (1 mmol) BCl_3-Lösung versetzt. Der Ansatz wird über Nacht gerührt, wobei er sich langsam auf Raumtemperatur aufwärmt. Nach Zugabe von 10 ml Ether wird der Ansatz mit kalter 2 M Salzsäure extrahiert, die organische Phase getrocknet und im Vakuum eingeengt und das Produkt mit Dichlormethan/Diethylether/n-Hexan ausgefällt.

Ausbeute: 57% (107 mg), gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 140,3°C

IR: 3282 cm^{-1} (OH); 2212 cm^{-1} (C≡N); 1787 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1750 cm^{-1} (C=O [Säure]); 1618 cm^{-1} (C=O [Amid])

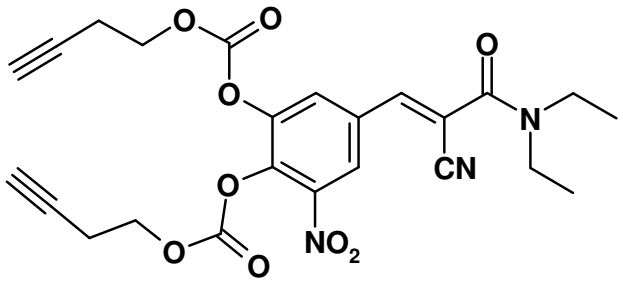
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,24 + 1,32 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,52 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,81 (s, 2H, O-CH_2); 7,70 (s, 1H, C*H*=C); 8,12 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,62 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.)

^{13}C-NMR (100, MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,39 + 13,59 (N-CH_2-*C*H_3); 41,17 + 43,58 (N-*C*H_2); 64,08 (O-CH_2); 108,20 (*C*-CN); 115,11 (C-*C*N); 123,76 (C_5 aromat.); 124,75 (C_4 aromat.); 130,38 (C_6 aromat.); 134,49 (C_3 aromat.); 141,07 (C_2 aromat.); 147,80 (*C*H=C); 150,03 (C_1 aromat.); 151,99 (C=O [Carbonat]); 162,80 (C=O [Amid]); 168,89 (C=O [Säure])

HPLC: Produkt zerfällt während der Chromatographie

$C_{17}H_{27}N_3O_9$ [407,34]

(E)-Kohlensäure-but-3-inyl-[2-(but-3-inyloxycarbonyloxy)-5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-3-nitrophenyl]-ester **3-1**



Aus 458 mg (1,5 mmol) Entacapon (**1**) und 423 mg (3 mmol) Chlorameisensäure-but-3-inester nach **AAV 2**.

Ausbeute: 26% (191mg), gelbliches, viskoses Öl

IR: 2215 cm^{-1} (C≡N); 2122 cm^{-1} (C≡C); 1777 cm^{-1} + 1770 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1650 cm^{-1} + 1643 cm^{-1} (C=O [Amid])

UV/Vis: λ_{max}: 259 nm (Methanol)

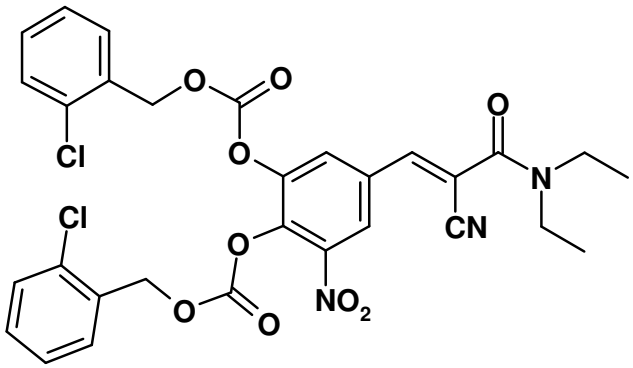
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,25 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,08 (t, *J* = 2,55 Hz, 1H, C*H*≡C); 2,10 (t, *J* = 2,54 Hz, 1H, C*H*≡C); 2,68 (m, 4H, O-CH_2-CH_2); 3,51 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,42 (t, *J* = 6,61 Hz, 2H, O-CH_2); 4,43 (t, *J* = 6,68 Hz, 2H, O-CH_2); 7,63 (s, 1H, C*H*=C); 8,22 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,41 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,57 + 13,83 (N-CH_2-*C*H_3); 18,92 + 18,97 (*C*H_2-C≡CH); 40,76 + 43,51 (N-*C*H_2); 67,31 + 67,67 (H*C*≡C); 70,79 + 70,87 (O-*C*H_2); 78,57 + 78,66 (HC≡*C*); 111,77 (*C*-CN); 114,70 (C-*C*N); 124,57 (C_5 aromat.); 128,14 (C_4 aromat.); 131,01 (C_6 aromat.); 138,71 (C_3 aromat.); 142,66 (C_2 aromat.); 144,92 (*C*H=C); 145,96 (C_1 aromat.); 150,60 (C=O [Carbonat]); 151,59 (C=O [Carbonat]); 161,70 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 14,61 min (98%, Methode 3)

$C_{24}H_{23}N_3O_9$ [497,47]

(E)-Kohlensäure-(2-chlorbenzyl)-[2-(2-chlorbenzyloxycarbonyloxy)-5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-3-nitrophenyl]-ester **3-2**



Aus 471 mg (1,5 mmol) Entacapon (**1**) und 990 mg (4,5 mmol) Chlorameisensäure-2-chorbenzylester nach **AAV 2**.

Ausbeute: 22% (208 mg), grünliches, viskoses Öl

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1778 cm^{-1} + 1770 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1651 cm^{-1} (C=O [Amid])

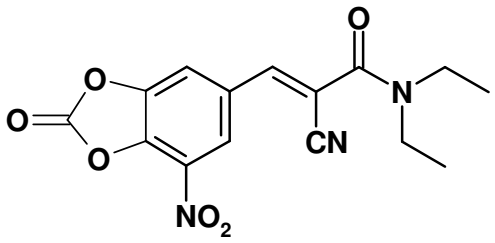
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,41 (s, 2H, O-C*H*$_2$); 5,43 (s, 2H, O-C*H*$_2$); 7,28-7,33 (m, 4H, aromat.); 7,39-7,43 (m, 2H, aromat.); 7,43-7,50 (m, 2H, aromat.); 7,63 (s, 1H, C*H*=C); 8,21 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,54 + 13,73 (N-CH_2-*C*H_3); 40,81 + 43,36 (N-*C*H_2); 68,76 + 69,02 (O-*C*H_2); 111,72 (*C*-CN); 114,71 (C-*C*N); 124,48 (C_5 aromat.); 127,10 (C_4 aromat.); 127,13 + 128,25 (phenyl-*C*H); 129,67 (C_6 aromat.); 129,77 + 130,03 + 130,26 + 130,38 + 131,02 (phenyl-*C*H); 137,72 + 131,74 (*C*-Cl); 133,74 + 133,94 (*C*-CH_2-O); 138,77 (C_3 aromat.); 142,71 (C_2 aromat.); 145,01 (C_1 aromat.); 145,98 *C*H=C); 150,73 + 151,70 (C=O [Carbonat]); 161,71 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 20,43 min (96%, Methode 3)

$C_{30}H_{25}Cl_2N_3O_9$ [642,45]

(E)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid **4**



Aus 458 mg (1,5 mmol) Entacapon (**1**) nach **AAV 3**, **4** oder **5**.

Ausbeute: weißes, amorphes Pulver (aufgrund der Labilität nicht quantifizierbar)

IR: 2207 cm^{-1} (C≡N); 1875 cm^{-1} (C=O [Carbonat]); 1644 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,25 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 7,72 (s, 1H, C*H*=C); 8,28 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat.); 8,37 (d, *J* = 1,53 Hz, 1H, aromat.)

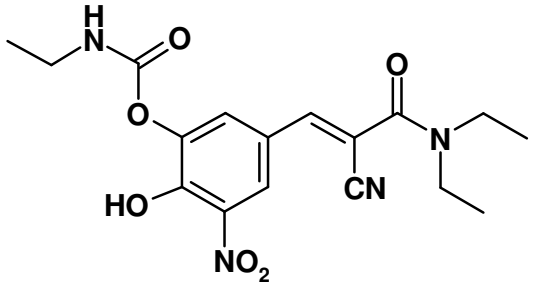
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,53 + 13,77 (N-CH_2-*C*H_3); 41,08 + 43,46 (N-CH_2-CH_3); 111,68 (*C*-CN); 114,85 (C-*C*N); 114,93 (C_4 aromat.); 122,83 (C_6 aromat.); 129,71 (C_5 aromat.); 132,27 (C_3 aromat.); 139,15 (C_2 aromat.); 145,28 (C_1 aromat.); 146,51 (*C*H=C); 148,63 (C=O [cycl. Carbonat]); 161,53 (C=O [Amid])

HPLC: Produkt zerfällt während der Chromatographie

$C_{15}H_{13}N_3O_6$ [331,29]

5.3.2 Verbindungen aus Kapitel 3.2

(E)-N-Ethylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxopropenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-1**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 213 mg (3 mmol) Ethylisocyanat nach **AAV 8**. Die Reinigung erfolgt durch mehrfaches Umristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan.

Ausbeute: 31% (115 mg), gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 127,6°C, Lit.[174]: 135°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1747 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1}(C=O [Amid])

UV/Vis: λ_{max}: 229 nm, 273 nm

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,30 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, NH-CH_2-CH_3); 3,36 (m, *J* = 6,87 Hz, 2H, NH-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 5,27 (t, *J* = 5,09 Hz, 1H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,43 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,96 (s (br), 1H, OH)

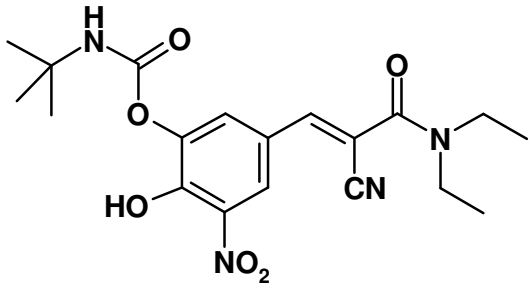
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,56 + 13,78 (N-CH_2-*C*H_3); 14,97 (NH-CH_2-*C*H_3); 36,54 (NH-*C*H_2); 40,89 + 43,47 (N-CH_2-CH_3); 108,32 (*C*-CN); 115,41 (C-*C*N); 123,75 (C_5 aromat.); 124,49 (C_4 aromat.); 130,34 (C_6 aromat.); 134,30 (C_3 aromat.); 141,63 (C_2 aromat.); 147,38 (*C*H=C); 150,84 (C_1 aromat.); 152,75 (C=O [Urethan]); 162,69 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,91 min (94%, Methode 2)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 375
$[M-1]^-$ gef.: 375

$C_{17}H_{20}N_4O_6$ [376,37]

(E)-N-tert.-Butylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxopropenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-2**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 119 mg (2,4 mmol) *tert.*-Butylisocyanat nach **AAV 8**. Die Reinigung erfolgt durch mehrfaches Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan.

Alternativ aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 741 mg (10 mmol) *tert.*-Butylamin nach **AAV 9**. Reinigung mittels Säulenchromatographie mit einem Laufmittelgradienten (Dichlormethan → Dichlormethan/Diethylether 10:1).

Ausbeute: 34% (150 mg) (**AAV 8**), gelbes, amorphes Pulver
106 mg bzw. 42 mg (**AAV 9**)*

Smp.: 140 °C, Lit.[174]: 131 °C

IR: 2210 cm^{-1}(C≡N); 1742 cm^{-1}(C=O [Ester]); 1637 cm^{-1}(C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,24 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,40 (s, 9H,CH(CH_3)$_3$); 3,49 (s (br), 4H, N-CH_2); 5,20 (s (br), 1H, N*H*); 7,55 (s, 1H, C*H*=C); 8,11 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,40 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat); 10,95 (s (br), 1H, OH)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
14,89 (N-CH_2-*C*H_3); 28,66 (NH-C(*C*H_3)$_3$); 40,97 + 44,01 (N-CH_2-CH_3); 51,41 (NH-*C*); 109,99 (*C*-CN); 115,44 (C-*C*N); 123,73 (C_5 aromat.); 124,34 (C_4 aromat.); 130,48 (C_6 aromat.); 134,28 (C_3 aromat.); 141,61 (C_2 aromat.); 147,40 (*C*H=C); 150,93 (C_1 aromat.); 156,69 (C=O [Urethan]); 162,47 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 18,69 min (96%, Methode 2)

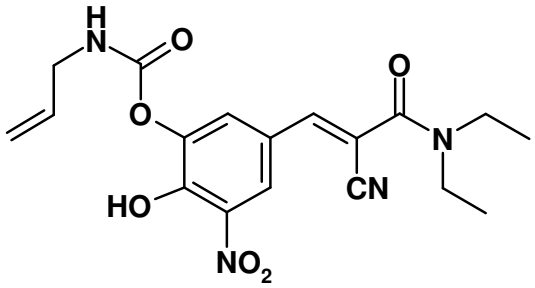
* Die Ausbeuten beziehen sich auf eine Versuchsreihe, bei der der Ringschluß im ersten Fall mit Phosgen und im zweiten mit Diphosgen erfolgte. Die Ermittlung der absoluten Ausbeuten zeigt die Effektivität der beiden Ringschlußverfahren.

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 403
$[M-1]^-$ gef.: 403

Ber. [%]:	C	56,43	H	5,98	N	13,85
Gef. [%]:	C	56,41	H	6,09	N	13,84

$C_{19}H_{24}N_4O_6$ [404,43]

(E)-*N*-Allylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-3**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 415 mg (5 mmol) Allylisocyanat nach **AAV 8**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (3:1).

Ausbeute: 69% (270 mg), gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 122,6 °C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1747 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 3,93 (t, *J* = 5,59 Hz, 2H, NH-C*H*$_2$); 5,23 (*J* = 1,28/10,43 Hz, 1H CH=C*H*$_2$); 5,32 (*J* = 1,27/17,29 Hz, 1H, CH=C*H*$_2$); 5,41 (t, *J* = 5,85 Hz, 1H, N*H*); 5,91 (m, 1H, C*H*=CH_2); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,43 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat); 10,96 (s (br), 1H, OH)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
14,42 (N-CH_2-*C*H$_3$); 30,15 (N-CH_2-CH_3); 44,33 (NH-*C*H$_2$); 108,83 (*C*-CN); 115,82 (C-*C*N); 117,48 (CH_2=*C*H); 124,19 (C_5 aromat.); 125,00 (C_4 aromat.); 130,48 (C_6 aromat.); 133,76 (*C*H$_2$=CH); 134,71 (C_3 aromat.); 141,96 (C_2 aromat.); 147,74 (*C*H=C); 151,19 (C_1 aromat.); 156,35 (C=O [Urethan]); 162,47 (C=O [Amid])

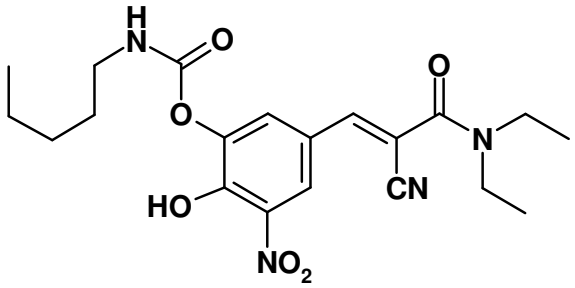
HPLC: R_t: 16,76 min (86%, Methode 2)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 387
$[M-1]^-$ gef.: 387

Ber. [%]:	C	55,67	H	5,15	N	14,43
Gef. [%]:	C	55,54	H	5,36	N	14,12

$C_{18}H_{20}N_4O_6$ [388,38]

(E)-N-Pentylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-4**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 340 mg (3 mmol) n-Pentylisocyanat nach **AAV 8**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Gradienten (Ethylacetat/n-Hexan 1:1 → 1:2).

Ausbeute: 24% (99 mg), gelbes Pulver

Smp.: 141,2°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1741 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,93 (m, *J* = 6,87 Hz, 3H, C*H*$_3$); 1,26 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,38 (m, 2H, CH$_2$); 1,61 (m, 4H, C*H*$_2$); 3,30 (m, *J* = 6,10 Hz, 2H, NH-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,26 (t, *J* = 5,85 Hz, 1H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat); 10,95 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,95 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 13,99 (pentyl-*C*H$_3$); 22,31 (pentyl-CH$_2$); 28,82 (pentyl-CH$_2$); 29,37 (pentyl-CH$_2$); 41,63 (pentyl-CH$_2$); 43,57 (N-*C*H$_2$-CH$_3$); 108,34 (*C*-CN); 115,42 (C-*C*N); 123,75 (C$_5$ aromat.); 124,46 (C$_4$ aromat.); 130,34 (C$_6$ aromat.); 134,30 (C$_3$ aromat.); 141,67 (C$_2$ aromat.); 147,37 (*C*H=C); 150,84 (C$_1$ aromat.); 152,90 (C=O [Urethan]); 162,46 (C=O [Amid])

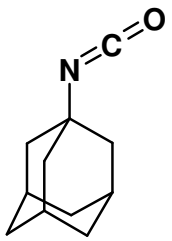
HPLC: R_t: 19,70 min (93%, Methode 2)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 417
$[M-1]^-$ gef.: 417

Ber. [%]:	C	57,42	H	6,22	N	13,40
Gef. [%]:	C	57,36	H	6,36	N	13,10

$C_{20}H_{26}N_4O_6$ [418,45]

Amantadylisocyanat **XXIII**



Arbeitsvorschrift analog *Skelly und Mitarbeitern*[177]:

5 ml einer 20%igen Phosgenlösung (in Toluol, ca. 10 mmol) werden unter Eiskühlung vorgelegt und tropfenweise mit 2 ml Pyridin versetzt. Zu dieser Lösung wird in kleinen Portionen eine Suspension aus 982 mg (6,5 mmol) Amantadin in 15 ml Ether zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 16 h, bei der sich das Gemisch auf Raumtemperatur erwärmt, wird der Ansatz filtriert und das Filtrat in Eiswasser gegeben. Die wässrige Lösung wird mit Hexan extrahiert und die organische Phase nach Trocknung mit $NaSO_4$ im Vakuum eingeengt. Es kristallisiert das reine Produkt aus.

Ausbeute: 45% (485mg), weißes, amorphes Pulver

Smp.: 143,6°C; Lit[177]: 145 - 147°C

IR: 2923 cm^{-1} + 2854 cm^{-1} (CH); 2258 cm^{-1} (NCO);
Lit.[213]: 2258 cm^{-1} (NCO)

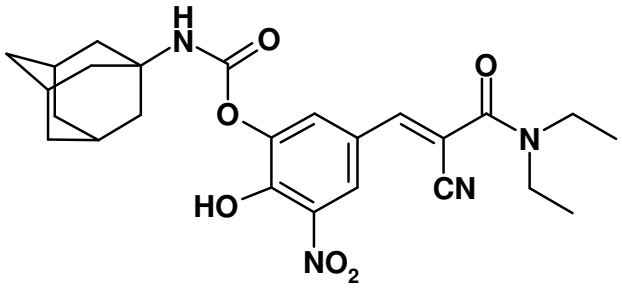
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,57 (m, 6H, C*H*$_2$); 1,81 (d, *J* = 2,80 Hz, 6H, HN-C-*CH*$_2$); 2,02 (s (br), 3H, C*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO): δ (ppm):
29,3 (*C*H); 36,5 (*C*H$_2$); 42,4 (N-C-*C*H$_2$)

Ber. [%]:	C	74,54	H	8,53	N	7,90
Gef. [%]:	C	74,39	H	8,55	N	7,77

$C_{11}H_{15}NO$ [177,25]

(E)-N-Adamantylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-5**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 885 mg (5 mmol) Adamantylisocyanat (**XXIII**) nach **AAV 8**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (2:1).

Ausbeute: 18% (102 mg), gelbes, amorphes Pulver

Mikrowellenmethode: 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 268 mg (1,5 mmol) Adamantylisocyanat (**XXIII**) werden in einem verschließbaren Mikrowellenvial 20 min in der Synthesemikrowelle (Methode „Carbamat“) bestrahlt. Der Ansatz wird anschließend 3 d bei Raumtemperatur gelagert und dann säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (2:1) aufgearbeitet.

Ausbeute: 53% (256 mg), gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 115,6°C

IR: 3249 cm^{-1} (NH); 2212 cm^{-1} (C≡N); 1746 cm^{-1} (C=O [Urethan]) 1637 cm^{-1} + 1621 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,30 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,70 (s (br), 6H, C*H*$_2$); 2,03 (d, *J* = 2,23 Hz, 6H, C-C*H*$_2$); 2,13 (s (br), 3H, C*H*); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 5,13 (s (br), 1H, N*H*); 7,56 (s, 1H, C*H*=C); 8,11 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,41 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat); (Signal der OH-Gruppe nicht detektierbar)

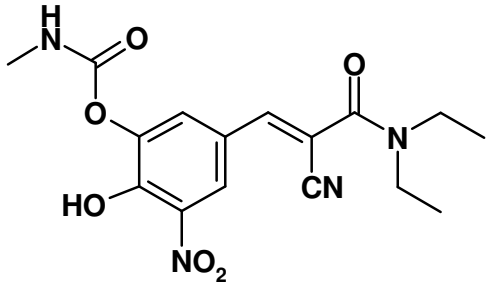
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,93 + 14,24 (N-CH_2-*C*H_3); 29,81 (adamantyl-*C*H); 36,58 (adamantyl-*C*H_2); 41,90 (adamantyl-*C*H_2); 41,35 + 43,90 (N-*C*H_2-CH_3); 52,18 (NH-*C*); 108,62 (*C*-CN); 115,84 (C-*C*N); 124,11 (C_5 aromat.); 124,69 (C_4 aromat.); 130,92 (C_6 aromat.); 134,67 (C_3 aromat.); 142,03 (C_2 aromat.); 147,84 (*C*H=C); 150,93 (C_1 aromat.); 151,34 (C=O [Urethan]); 162,92 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 22,16 min (93%, Methode 2)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 481
$[M-1]^-$ gef.: 481

$C_{25}H_{30}N_4O_6$ [482,54]

(E)-N-Methylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-6**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Methylamin (33%ige Lösung in Ethanol, q.s.*) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/ n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 63 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 124,1 °C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1752 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} + 1622 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,95 (d, *J* = 4,83 Hz, 3H, NH-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 5,17 (s, 1H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,43 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,94 + 13,84 (N-CH_2-*C*H_3); 28,41 (NH-*C*H_3); 41,21 + 43,66 (N-*C*H_2); 108,80 (*C*-CN); 115,82 (C-*C*N); 124,18 (C_5 aromat.); 124,94 (C_4 aromat.); 130,74 (C_6 aromat.); 134,72 (C_3 aromat.); 142,01 (C_2 aromat.); 147,73 (*C*H=C); 151,21 (C_1 aromat.); 153,90 (C=O [Urethan]); 162,85 (C=O [Amid])

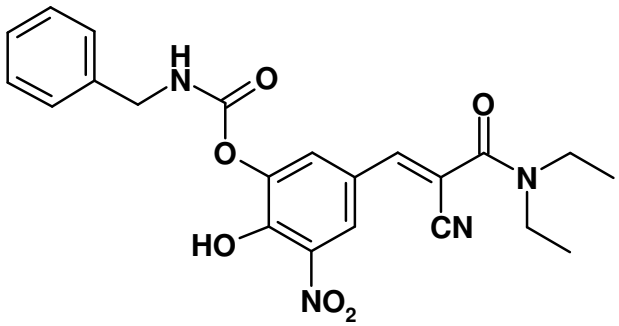
HPLC: R_t: 14,43 min (95%, Methode 1)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 361
$[M-1]^-$ gef.: 361

$C_{16}H_{18}N_4O_6$ [362,35]

* Die Angabe q.s. (quantum satis) bedeutet die tropfenweise Zugabe einer verdünnten Lösung des Amins in Dichlormethan bis die Reaktion vollständig abgelaufen ist. Auf die Angabe der tatsächlich eingesetzten Menge wird verzichtet.

(E)-*N*-Benzylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-7**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Benzylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Aufreinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 21mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 115,4°C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1739 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} + 1622 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$-CH_3); 4,51 (d, *J* = 5,85 Hz, 2H, NH-C*H*$_2$); 5,54 (t, *J* = 5,85 Hz, 0,9H, N*H*); 7,31-7,42 (m, 5H, Phenyl-C*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,44 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,98 (s (br), 0,7H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
45,64 (O-*C*H_2); 108,46 (*C*-CN); 115,40 (C-*C*N); 123,79 (phenyl-*C*H); 123,94 (C_5 aromat.); 124,57 (C_4 aromat.); 127,67 (phenyl-*C*H); 127,95 (phenyl-*C*H); 128,90 (phenyl-*C*H); 130,30 (C_6 aromat.); 134,33 (C_3 aromat.); 141,57 (C_2 aromat.); 147,30 (*C*H=C); 150,77 (C_1 aromat.); 153,00 (C=O [Urethan]); 161,77 (C=O [Amid]). Signale der amidischen Ethylgruppen nicht detektierbar*

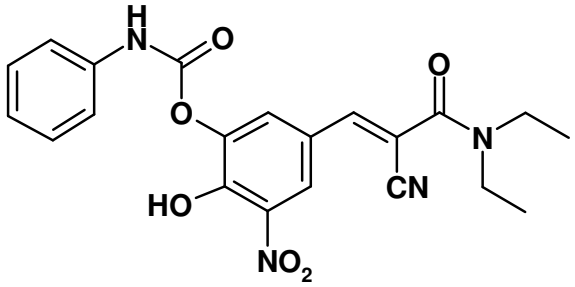
HPLC: R_t: 18,44 min (95%, Methode 2)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 437
$[M-1]^-$ gef.: 437

$C_{22}H_{22}N_4O_6$ [438,44]

* Vgl. Kap. 3.1.3.1

(E)-*N*-Phenylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-8**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propen amid (**4**) und Anilin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (2:1).

Ausbeute: 53 mg, orangefarbenes, amorphes Pulver

Smp.: 140,2°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1747 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} + 1624 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$-CH_3); 7,12-7,21 (m, 2H, Phenyl-C*H*); 7,34-7,39 (m, 2H, Phenyl-C*H* + N*H*); 7,46 (m, 2H, Phenyl-C*H*); 7,60 (s, 1H, C*H*=C); 8,20 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat.); 8,47 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat)

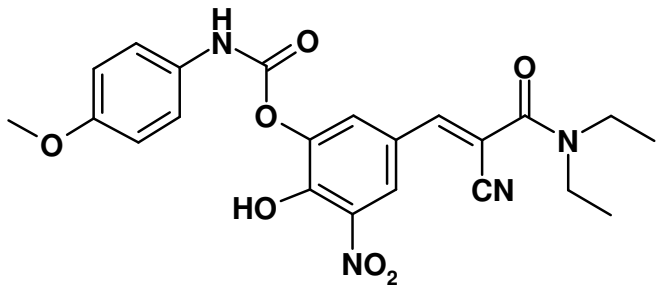
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,85 (N-CH_2-*C*H_3); 41,56 (N-*C*H_2); 108,93 (*C*-CN); 115,79 (C-*C*N); 119,37 (phenyl-*C*H); 121,38 (phenyl-*C*H); 124,22 (C_5 aromat.); 124,91 (C_4 aromat.); 125,18 (phenyl-*C*H); 129,68 (C_3 aromat.); 130,75 (C_6 aromat.); 134,78 (C_2 aromat.); 141,52 (C_1 aromat.); 147,63 (*C*H=C); 150,28 (phenyl-*C*); 151,11 (C=O [Urethan]); 162,85 (C=O [Amid])

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 423
$[M-1]^-$ gef.: 423

HPLC: R_t: 18,49 min (96%, Methode 2)

$C_{21}H_{20}N_4O_6$ [424,42]

(E)-N-4-Methoxyphenylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-9**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 4-Methoxyanilin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 102 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 175,0 °C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1743 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1624 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 3,81 (s, 3H, O-CH_3); 6,92 (d, *J* = 7,63 Hz, 2H, aromat.); 7,05 (s, 0,8H, N*H*); 7,37 (d, *J* = 7,89 Hz, 1H, aromat.); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,19 (s, 1H, aromat.); 8,46 (s, 1H, aromat); 10,98 (s (br), 0,8H, O*H*)

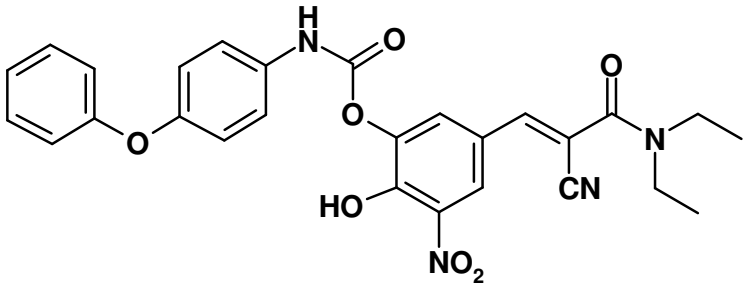
^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
55,53 (O-*C*H$_3$); 108,58 (*C*-CN); 114,47 (phenyl-*C*H) 115,30 (C-*C*N); 116,05 (phenyl-*C*H); 120,40 (phenyl-*C*H); 121,02 (phenyl-*C*H); 123,84 (C_5 aromat.); 124,70 (C_4 aromat.); 130,37 (C_6 aromat.); 134,37 (C_3 aromat.); 136,69 (NH-*C*); 141,21 (C_2 aromat.); 147,25 (*C*H=C); 150,68 (C_1 aromat.); 155,47 (C=O [Urethan]); 164,79 (C=O [Amid]). Signale der amidischen Ethylgruppen nicht detektierbar*

HPLC: R_t: 18,23 min (100%, Methode 2)

$C_{22}H_{22}N_4O_7$ [454,84]

* Vgl. Kap. 3.1.3.1

(E)-N-4-Phenoxyphenylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-10**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 4-Phenoxyanilin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 136 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 158,3°C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1745 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1624 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 6,99 (s, 1H, N*H*); 7,03 (m, 3H, aromat.); 7,10 (t, *J* = 7,37 Hz, 2H, aromat.); 7,34 (m, *J* = 7,38 Hz, 2H, aromat.); 7,43 (d, *J* = 8,90 Hz, 2H, aromat.); 7,60 (s, 1H, C*H*=C); 8,21 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,46 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 0,6H, O*H*)

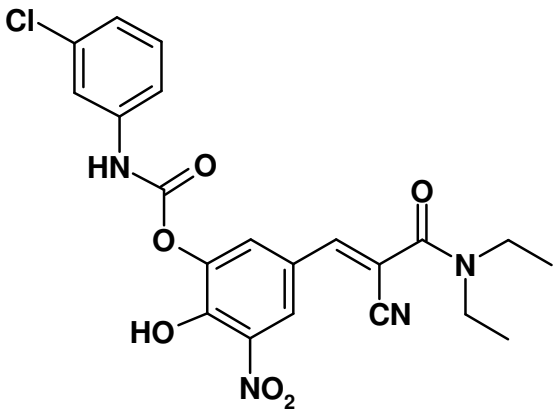
^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,51 + 13,73 (N-CH_2-*C*H$_3$); 44,65 + 43,46 (N-*C*H$_2$); 108,60 (*C*-CN); 115,38 (C-*C*N); 118,57 (Phenyl-*C*H); 119,82 (Phenyl-*C*H); 120,79 (Phenyl-*C*H); 123,25 (Phenyl-*C*H); 123,88 (C_5 aromat.); 124,79 (C_4 aromat.); 129,79 (Phenyl-*C*H); 130,30 (C_6 aromat.); 134,37 (C_3 aromat.); 137,24 (NH-*C*); 141,13 (C_2 aromat.); 147,18 (*C*H=C); 150,65 (C_1 aromat.); 153,86 (C=O [Urethan]); 157,40 (O-*C*); 161,51 (O-*C*); 162,41 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 21,26 min (94%, Methode 2)

Ber. [%]:	C	62,80	H	4,68	N	10,85
Gef. [%]:	C	62,88	H	5,00	N	10,62

$C_{27}H_{25}N_4O_7$ [516,51]

(E)-*N*-3-Chlorphenylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-11**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 3-Chloranilin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan.

Ausbeute: 80 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 173,1 °C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1751 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} + 1624 cm^{-1} (C=O [Amid])

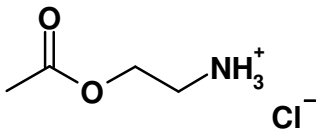
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,29 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,51 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 7,13 (m, 1H, aromat.); 7,29 (m, 1H, aromat.); 7,31 (m, 1H, aromat.); 7,33 (m, 1H, N*H*); 7,57 (m, 1H, aromat.); 7,60 (s, 1H, C*H*=C); 8,19 (d, *J* = 2,54 Hz, 1H, aromat.); 8,46 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,99 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,57 + 13,59 (N-CH_2-*C*H$_3$); 42,30 + 43,36 (N-*C*H$_2$); 108,68 (*C*-CN); 115,33 (C-*C*N); 116,99 (phenyl-*C*H); 119,11 (phenyl-*C*H); 123,88 (C_5 aromat.); 124,68 (phenyl-*C*H); 124,88 (C_4 aromat.); 130,19 (phenyl-*C*H); 130,24 (C_3 aromat.); 134,37 (C_6 aromat.); 134,74 (phenyl-*C*-Cl); 135,02 (phenyl-C-NH); 140,91 (C_2 aromat.); 147,05 (C_1 aromat.); 149,73 (C=O [Urethan]); 150,53 (*C*H=C); 162,40 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 19,91 min (95%, Methode 2)

$C_{21}H_{19}ClN_4O_6$ [458,86]

O-Acetylethanolamin-HCl (nach Lit.[179])



2,0 g (20.5 mmol) Ethanolamin-HCl werden in 1,5 ml Eisessig gelöst und unter Eiskühlung mit 6 ml Acetylchlorid versetzt. Nach 18stündigem Rühren bei Raumtemperatur wird überschüssiges Acetylchlorid im Vakuum entfernt und das Rohprodukt aus Ethanol in der Hitze umkristallisiert.

Ausbeute: 59% (1,69 g), weiße Kristallnadeln

Smp.: 127,9°C, Lit[214]: 125-128°C

IR: 3038 cm^{-1} (NH_3); 1737 cm^{-1} (C=O)

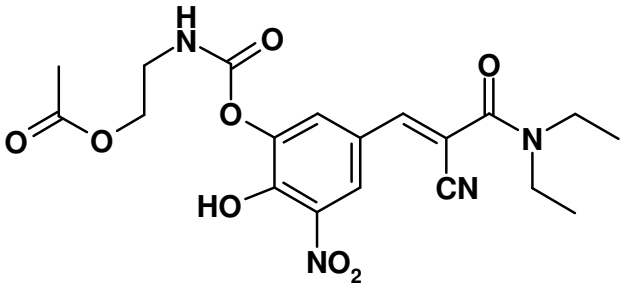
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm):
2,06 (s, 3H, O=C-C*H*$_3$); 3,05 (t, *J* = 5,34 Hz, 2H, N-C*H*$_2$); 4,20 (t, *J* = 5,34 Hz, 2H, O-C*H*$_2$); 8,20 (s (br), 3H, N*H*$_3$)*

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm):
20,62 (*C*H$_3$-C=O); 37,68 (N-*C*H$_2$); 60,29 (O-*C*H$_2$); 170,18 (C=O [Ester])

$C_4H_{10}NO_2Cl$[139,58]

* ^{1}H-NMR-Daten (300 MHz, DMSO-d_6[179])

(E)-Essigsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyloxyamidoethyl]-ester **5-12**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und 140 mg (1,4 mmol) *O*-Acetylethanolamin-HCl nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch mehrfaches Umkristallisieren aus Ethylacetat.

Ausbeute: 100 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 121,9°C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1736 cm^{-1} (C=O [Urethan])*; 1636 cm^{-1} + 1622 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,13 (s, 3H, O=C-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,59 (s, 2H, O-CH_2); 4,25 (t, *J* = 4,32 Hz, 2H, NH-CH_2); 5,55 (t, *J* = 4,83 Hz, 1H, N*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (s, 1H, aromat.); 8,43 (s, 1H, aromat); 10,95 (s (br), 0,6H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
21,29 (*C*H_3-C=O); 41,21 (NH-*C*H_2); 63,41 (O-*C*H_2); 108,91 (*C*-CN); 115,81 (C-*C*N); 124,22 (C_5 aromat.); 125,11 (C_4 aromat.); 130,61 (C_6 aromat.); 134,74 (C_3 aromat.); 141,83 (C_2 aromat.); 147,69 (*C*H=C); 151,07 (C_1 aromat.); 153,26 (C=O [Urethan]); 162,79 (C=O [Amid]); 171,20 (C=O [Ester])

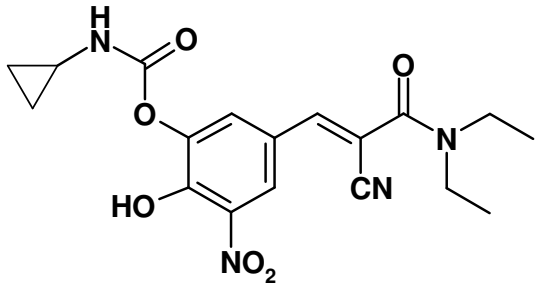
HPLC: R_t: 15,27 min (95%, Methode 2)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 433
$[M-1]^-$ gef.: 433

$C_{19}H_{22}N_4O_8$ [434,41]

* Das Signal der Estercarbonylgruppe ist under der Resonanz des Urethans verborgen.

(E)-N-Cyclopropylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-13**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Cyclopropylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (1:1).

Ausbeute: 122 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 132,8°C

IR: 2213 cm^{-1} (C≡N); 1752 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,69 (s, 2H, cyclopropyl-C*H*$_2$); 0,83 (d, *J* = 5,84 Hz, 2H, cyclopropyl-C*H*$_2$); 1,27 (s (br), 6H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 2,73 (s (br), 1H, cyclopropyl-C*H*); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$-CH$_3$); 5,43 (s, 1H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 1H, O*H*)

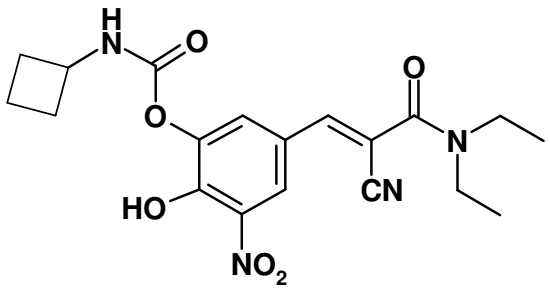
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,01 + 14,03 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 23,90 (cyclopropyl-*C*H$_2$); 30,12 (NH-*C*H); 41,45 + 43,82 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 108,76 (*C*-CN); 115,82 (C-*C*N); 124,16 (C_5 aromat.); 124,93 (C_4 aromat.); 130,70 (C_6 aromat.); 134,70 (C_3 aromat.); 141,91 (C_2 aromat.); 147,72 (*C*H=C); 151,16 (C_1 aromat.); 153,87 (C=O [Urethan]); 162,86 (C=O [Amid])

HPLC: R_t:15,82 min (96%, Methode 1)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 387
$[M-1]^-$ gef.: 387

$C_{18}H_{20}N_4O_6$ [388,38]

(E)-*N*-Cyclobutylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-14**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Cyclobutylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Gradienten (Ethylacetat/ n-Hexan 1:1 → 2:1).

Ausbeute: 118 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 141,0 °C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1744 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1637 cm^{-1} + 1620 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,72 (m, 2H, cyclobutyl-CH_2); 2,01 (m, 2H, cyclobutyl-CH_2); 2,41 (m, 2H, cyclobutyl-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 4,24 (m, 1H, NH-C*H*); 5,37 (d, *J* = 7,63 Hz, 1H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat); 10,95 (s (br), 1H, O*H*)

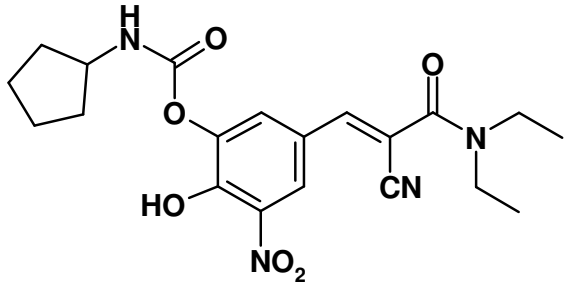
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
14,54 + 12,91 (N-CH_2-*C*H_3); 15,25 + 30,12 + 31,56 (cyclobutyl-*C*H_2); 41,37 + 43,75 (N-*C*H_2); 47,08 (cyclobutyl-*C*H); 108,72 (*C*-CN); 115,83 (C-*C*N); 124,13 (C_5 aromat.); 124,93 (C_4 aromat.); 130,73 (C_6 aromat.); 134,70 (C_3 aromat.); 141,96 (C_2 aromat.); 147,77 (*C*H=C); 151,24 (C_1 aromat.); 152,08 (C=O [Urethan]); 162,87 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 17,40 min (97%, Methode 1)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 401
$[M-1]^-$ gef.: 401

$C_{19}H_{22}N_4O_6$ [402,41]

(E)-N-Cyclopentylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-15**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Cyclopentylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Aufreinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 62 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 137,6°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1740 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1637 cm^{-1} + 1621 cm^{-1} (C=O [Amid])

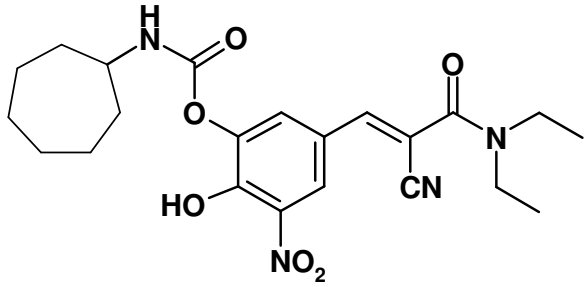
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,50-1,79 + 2,01-2,09 (m, 8H, cyclopentyl-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 4,06 (m, *J* = 7,12 Hz, 1H, NH-C*H*); 5,17 (d, *J* = 7,12 Hz, 0,8H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,14 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s, 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,52 + 13,69 (N-CH_2-*C*H_3); 23,57 + 33,04 (cyclopentyl-*C*H_2); 40,80 + 43,37 (N-*C*H_2); 53,41 (cyclopentyl-*C*H); 108,32 (*C*-CN); 115,39 (C-*C*N); 123,72 (C_5 aromat.); 124,33 (C_4 aromat.); 130,30 (C_6 aromat.); 134,29 (C_3 aromat.); 141,67 (C_2 aromat.); 147,31 (*C*H=C); 150,80 (C_1 aromat.); 152,28 (C=O [Urethan]); 162,45 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 18,27 min (97%, Methode 2)

$C_{20}H_{24}N_4O_6$ [416,44]

(E)-*N*-Cycloheptylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-16**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Cycloheptylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 190 mg, zitronengelbes, amorphes Pulver

Smp.: 152,2°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1740 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} + 1621 cm^{-1} (C=O [Amid])

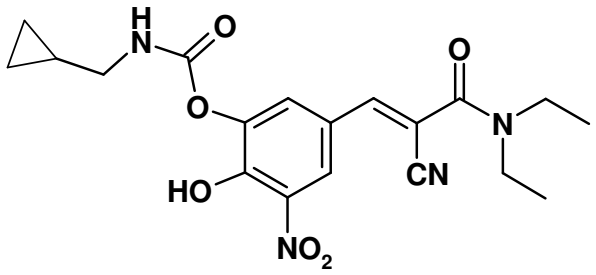
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,48-1,71 + 2,02-2,08 (m, 12H, cycloheptyl-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 3,77 (s (br), 1H, NH-C*H*); 5,17 (d, *J* = 8,39 Hz, 0,8H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s, 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,48 + 13,70 (N-CH_2-*C*H_3); 23,87 + 27,97 + 35,03 (cycloheptyl-*C*H_2); 40,83 + 45,53 (N-*C*H_2); 52,94 (cycloheptyl-*C*H); 108,30 (*C*-CN); 115,39 (C-*C*N); 123,72 (C_5 aromat.); 124,29 (C_4 aromat.); 130,31 (C_6 aromat.); 134,27 (C_3 aromat.); 141,71 (C_2 aromat.); 147,32 (*C*H=C); 150,80 (C_1 aromat.); 151,87 (C=O [Urethan]); 162,44 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 20,23 min (95%, Methode 2)

$C_{22}H_{28}N_4O_6$ [444,49]

(E)-N-Cyclopropylmethylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-17**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Cyclopropylmethylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus wenig Ethylacetat.

Ausbeute: 60 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 132,5°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1744 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} + 1622 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
0,29 (d, *J* = 4,07 Hz, 2H, cyclopropyl-C*H*$_2$); 0,58 (d, *J* = 7,12 Hz, 2H, cyclopropyl-C*H*$_2$); 1,07 (s (br), 1H, cyclopropyl-C*H*); 1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,18 (t, *J* = 6,35 Hz, 2H, NH-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$-CH_3); 5,34 (s, 0,8H, N*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (s, 1H, aromat.); 8,43 (s, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
3,41 (cyclopropyl-CH_2); 10,80 (*C*H); 12,63 + 13,68 (N-CH_2-*C*H_3); 40,87 + 43,42 (N-*C*H_2); 46,52 (O-*C*H_2); 108,41 (*C*-CN); 115,41 (C-*C*N); 123,78 (C_5 aromat.); 124,44 (C_4 aromat.); 130,34 (C_6 aromat.); 134,33 (C_3 aromat.); 141,68 (C_2 aromat.); 147,32 (*C*H=C); 150,82 (C_1 aromat.); 152,79 (C=O [Carbamat]); 162,45 (C=O [Amid])

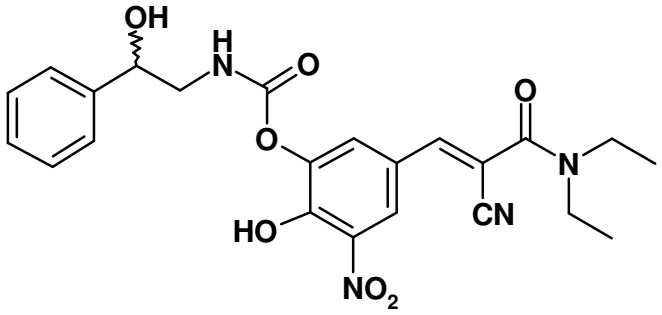
HPLC: R_t: 17,22 min (97%, Methode 1)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 401
$[M-1]^-$ gef.: 401

Ber. [%]:	C	56,71	H	5,51	N	13,92
Gef. [%]:	C	56,66	H	5,66	N	13,86

$C_{19}H_{22}N_4O_6$ [402,41]

(E)-(*R*/*S*)-*N*-(2-Hydroxy-2-phenylethyl)-carbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethyl-amino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-18**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und (R/S)-2-Hydroxy-2-phenylethylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 50 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 111,3 °C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1744 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1621 cm^{-1} (C=O [Amid])

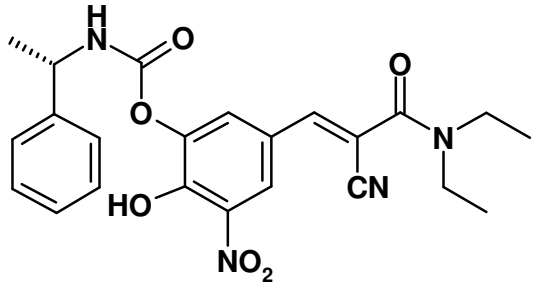
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,39 (s, 0,9H, CH-O*H*); 3,40-3,46 + 3,65-3,70 (m, 1+1H, NH-CH_2); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 4,95 (m, 1H, C*H*-OH); 5,70 (t, *J* = 6,62 Hz, 0,9H, N*H*); 7,34 (m, 1H, aromat.); 7,41 (m, 4H, aromat.); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,20 Hz, 1H, aromat.); 8,43 (d, *J* = 2,21 Hz, 1H, aromat); 10,95 (s (br), 0,7H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,52 + 13,71 (N-CH_2-*C*H_3); 40,91 + 43,48 (N-*C*H_2); 48,71 (NH-*C*H_2); 73,07 (*C*H_2-OH); 108,24 (*C*-CN); 115,37 (C-*C*N); 123,70 (C_5 aromat.); 124,51 (C_4 aromat.); 125,90 + 128,24 + 128,1 (Phenyl-*C*H); 130,27 (C_6 aromat.); 134,31 (C_3 aromat.); 141,16 (C_2 aromat.); 141,50 (Phenyl-*C*); 147,36 (*C*H=C); 150,67 (C_1 aromat.); 153,41 (C=O [Urethan]); 162,52 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 16,49 min (93%, Methode 2)

$C_{23}H_{24}N_4O_7$ [468,47]

(E)-(*R*/*S*)-*N*-(Phenylethyl)carbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-19**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und (R/S)-Phenylethylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 37 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 139,2°C

IR: 2213 cm^{-1} (C≡N); 1744 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} (C=O [Amid])

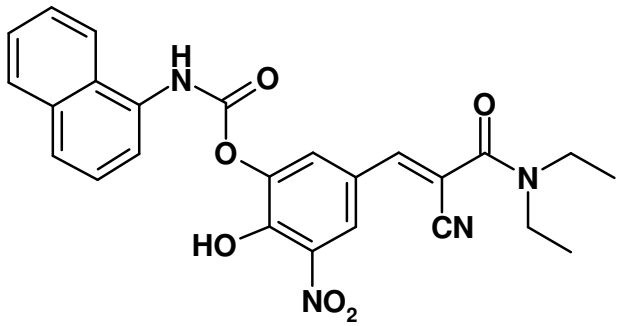
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,61 (d, *J* = 6,86 Hz, 3H, CH-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 4,92 (m, 1H, NH-C*H*); 5,52 (d, *J* = 7,89 Hz, 0,8H, N*H*); 7,29-7,34 (m, 15H, aromat.); 7,38 + 7,39 (s, 4H, Phenyl-C*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,12 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,43 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat); 10,94 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,04 + 14,31 (N-CH_2-*C*H_3); 22,50 (CH-*C*H_3); 41,29 + 42,64 (N-*C*H_2); 51,84 (NH-*C*H); 108,82 (*C*-CN); 115,81 (C-*C*N); 124,15 (C_5 aromat.); 124,86 (C_4 aromat.); 126,45 (phenyl-*C*H); 128,18 (phenyl-*C*H); 129,27 (phenyl-*C*H); 130,77 (C_6 aromat.); 134,69 (C_3 aromat.); 139,83 (phenyl-*C*); 141,96 (C_2 aromat.); 147,72 (*C*H=C); 151,17 (C_1 aromat.); 157,13 (C=O [Urethan]); 162,88 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 19,04 min (96%, Methode 2)

$C_{23}H_{24}N_4O_6$ [452,47]

(E)-*N*-Naphtylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **5-20**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Naphthylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 69 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 164,2°C

IR: 2205 cm^{-1} (C≡N); 1753 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1643 cm^{-1} (C=O [Amid])

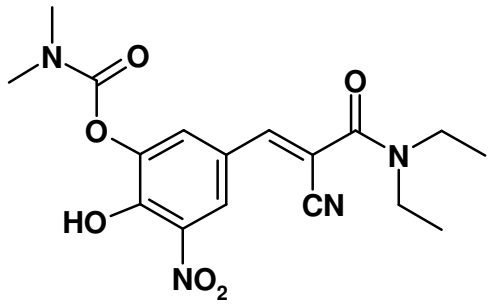
^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 7,49-7,63 (m, 5H, aromat.); 7,75 (d, *J* = 7,56 Hz, 1H, N*H*); 7,90 (s, 1H, C*H*=C); 7,92 (s, 1H, aromat.); 8,02 (s, 1H, aromat.); 8,25 (s, 1H, aromat.); 8,46 (d, *J* = 1,98 Hz, 1H, aromat.);11,03 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,63 + 13,71 (N-CH_2-*C*H_3); 40,95 + 43,46 (N-*C*H_2); 108,39 (*C*-CN); 115,40 (C-*C*N); 119,69 + 120,53 (naphtyl-*C*H); 123,76 (C_5 aromat.); 124,70 (C_4 aromat.); 125,70 + 126,06 + 126,31 + 126,64 + 128,74 (naphtyl-*C*H); 130,25 (C_6 aromat.); 131,44 (naphtyl-*C*H); 134,09 (naphtyl-*C*); 134,29 (C_3 aromat.); 141,27 (C_2 aromat.); 147,25 (*C*H=C); 150,63 (C_1 aromat.); 150,99 (C=O [Urethan]); 162,43 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 19,53 min (95%, Methode 2)

$C_{25}H_{22}N_4O_6$ [474,48]

(E)-N,N-Dimethylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **6-1**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Dimethylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 69 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 99,7°C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1776 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1628 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,05 (s, 3H, N-CH_3); 3,17 (s, 3H, N-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,41 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,96 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,93 + 14,54 (N-CH_2-*C*H_3); 37,44 + 37,12 (N(*C*H_3)$_2$); 41,32 + 43,93 (N-*C*H_2); 108,66 (*C*-CN); 115,86 (C-*C*N); 124,16 (C_5 aromat.); 124,95 (C_4 aromat.); 130,66 (C_6 aromat.); 134,67 (C_3 aromat.); 142,64 (C_2 aromat.); 147,51 (*C*H=C); 151,17 (C_1 aromat.); 153,65 (C=O [Urethan]); 162,88 (C=O [Amid])

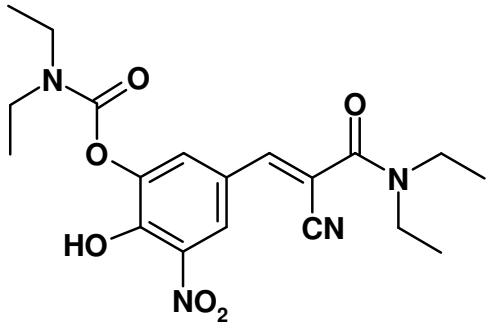
HPLC: R_t: 16,01 min (93%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 376
[M+] gef.: 376

Ber. [%]:	C	54,25	H	5,36	N	14,89
Gef. [%]:	C	54,20	H	5,49	N	14,53

$C_{17}H_{20}N_4O_6$ [376,37]

(E)-*N,N*-Diethylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **6-2**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Diethylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Gradienten (Ethylacetat/n-Hexan 1:1 → 2:1).

Ausbeute: 76 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 197,1 °C

IR: 2200 cm^{-1} (C≡N); 1715 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1633 cm^{-1} + 1615 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,23 (t, *J* = 7,13 Hz, 3H, N-CH_2-C*H*$_3$ [Carbamat]); 1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$ [Entacapon]); 1,31 (t, *J* = 7,13 Hz, 3H, N-CH_2-C*H*$_3$ [Carbamat]); 3,41 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, N-C*H*$_2$-CH_3 [Carbamat]); 3,50 (s (br), 2+4H, N-C*H*$_2$–CH_3 [Entacapon + Carbamat]); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,04 Hz, 1H, aromat); 10,95 (s, 1H, O*H*)

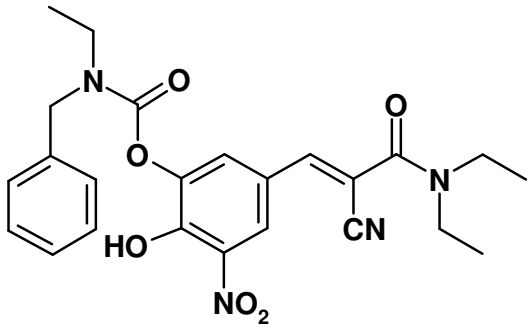
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,56 + 13,76 (N-CH_2-*C*H_3 [Entacapon]); 13,24 + 13,98 (N-CH_2-*C*H_3); 40,85 + 43,36 (N-*C*H_2-CH_3 [Entacapon]); 42,32 + 42,71 (N-*C*H_2-CH_3); 108,25 (*C*-CN); 115,46 (C-*C*N); 123,72 (C_5 aromat.); 124,32 (C_4 aromat.); 130,37 (C_6 aromat.); 134,28 (C_3 aromat.); 142,31 (C_2 aromat.); 147,43 (*C*H=C); 150,86 (C_1 aromat.); 152,67 (C=O [Urethan]); 162,50 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 18,58 min (96%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 404
[M+] gef.: 404

$C_{19}H_{24}N_4O_6$ [404,43]

(E)-*N*-Benzyl-*N*-ethylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **6-3**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und *N*-Benzyl-*N*-ethylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 75mg, orangefarbenes, amorphes Pulver

Smp.: 139,4°C

IR: 2209 cm^{-1} (C≡N); 1715 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1633 cm^{-1} + 1619 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,25 (s (br), 9H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 6H, N-C*H*$_2$-CH_3); 4,58 + 4,71 (2s, 2H, N-C*H*$_2$); 7,31-7,40 (m, 5H, Phenyl-C*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,44 (s, 1H, aromat); 10,92 (s (br), 0,8H, O*H*)

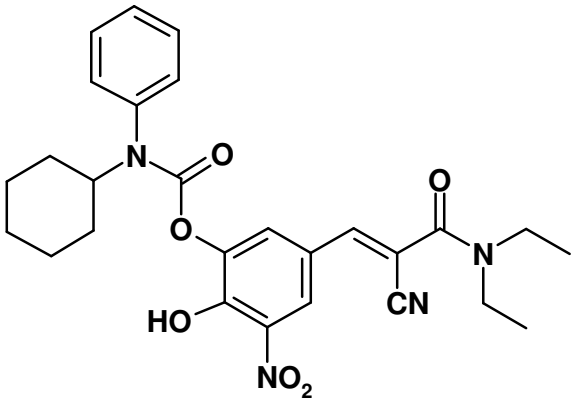
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,60, 13,35 + 14,11 (N-CH_2-*C*H_3); 40,94 + 42,14 + 43,31 (N-*C*H_2); 50,87 (NH-CH_2); 108,35 (*C*-CN); 115,46 (C-*C*N); 123,75 (C_5 aromat.); 124,42 (C_4 aromat.); 127,46 (phenyl-*C*H); 127,72 (phenyl-*C*H); 128,74 (phenyl-*C*H); 130,33 (C_6 aromat.); 134,34 (C_3 aromat.); 136,97 (phenyl-*C*); 142,31 (C_2 aromat.); 147,35 (*C*H=C); 150,82 (C_1 aromat.); 153,67 (C=O [Urethan]); 162,49 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 20,88 min (100%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 466
[M+] gef.: 466

$C_{24}H_{26}N_4O_6$ [466,50]

(E)-*N*-Cyclohexyl-*N*-phenylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **6-4**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und *N*-Cyclohexylanilin (q.s.) unter Basenkatalyse (TEA) nach **AAV 9**. Die Aufreinigung erfolgt durch mehrfaches Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan.

Ausbeute: 72 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 190,2°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1725 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1632 cm^{-1} + 1616 cm^{-1} (C=O [Amid])

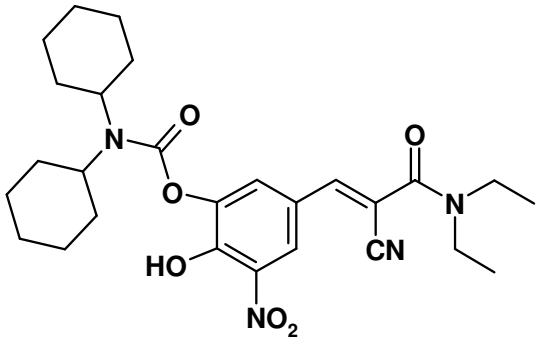
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,13-1,40 (m, 12H, N-CH_2-C*H*$_3$ + cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,65-2,05 (m, 4H, cyclohexyl-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$-CH_3); 4,20 (s (br), 1H, N-C*H*); 7,20-7,48 (m, 5H, phenyl-C*H*); 7,52 (s, 1H, C*H*=C); 8,02 (s, 1H, aromat.); 8,37 (s, 1H, aromat); 10,96 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,78 + 16,11 (N-CH_2-*C*H_3); 25,16 (cyclohexyl-*C*H_2); 25,62 (cyclohexyl-*C*H_2); 26,17 (cyclohexyl-*C*H_2); 29,54 (cyclohexyl-*C*H_2); 31,94 (cyclohexyl-*C*H_2); 41,67 + 43,89 (N-*C*H_2); 58,59 (N-*C*); 108,53 (*C*-CN); 115,83 (C-*C*N); 124,08 (C_5 aromat.); 124,79 (C_4 aromat.); 128,51 (phenyl-*C*H); 129,32 (phenyl-*C*H); 129,96 (phenyl-*C*H); 130,17 (C_6 aromat.); 134,57 (C_3 aromat.); 138,33 (phenyl-*C*); 142,76 (C_2 aromat.); 147,78 (*C*H=C); 151,14 (C_1 aromat.); 156,11 (C=O [Urethan]); 162,90 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 23,04 min (94%, Methode 2)

$C_{27}H_{30}N_4O_6$ [506,56]

(E)-N,N-Dicyclohexylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **6-5**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Dicyclohexylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat/n-Hexan (2:1).

Ausbeute: 111 mg, orangefarbene Kristalle

Smp.: 171,4°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1716 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,08-1,41 (m, 12H, N-CH_2-C*H*$_3$+ cyclohexyl-C*H*$_2$); 1,60-1,97 (m, 14H, cyclohexyl-CH_2); 3,50 (s (br), 4+2H, N-C*H*$_2$-CH_3 + N-C*H*); 7,56 (s, 1H, C*H*=C); 8,12 (d, *J* = 2,28 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,94 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,58 + 13,72 (N-CH_2-*C*H_3); 25,36 + 26,12 + 26,23 + 30,31 + 31,42 (cyclohexyl-*C*H_2); 40,88 + 43,42 (N-*C*H_2); 56,36 + 56,53 (N-*C*H); 108,08 (*C*-CN); 115,48 (C-*C*N); 123,66 (C_5 aromat.); 124,11 (C_4 aromat.); 130,39 (C_3 aromat.); 134,25 (C_6 aromat.); 142,40 (C_2 aromat.); 147,51 (C_1 aromat.); 150,26 (*C*H=C); 152,26 (C=O [Urethan]); 162,55 (C=O [Amid])

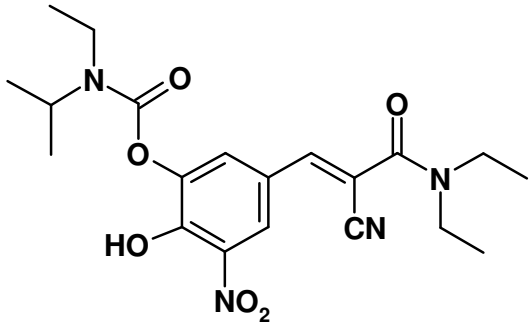
HPLC: R_t: 25,48 min (96%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 512
[M+] gef.: 512

Ber. [%]:	C	63,26	H	7,08	N	10,93
Gef. [%]:	C	62,89	H	7,13	N	10,82

$C_{27}H_{36}N_4O_6$ [512,61]

(E)-*N*-Ethyl-*N*-isopropylcarbamidsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **6-6**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und *N*-Ethyl-*N*-isopropylamin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat.
Ausbeute: 171 mg, hellgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 190,0 °C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1738 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1636 cm^{-1} + 1621 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (d, *J* = 6,87 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 1,29 (s (br), 9H, N-CH$_2$-C*H*$_3$); 1,32 (d, *J* = 7,12 Hz, 3H, CH-C*H*$_3$); 3,33 (q, *J* = 7,38 Hz, 1H, N-C*H*$_2$-CH$_3$ [Carbamat]); 3,40 (q, *J* = 7,38 Hz, 1H, N-C*H*$_2$-CH$_3$ [Carbamat]); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$-CH$_3$); 4,28-4,45 (m, 1H, C*H*); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,15 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,42 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,95 (s (br), 0,8H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
16,09 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 20,89 (NH-CH(*C*H$_3$)$_2$); 21,48 (N-CH$_2$-*C*H$_3$); 38,47 (N-*C*H$_2$); 49,32 (N-*C*H); 108,60 (*C*-CN); 115,89 (C-*C*N); 124,14 (C$_5$ aromat.); 124,72 (C$_4$ aromat.); 130,72 (C$_3$ aromat.); 130,78 (C$_6$ aromat.); 134,66 (C$_2$ aromat.); 147,85 (C$_1$ aromat.); 147,89 (*C*H=C); 151,30 (C=O [Urethan]); 162,92 (C=O [Amid])

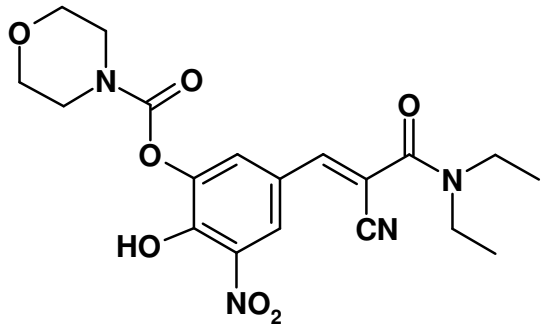
HPLC: R_t: 19,55 min (96%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 418
[M+] gef.: 418

Ber. [%]:	C	57,41	H	6,26	N	13,39
Gef. [%]:	C	57,30	H	6,38	N	13,35

$C_{20}H_{26}N_4O_6$ [418,45]

(E)-*N*-Morpholinocarbonsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyl]ester **6-7**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Morpholin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 271 mg, blassgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 159,6°C

IR: 2213 cm^{-1} (C≡N); 1724 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1635 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2-CH_3); 3,60 (s, 2H, N-CH_2-CH_2); 3,75 (s, 2H, N-CH_2-CH_2); 3,79 (s (br), 4H O-CH_2-CH_2); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,18 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat.); 8,41 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s, 1H, O*H*)

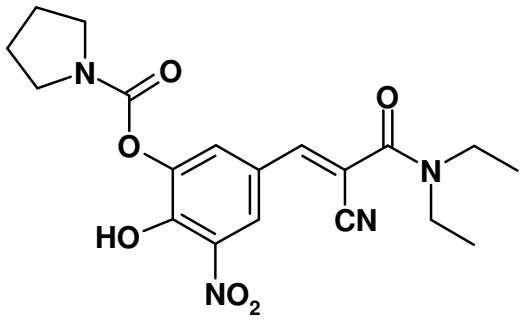
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,99 (N-CH_2-*C*H_3); 42,16 (N-*C*H_2-CH_3); 44,94 + 45,68 (N-*C*H_2); 66,84 + 66,94 (O-*C*H_2); 108,82 (*C*-CN); 115,84 (C-*C*N); 124,24 (C_5 aromat.); 125,16 (C_4 aromat.); 130,47 (C_6 aromat.); 134,67 (C_3 aromat.); 142,36 (C_2 aromat.); 147,74 (*C*H=C); 150,98 (C_1 aromat.); 155,11 (C=O [Urethan]); 162,81 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 15,60 min (96%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 418
[M+] gef.: 418

$C_{19}H_{22}N_4O_7$ [418,41]

(E)-*N*-Pyrrolidinocarbonsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyl]ester **6-8**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Pyrrolidin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat/ n-Hexan (4:1:1).

Ausbeute: 175 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 167,4 °C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1724 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1639 cm^{-1} + 1616 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,99 (m, 4H, pyrrolidin-CH_2); 3,51 (t, J = 6,61 Hz, 4+2H, N-CH_2-CH_3 + N-CH_2 [pyrrolidin]); 3,64 (t, J = 6,61 Hz, 2H, N-CH_2 [pyrrolidin]); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,17 (d, J = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,40 (d, J = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,97 (s (br), 1H, O*H*)

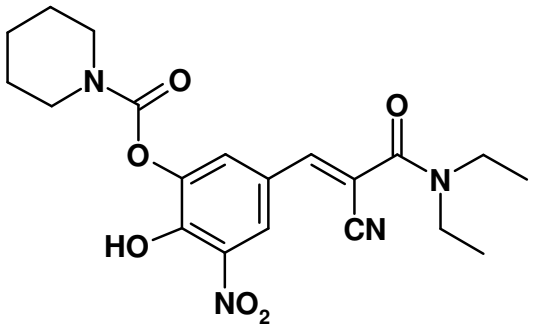
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
13,01 (N-CH_2-*C*H_3); 25,40 + 26,21 (pyrrolidin-*C*H_2); 47,06 + 47,23 (pyrrolidin-*C*H_2); 43,74 (N-*C*H_2); 108,60 (*C*-CN); 115,88 (C-*C*N); 124,14 (C_5 aromat.); 124,90 (C_4 aromat.); 130,70 (C_3 aromat.); 130,73 (C_6 aromat.); 134,68 (C_2 aromat.); 147,85 (C_1 aromat.); 147,87 (*C*H=C); 151,27 (C=O [Urethan]); 162,91 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 17,29 min (95%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 402
[M+] gef.: 402

$C_{19}H_{22}N_4O_6$ [402,41]

(E)-N-Piperidinocarbonsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitro-phenyl]ester **6-9**



Aus *(E)*-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-[4-nitro-2-oxo-benzo-1,3-dioxol-6-yl]-propenamid (**4**) und Piperidin (q.s.) nach **AAV 9**. Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren mit Ethylacetat/n-Hexan in der Hitze.

Ausbeute: 133 mg, gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 174,4 °C

IR: 2210 cm^{-1} (C≡N); 1713 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1628 cm^{-1} + 1616 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,27 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 1,68 (s (br), 6H, piperidin-C*H*$_2$); 3,50 (s (br), 4+2H, N-C*H*$_2$-CH_3 + N-C*H*$_2$ [piperidin]); 3,67 (s, 2H, N-C*H*$_2$ [piperidin]); 7,57 (s, 1H, C*H*=C); 8,13 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,41 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,96 (s (br), 1H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
16,98 (piperidin-*C*H$_2$); 24,61 (piperidin-*C*H$_2$); 46,01 + 46,43 (piperidin-CH_2); 108,63 (*C*-CN); 115,87 (C-*C*N); 120,84 (C_5 aromat.); 124,85 (C_4 aromat.); 130,66 (C_6 aromat.); 135,29 (C_3 aromat.); 139,25 (C_2 aromat.); 144,24 (C_1 aromat.); 147,86 (*C*H=C); 156,51 (C=O [Urethan]); 160,78 (C=O [Amid])

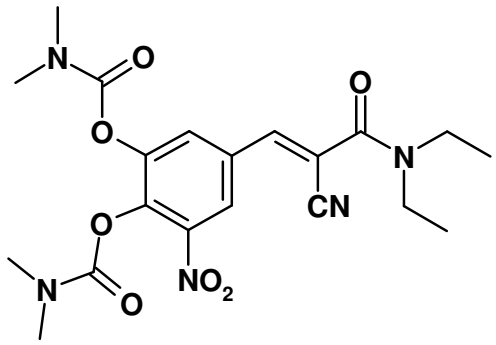
HPLC: R_t: 18,80 min (93%, Methode 1)

EI-MS: [M+] ber.: 416
[M+] gef.: 416

Ber. [%]:	C	57,69	H	5,81	N	13,45
Gef. [%]:	C	57,47	H	5,95	N	13,42

$C_{20}H_{24}N_4O_6$ [416,44]

(E)-Bis(*N,N*-dimethylcarbamidsäure)-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-3-nitro-1,2-phenylen]ester **7-1**



305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 243 mg (1,5 mmol) Viehe-Salz werden in 5 ml Dichlormethan oder Tetrahydrofuran gelöst und eine Stunde unter Rückflusskühlung gekocht. Nach Abkühlen der Lösung wird der Ansatz mit 36 mg (2 mmol) Wasser versetzt und nach zehnminütigem Rühren bei Raumtemperatur je einmal mit kalter 2 M Salzsäure, gesättigter $NaHCO_3$-Lösung und gesättigter Kochsalzlösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet, im Vakuum eingeengt und an der Ölpumpe getrocknet.

Alternativ nach **AAV 7** aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 1,07 g (10 mmol) Dimethylcarbamoylchlorid. Die Reinigung erfolgt mittels Flash-Chromatographie zur *E*/*Z*-Isomeren-Trennung mit Ethylacetat/Petrolether 4:1.

Ausbeute: 22% (100 mg); gelblichweißes, amorphes Pulver (*E*-Isomer)
15% (65 mg), gelblichweißes, amorphes Pulver (*Z*-Isomer)

Die analytischen Daten beziehen sich auf das E-Isomer:

Smp.: 107,8 °C, Lit.[174]: 113,5 °C

IR: 2206 cm^{-1} (C≡N); 1738 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1651 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,26 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 3,04 (s, 6H, N-CH_3); 3,11 (s, 3H, N-CH_3); 3,12 (s, 3H, N-CH_3); 3,49 + 3,51 (s (br), 2 + 2H, N-CH_2); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,16 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,30 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat)

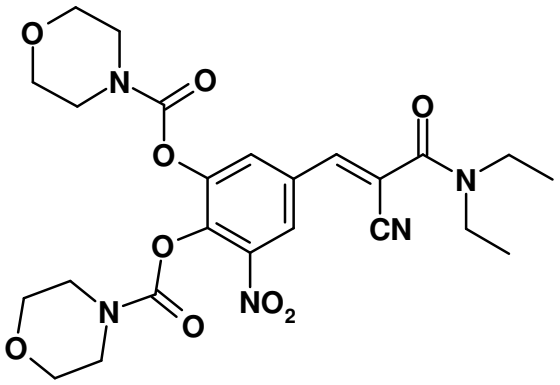
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,17 + 13,83 (N-CH_2-CH_3); 36,47 + 36,71 + 36,98 + 37,12 ($N(CH_3)_2$); 40,10 + 43,83 (N-CH_2-CH_3); 112,41 (*C*-CN); 116,10 (C-*C*N); 122,59 (C_4 aromat.); 129,08 (C_6 aromat.); 129,53 (C_5

aromat.); 139,13 (C_3 aromat.); 142,18 (*C*H=C); 143,26 (C_2 aromat.); 146,02 (C_1 aromat.); 152,17 + 152,67 (C=O [Urethan]); 160,59 (C=O [Amid])

HPLC: R_t: 16,95 min (98%, Methode 2)

$C_{20}H_{25}N_5O_7$ [447,45]

(E)-Bis(*N*-Morpholinocarbonsäure)-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-3-nitro-1,2-phenylenester] **7-2**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon und 596 mg (4 mmol) Morpholinocarbamoylchlorid nach **AAV 7**[*]. Der Ansatz wurde mittels Flash-Säulenchromatographie mit einem Ethylacetat/Petrolether-Gradienten (4:1 → 10:1) gereinigt.

Ausbeute: 16% (85 mg), hellgelbes, amorphes Pulver (E-Isomer)
11% (58 mg), hochviskoses Öl (Z-Isomer)

Die analytischen Daten beziehen sich auf das E-Isomer:

Smp.: 69,6°C, Lit.[174]: 73°C

IR: 2216 cm^{-1} (C≡N); 1734 cm^{-1} (C=O [Urethan]); 1654 cm^{-1} (C=O [Amid]); 1647 cm^{-1} (C=O [Amid])

UV/Vis: λ_{max}: 227 nm, 275 nm

^{1}H-NMR (400MHz, CDCl*3*): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-C*H*$_3$); 3,50 (s (br), 4H, N-C*H*$_2$); 3,58 (s, 4H, N(C*H*$_2$)$_2$); 3,68 (s, 4H, N(C*H*$_2$)$_2$); 3,77 (s, 8H, O(C*H*$_2$)$_2$); 7,61 (s, 1H, C*H*=C); 8,18 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,33 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,19 + 13,81 (N-CH_2-*C*H_3); 40,09 + 43,38 (N-*C*H_2-CH_3); 44,52 + 44,84 + 45,15 + 45,49 (N-*C*H_2-CH_2); 66,42 + 66,56 (O-CH_2); 110,78 (*C*-CN); 115,94 (C-*C*N); 123,03 (C_4 aromat.); 129,16 (C_6 aromat.); 129,95 (C_5 aromat.); 139,49 (C_3 aromat.); 141,93 (*C*H=C); 145,78 (C_2 aromat.); 146,48 (C_1 aromat.); 150,60 + 151,44 (C=O [Urethan]); 160,49 (C=O [Amid])

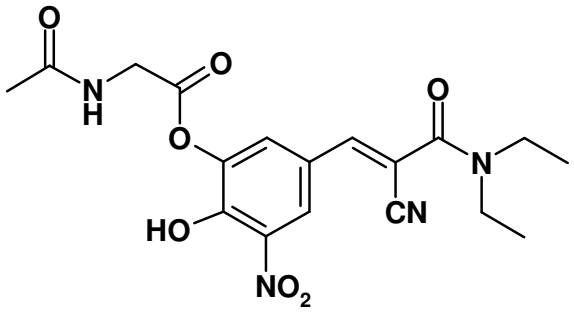
[*] Dem Ansatz werden zusätzlich 10 mg DMAP zur Katalyse hinzugegeben.

HPLC: R_t: 16,37 min (96%, Methode 2)

$C_{24}H_{29}N_5O_9$ [531,53]

5.3.3 Verbindungen aus Kapitel 3.3

(E)-N-Acetylglycin-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **8-1**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 234 mg (3 mmol) Acetylglycin **AAV 10** oder gemäß:

234 mg (3 mmol) Acetylglycin werden in 10 ml eines 1:1-Gemischs von Dichlormethan und Ethylacetat dispergiert. Unter Eiskühlung wird eine Lösung von 575 mg (3 mmol) 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid (EDC-HCl) in 20 ml Dichlormethan zugetropft. Nach einer Stunde wird eine Lösung von 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) in 10 ml Dichlormethan zugegeben und das Reaktionsgemisch eine weitere Stunde unter Eiskühlung und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung erfolgt nach Ausschütteln des Ansatzes mit 1 M Salzsäure und Wasser (je 30 ml), Trocknung der organischen Phase und Evaporierens durch Umkristallisieren aus Ethylacetat und Petrolether.

Ausbeute: 40% (167 mg) (**AAV 10**); gelbes, amorphes Pulver bzw
33,7% (136 mg) (EDC-HCl),

Smp.: 124,6°C

IR: 2214 cm^{-1} (C≡N); 1777 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1651 cm^{-1} + 1608 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,25 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 2,10 (s, 3H, CH_3-C=O); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,41 (d, *J* = 5,59 Hz, 2H, NH-CH_2); 6,15 (s (br), 1H, N*H*); 7,58 (s, 1H, C*H*=C); 8,07 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,49 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,91 (s (br), 1H, OH)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,60 + 13,65 (N-CH_2-*C*H_3); 22,91 (*C*H_3-C=O); 41,13 + 43,42 (N-CH_2-CH_3); 41,14 (NH-*C*H_2); 108,85 (*C*-CN); 115,31 (C-*C*N); 123,93 (C_5 aromat.); 124,98 (C_4 aromat.); 129,86 (C_6 aromat.); 134,55 (C_3 aromat.); 140,74 (C_2 aromat.); 146,98 (*C*H=C);

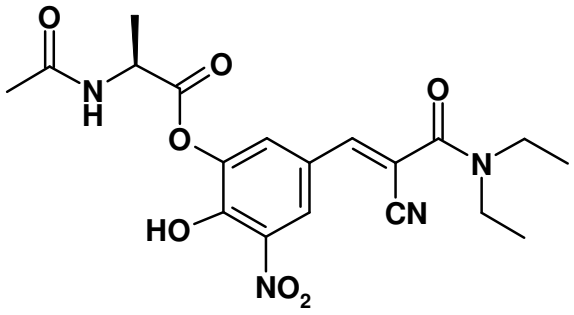
149,70 (C_1 aromat.); 162,26 (C=O [Amid]); 167,58 (C=O [Amid]); 170,59 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 2,80 min (88%, Methode 1)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 403
$[M-1]^-$ gef.: 403

$C_{18}H_{20}N_4O_7$ [404,38]

(E)-N-Acetyl-L-alanin-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ester **8-2**



Aus 305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 262 mg (2 mmol) *N*-Acetyl-L-alanin nach **AAV 10**

Ausbeute: 46,5% (188 mg), zitronengelbes, amorphes Pulver

Smp.: 130,8 °C

IR: 2212 cm^{-1} (C≡N); 1782 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1654 cm^{-1} + 1636 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,65 (d, *J* = 7,38 Hz, 3H, NH-CH-CH_3); 2,08 (s, 3H, CH_3-C=O); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,91 (m, *J* = 7,38 Hz, 1H, NH-C*H*); 6,06 (d, *J* = 6,87 Hz, 1H, N*H*); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,03 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,54 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,89 (s (br), 1H, OH)

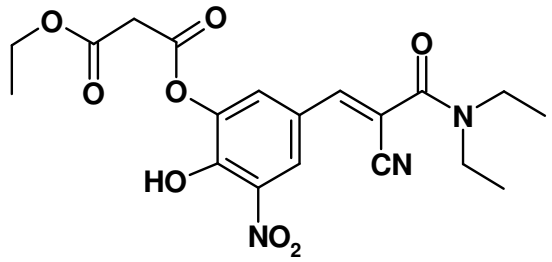
^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,51 + 13,54 (N-CH_2-*C*H_3); 18,23 (CH-*C*H_3); 23,04 (*C*H_3-C=O); 40,94 + 43,41 (N-CH_2-CH_3); 48,23 (NH-*C*H); 108,93 (*C*-CN); 115,30 (C-*C*N); 123,95 (C_5 aromat.); 124,72 (C_4 aromat.); 130,16 (C_6 aromat.); 134,57 (C_3 aromat.); 140,86 (C_2 aromat.); 147,05 (*C*H=C); 149,72 (C_1 aromat.); 162,26 (C=O [Amid]); 169,98 (C=O [Amid]); 170,57 (C=O [Ester])

HPLC: R_t: 9,69 min (98%, Methode 1)

ESI-MS: $[M-1]^-$ ber.: 417
$[M-1]^-$ gef.: 417

$C_{19}H_{22}N_4O_7$ [418,41]

(E)-Malonsäure-[5-(2-cyano-3-diethylamino-3-oxo-propenyl)-2-hydroxy-3-nitrophenyl]-ethylester **8-3**



305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 452 mg (3 mmol) Ethylmalonylchlorid werden in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst und langsam mit einer Lösung von Triethylamin in Dichlormethan versetzt. Sobald im Infrarotspektrum eine Bande bei 1791 cm^{-1} zu erkennen ist, wird das Triethylamin-HCl mit Unterdruck abfiltriert und der Ansatz mit 5%iger $NaHCO_3$-Lösung und Wasser ausgeschüttelt. Die getrocknete organische Phase wird im Vakuum eingeengt und das Rohprodukt aus Ethylacetat/n-Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 34% (141 mg), blassgelbes, amorphes Pulver

Smp.: 102,5°C

IR: 2208 cm^{-1} (C≡N); 1776 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1736 cm^{-1} (C=O [Ester]); 1635 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,29 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,34 (t, *J* = 7,12 Hz, 3H, O-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 3,71 (s, 2H, CH_2); 4,30 (q, *J* = 7,12 Hz, 2H, O-CH_2); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 8,10 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 8,44 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat); 10,93 (s (br), 0,8H, OH)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,52 + 13,54 (N-CH_2-*C*H_3); 14,09 (O-CH_2-*C*H_3); 40,69 + 43,40 (N-*C*H_2-CH_3); 40,99 (O=C-CH_2); 62,16 (O-*C*H_2); 108,87 (*C*-CN); 115,32 (C-*C*N); 123,93 (C_5 aromat.); 125,13 (C_4 aromat.); 129,92 (C_6 aromat.); 134,53 (C_3 aromat.); 140,82 (C_2 aromat.); 146,99 (*C*H=C); 149,91 (C_1 aromat.); 162,26 (C=O [Amid]); 163,75 + 165,48 (C=O [Ester])

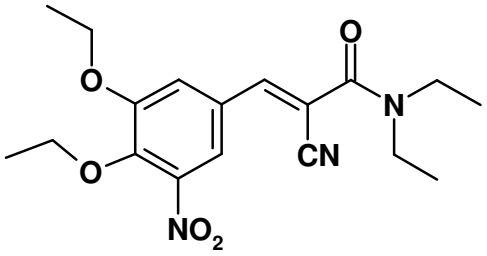
HPLC: R_t: 17,50 min (92%, Methode 2)

EI-MS: [M+] ber.: 419
[M+] gef.: 419

$C_{19}H_{21}N_3O_8$ [419,39]

5.3.4 Verbindungen aus Kapitel 3.5

(E)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-(3,4-diethoxy-5-nitrophenyl)-propenamid **13**



305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 384 mg (2 mmol) Tetraethylorthokohlensäureester werden in 5 ml trockenem Toluol gelöst und 2 h unter Rückfluß gekocht. Der Ansatz wird weitere 12 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend evaporiert. Die Säulenchromatographie mit Ethylacetat/n-Hexan 1:1 liefert drei Fraktionen, wobei die zuletzt eluierte das gewünschte Produkt enthält.

Ausbeute: 58% (210 mg), weiße Kristallnadeln

Smp.: 79,2°C

IR: 2203 cm^{-1} (C≡N); 1636 cm^{-1} (C=O [Amid])

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,42 (t, *J* = 7,13 Hz, 3H, O-CH_2-CH_3); 1,51 (t, *J* = 6,86 Hz, 3H, O-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,18 (q, *J* = 6,86 Hz, 1H, O-CH_2); 4,37 (q, *J* = 7,13 Hz, 1H, O-CH_2); 7,56 (s, 1H, CH=C); 7,58 (d, *J* = 2,29 Hz, 1H, aromat.); 7,87 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
12,50 + 13,69 (N-CH_2-CH_3); 14,60 + 15,45 (O-CH_2-CH_3); 40,76 + 43,57 (N-CH_2-CH_3); 65,46 + 71,05 (O-CH_2); 108,24 (C-CN); 115,34 (C_4 aromat.); 115,88 (C-CN); 119,35 (C_6 aromat.); 127,47 (C_5 aromat.); 144,90 (C_3 aromat.); 145,12 (C_2 aromat.); 148,42 (CH=C); 153,71 (C_1 aromat.); 162,58 (C=O [Amid])

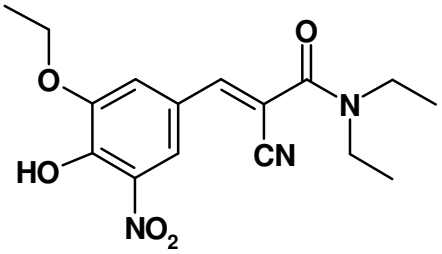
HPLC: R_t: 20,60 min (100%, Methode 2)

EI-MS: [M+] ber.: 361
[M+] gef.: 361

Ber. [%]:	C	59,82	H	6,41	N	11,63
Gef. [%]:	C	59,76	H	6,47	N	11,52

$C_{18}H_{23}N_3O_5$ [361,40]

(E)-2-Cyano-*N,N*-diethyl-3-(4-hydroxy-3-ethoxy-5-nitrophenyl)-propenamid **14**



305 mg (1 mmol) Entacapon (**1**) und 384 mg (2 mmol) Tetraethylorthokohlensäureester werden in ein Vial eingewogen und unter folgenden Bedingungen jeweils 5 min mit Mikrowellenstrahlung behandelt: T_{max}: 60 °C, P_{max}: 200 Watt, p_{max}: 18 bar, Druckluftkühlung und T_{max}: 115 °C, P_{max}: 200 Watt, p_{max}: 18 bar, Druckluftkühlung. Der Ansatz wird mit Diethylether aufgefüllt, im Vakuum eingeengt und säulenchromatographisch mit Ethylacetat/n-Hexan (2:1) gereinigt.

Ausbeute: 5% (16 mg), gelbes, amorphes Pulver

Smp.: 110,5 °C

IR: 2199 cm^{-1} (C≡N); 1681 cm^{-1} + 1650 cm^{-1} (C=O)

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
1,28 (s (br), 6H, N-CH_2-CH_3); 1,55 (t, *J* = 6,68 Hz, 3H, O-CH_2-CH_3); 3,50 (s (br), 4H, N-CH_2); 4,22 (q, *J* = 6,62 Hz, 2H, O-CH_2); 7,59 (s, 1H, C*H*=C); 7,59 (d, *J* = 2,03 Hz, 1H, aromat.); 8,00 (d, *J* = 1,78 Hz, 1H, aromat); 11,04 (s (br), 0,9H, O*H*)

^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm):
14,47 (O-CH_2-*C*H_3); 65,79 (O-*C*H_2); 107,31 (*C*-CN); 116,04 (C_4 aromat.); 116,49 (C-*C*N); 119,81 (C_6 aromat.); 123,80 (C_5 aromat.); 133,66 (C_3 aromat.); 148,77 (C_2 aromat.); 148,98 (*C*H=C); 149,93 (C_1 aromat.); 162,68 (C=O [Amid])

EI-MS: [M+] ber.: 333
[M+] gef.: 333

$C_{16}H_{19}N_3O_5$ [333,35]

5.4 Stabilitäts-, Freisetzungs- und Permeabilitätstests

Die Testungen der synthetisierten Prodrugs auf ihre Eigenschaften wurden von der Firma Schwarz BioSciences GmbH durchgeführt.

Die Bestimmung der Löslichkeit erfolgte in zwei unterschiedlichen Medien (0,1 N Salzsäure* und PBS-Puffer pH 7,4) nach der shake-flask-Methode. Ein Überschuss des festen Probenmaterials wurde dazu in ein definiertes Volumen des Medium überführt und bei 20 °C bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustands geschüttelt (24-48 h). Nach Filtration der gesättigten Lösung wurde die Konzentration mittels HPLC bestimmt. Die Löslichkeit wird in mg/ml angegeben.

Die Stabilitätstest wurden ebenfalls in den bereits erwähnten Medien durchgeführt und ergaben die Resistenz gegenüber chemischer Hydrolyse in Form der Halbwertzeit ($t_{1/2}$ in h). Zu diesem Zweck wurden die Testsubstanzen 12 h lang bei 37 °C mit den Medien inkubiert und anschließend die Konzentration des verbleibenden Prodrugs mittels HPLC bestimmt. Substanzen die eine Degradierung <20% erfuhren ($t_{1/2}$ >50 h), wurden als „stable“ eingestuft.

Zur Bestimmung der Freisetzung in humanem Plasma wurden 10 µl der verdünnten Lösung des Prodrugs (c = 250 µg/ml) bei 37 °C mit 500 µl humanem EDTA-Plasma für definierte Zeitintervalle (2, 5, 15, 30 und 60 min) inkubiert. Die enzymatische Degradierung wurde durch Zugabe von 500 µl kaltem Acetonitril unterbrochen und anschließend die Konzentrationen des Prodrugs sowie des freigesetzten Entacapon mittels HPLC (Alliance 2695 Seperations Module (Waters); Vorsäule: Discovery Cyano Cartridge 2 cm x 4,0 mm, 5 µm (Supelco); analytische Säule: Discovery Cyano HPLC Column, 15 cm x 4,0 mm, 5 µm (Supelco); UV-Detektion: 2487 Dual λ Absorbance Detector

* In einigen Fällen wurde aus Gründen der Löslichkeit eine 1:1-Mischung aus 0,1 N Salzsäure und Acetonitril verwendet.

(Waters)) quantifiziert. Die Bestimmung der nichtenzymatischen Hydrolyse erfolgte analog als Kontrolle in parallel angesetzten Proben mit Phosphatpuffer*. Die Ergebisse wurden in semilogarithmischer Darstellung in einem Peakfläche/Zeit-Diagramm aufgetragen und einer linearen Regression unterworfen. Die Halbwertzeit (in min) berechnet sich nach der Formel: $t_{1/2} = \log 2 \times b^{-1}$.

Die *in vitro*-Bestimmung der Halbwertzeit (Mensch) erfolgte durch Inkubation mit einer Lösung von humanen Lebermikrosomen, die darüber hinaus ein NADPH-regenerierendes System enthielt. Die Protein-Konzentration dieser Zubereitung betrugt 1 mg/ml, die der Testverbindungen 20 µmol/l. Innerhalb von 4 h nach Beginn der Inkubation erfolgte mehrfache Probennahme. Die Proben wurden zur Proteindenaturierung mit Acetonitril versetzt und mittels MS-gekoppelter HPLC (Säule: RP Amide Column, Ascentis; Gradientenelution mit Ammoniumacetat/ Ameisensäure/Acetonitril und Methanol) quantifiziert.

Die Permeationseigenschaften der Prodrugs wurden in einem *in vitro* Zellmodell ermittelt. Eine einfache Zellschicht von Caco-2-Zellen† trennt in diesem Modell die apikale (pH 6,5) von der basolateralen Seite (pH 7,4). Ermittelt wurde das Ausmaß der Permeation eines Prodrugs (c_0 = 20 µmol/l) innerhalb einer Stunde. Die quantitative Bestimmung des permeierten Anteils erfolgte mittels HPLC. Als Kontrollsubstanzen dienten Entacapon, ^{3}H-Propranolol (als Marker für die passive Permeabilität) und ^{3}H-Mannitol (zur Feststellung der Integrität der Zellschicht). Die letzteren Marker wurden per Szintillationszähler quantifiziert.

Das Ergebnis wird als scheinbarer Permeabilitätskoeffizient P_{app} (in 10^{-6} cm/s) angegeben.

* 8,9 g Na_2HPO_4 x 2 H_2O und 93,1 g Na_2EDTA x 2 H_2O in 1000 ml Wasser, pH 7,2

† Diese permanente Zelllinie stammt aus einem menschlichen Adenokarzinom. Sie eignet sich deshalb gut zur Simulation resorptiver Vorgänge, da ihre Zellen den Enterozyten der Dünndarmmukosa, die maßgeblich für die Aufnahme von Nahrungsbestandteilen und Xenobiotika aus dem Darm verantwortlich sind, sehr ähneln. Neben der morphologischen Polarisation und einem ausgeprägten Bürstensaum auf der apikalen Seite, besitzen die Caco-2-Zellen eine den humanen Enterozyten der Dünndarmzotten vergleichbare Enzymausstattung[215].

5.5 Ergebnisse der *in vitro* Versuche

	Stability in 0,1N HCl ($t_{1/2}$) [h]	Stability in PBS buffer (pH 7.4) ($t_{1/2}$) [h]	logD HPLC (pH 7,4)	Solubility in 0,1 N HCL [mg/mL]	Solubility in PBS buffer (pH 7.4) [mg/mL]
Entacapon	stable	stable	1,3	0,05	1,35
2-1	< 1,0	1,1	1,3	0,02	>1
2-2	4,3	< 1	1,0	0,06	0,41
2-3	6,4	1,8	1,2	< 0,01	0,21
2-4	12,8	3,0	1,1	0,01	0,85
2-5	8,3	< 1	2,0	0,15	0,12
2-6	3,0	4,1	1,6	0,15	0,28
2-7	15,5 (n=2)	4,8 (n=2)	(-)	0,047	2,7
2-8	28,9	8,3	1,9	(-)	0,07
2-9	23,1	7,2	(-)	(-)	0,01
2-10	2,7	23,1	1,0	0,003	0,95
2-11	36,1	7,7	(-)	(-)	0,007
2-12	6,8	11,6	1,4	0,02	0,53
2-13	19,3	6,8	1,9	< 0,01†	0,66/ 0,51†
2-14	stable	23,1	1,7	0,04	2,2
2-15	38,5	38,5	1,8	0,03	1,33
2-16	23,1	19,3	2,2	0,01	0,83
2-17	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-18	15,6	7,2	(-)	(-)	nd
2-19	16,5	4,1	1,0	0,08	1,75
2-20	< 1	< 1	1,7	< 0,01	0,03
2-21	12,8	4,8	1,9	< 0,01	0,27
2-22	**zu instabil für in vitro-Tests**				
2-23	stable*	18,5	(-)	(-)	(-)
2-24	<1	19,3	1,8	<0,01	0,81
2-25	4,8	27,9	2,1	<0,01	0,46
2-26	9,2	15,6	2,2	nd	0,11
2-27	7,8	21,4	2,6	0,01	0,12
2-28	11,1	14,2	2,7	<0,01	0,08
2-29	9,6	15,2	1,9	nd	0,34
2-30	2,5*	22,4	2,4	(-)	(-)
2-31	15,3	3,4	0,9	0,016	0,97
2-32	3,6*	< 1	(-)	(-)	(-)
2-33	3,9*	< 1	(-)	(-)	(-)

	Plasma Stability $t_{1/2}$ (undiluted human plasma)	Caco-2 permeability (10^{-6} cm/s)	Half-life [h] human	Half-life [h] rat	No. of metabolites (H/R)	Entacapone formation (H/R)
Entacapon	(-)	17	110	4	1 and 3	(-)
2-1	36 min	(-)	0,7	0,7	(-)	(-)
2-2	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-3	2,8 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-4	2,9 min	4,9	<0,1	0,2	(-)	(-)
2-5	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-6	9,1 min	(-)	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-7	4,0 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-8	(-)	7,7	<0,1	0,7	(-)	(-)
2-9	6,7 min	18	<0,1	0,4	(-)	(-)
2-10	13,4 min	31	0,1	3	3 and 4	nd
2-11	6,9 min	(-)	<0,1	0,1	(-)	(-)
2-12	7,7 min	24,3	<0,1	0,1	(-)	(-)
2-13	16,7 min	<5,1	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-14	27,6 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-15	4,0 min	22,4	0,6	0,3	(-)	(-)
2-16	49,9 min	nd	0,2	<0,1	(-)	(-)
2-17	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-18	88,8 min	(-)	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-19	2,6 min	8,5	<0,1	0,3	(-)	(-)
2-20	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-21	28,9 min	nd	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-22	zu instabil für in vitro-Tests					
2-23	15,7 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-24	38,4 min	45	0,1	0,1	(-)	(-)
2-25	81,4 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-26	88,4 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-27	76,2 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-28	167,9 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-29	14,8 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-30	54,1 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-31	3,7 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-32	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-33	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

	Stability in 0,1N HCl ($t_{1/2}$) [h]	Stability in PBS buffer (pH 7.4) ($t_{1/2}$) [h]	logD HPLC (pH 7,4)	Solubility in 0,1 N HCL [mg/mL]	Solubility in PBS buffer (pH 7.4) [mg/mL]
2-34	1,7	3	1,3	0,01	0,22
2-35	2,4*	< 1	(-)	(-)	(-)
2-36	36,5*	8,4	(-)	(-)	(-)
2-37	<1	<1	1,6	nd	0,46
2-38	1,8*	5	2	0,007	0,1
2-39	17,3	18,6	1,8	0,01	0,35
2-40	<1*	2,9	1,7	0,008	0,42
2-41	<1*	<1	1,7	nd	0,04
2-42	10,4*	6	1,7	nd	0,05
2-43	10,3*	4,8	1,6	(-)	(-)
2-44	12,3*	5,3	1,5	(-)	(-)
2-45	2,8*	1,0	(-)	(-)	(-)
2-46	3,0	1,1	1,1	0,02	0,19
2-47	2,4	<1	1,8	0,01	0,15
2-48	4,7	1,4	1,0	0,14	1,77
2-49	5,0	1,1	1,3	< 0,01	1,58
2-50	6,4*	1,4	(-)	(-)	(-)
2-51	19,6*	6,0	1,4	0,02	1,31
2-52	2,1*	< 1	(-)	(-)	(-)
2-53	4,0*	< 1	(-)	(-)	(-)
2-54	10,4*	< 1	(-)	(-)	(-)
2-55	13,3	7,2	1,2	0,02	1,52
2-56	15,3	2,6	1,3	0,05	0,48
2-57	11,0*	12,2	1,7	(-)	(-)
2-58	24,9	11	1,3	0,04	1,03
2-59	2,2	2,4	0,8	0,02	1,11
2-60	1,4*	2,8	(-)	(-)	(-)
2-61	11,3*	2,9	1,1	0,01	1,11
2-62	13,5*	4,5	1,7	0,02	0,52
2-63	1,3*	1,0	(-)	(-)	(-)
2-64	1,3*	< 1	(-)	(-)	(-)
2-65	**zu instabil für in vitro-Tests**				
3-1	6,1	2,1	3,4	< 0,01	< 0,01
3-2	9,6	8,9	1,7	nd	nd

	Plasma Stability $t_{1/2}$ (undiluted human plasma)	Caco-2 permeability (10^{-6} cm/s)	Half-life [h] human	Half-life [h] rat	No. of metabolites (H/R)	Entacapone formation (H/R)
2-34	8,8 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-35	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-36	15,2 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-37	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-38	66,1 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-39	54,3 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-40	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-41	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-42	29,4 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-43	26,7 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-44	58,9 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-45	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-46	0,7 min	(-)	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-47	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-48	3,1 min	(-)	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-49	4,6 min	(-)	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-50	8,2 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-51	2,4 min	(-)	0,1	<0,1	(-)	(-)
2-52	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-53	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-54	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-55	6,2 min	11,7	0,15	0,46	(-)	(-)
2-56	7,6 min	<5,1	<0,1	<0,1	(-)	(-)
2-57	26,7 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-58	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-59	2,5 min	<5,1	<0,1	0,72		
2-60	35,1 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-61	5,3 min	(-)	0,1	<0,1	(-)	(-)
2-62	9,3 min	(-)	0,1	<0,1	(-)	(-)
2-63	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-64	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2-65	**zu instabil für in vitro-Tests**					
3-1	<0,2 min (Diester), 3,0 min (Monoester)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
3-2	0,9 min (Diester), 9,0 min (Monoester)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

	Stability in 0,1N HCl ($t_{1/2}$) [h]	Stability in PBS buffer (pH 7.4) ($t_{1/2}$) [h]	logD HPLC (pH 7,4)	Solubility in 0,1 N HCL [mg/mL]	Solubility in PBS buffer (pH 7.4) [mg/mL]
5-1	19,3	16,5	(-)	0,02	>2,75
5-2	7,7**	12,8	(-)	0,01	0,75
5-3	9,6	12,8	(-)	0,01	> 1,27
5-4	not possible	stable	(-)	(-)	(-)
5-5	7,7**	8,3	(-)	0,25	0,32
5-6	8,9	12,8	(-)	(-)	(-)
5-7	11,7	6,7	(-)	(-)	(-)
5-8	stable**	< 1	(-)	(-)	(-)
5-9	27,5**	< 1	(-)	(-)	(-)
5-10	6,0	< 1	(-)	(-)	(-)
5-11	12,8**	< 1	(-)	(-)	(-)
5-12	5,0	4,3	(-)	(-)	(-)
5-13	8,9	5,5	(-)	0,21	0,95
5-14	7,2	7,2	(-)	< 0,01	0,19
5-15	10,5	11,6	(-)	(-)	(-)
5-16	12,8**	16,5	(-)	(-)	(-)
5-17	12,3	11,9	(-)	0,05	> 1,0
5-18	16,3	4,9	(-)	(-)	(-)
5-19	16,5**	5,0	(-)	(-)	(-)
5-20	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-1	< 1	stable	(-)	(-)	(-)
6-2	7,7	stable	(-)	(-)	(-)
6-3	3,9	stable	(-)	(-)	(-)
6-4	stable**	stable	(-)	(-)	(-)
6-5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-6	10,5**	stable	(-)	nd	0,4
6-7	< 1	stable	(-)	(-)	(-)
6-8	6,8	stable	(-)	(-)	(-)
6-9	2,1	stable	(-)	(-)	(-)
7-1	not possible	stable	(-)	0,22	0,15
7-2	stable	stable	(-)	(-)	(-)
8-1	1,7	< 1,0	(-)	(-)	(-)
8-2	< 1,0	< 1,0	(-)	(-)	(-)
8-3	2,0	< 1	(-)	(-)	(-)
13	stable	stable	(-)	0,09	0,11

	Plasma Stability $t_{1/2}$ (undiluted human plasma)	Caco-2 permeability (10^{-6} cm/s)	Half-life [h] human	Half-life [h] rat	No. of metabolites (H/R)	Entacapone formation (H/R)
5-1	46 min	2,1	19	3	3 and 4	yes
5-2	86 min	(-)	13	(-)	3	yes
5-3	59 min	(-)	6,2	(-)	3	yes
5-4	93,1 min	(-)	8,2	(-)	5	yes
5-5	54 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-6	nd (co-elution with entacapone)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-7	118,4 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-8	nd	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-9	7,9 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-10	7,8 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-11	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-12	39,8 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-13	90,8 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-14	102,5 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-15	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-16	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-17	180,2 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-18	75,5 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-19	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5-20	2,3 min	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-1	stable (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-2	> 4 h (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-3	stable (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-6	> 5 h (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-7	stable (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-8	> 5 h (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6-9	stable (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7-1	43,6 min (Diester), 7,4 min (Monoester) (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7-2	26,4 min (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
8-1	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
8-2	nd‡	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
8-3	0,8 min	(-)	(-)	(-)	(-)	yes
13	14,3 min (Diether), 20,5 min (Intermediat) (n.e.)	(-)	(-)	(-)	(-)	no

* Die Stabilität im Sauren wurde für kurze Zeit statt in reiner 0,1 M HCl in simuliertem Magensaft (simulated gastric fluid, SGF) gemessen. Dieser enthält neben 0,1 N HCl noch 0,2% Natriumchlorid, 0,32% Pepsin.

** Die Ermittlung der Halbwertzeit fand aus Gründen der Löslichkeit in einem 1:1 Gemisch aus Acetonitril und 0,1 M Salzsäure statt.

† Enantiomerengemisch

nd: nicht bestimmbar (not determined)

nd‡: nicht bestimmbar aufgrund unzureichender Stabilität des Prodrugs (not determined, insufficient stability)

(n.e.) no entacapone

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Synthese von Prodrugs des Catechol-*O*-methyltransferase-Hemmstoffs Entacapon (**1**, Comtess®). Dieser wird in Kombination mit Levodopa und Decarboxylasehemmern in der Therapie des Morbus Parkinson verwendet. Sein verbesserungswürdiges pharmakokinetisches Profil (insbesondere die schlechte orale Bioverfügbarkeit, welche überdies interindividuellen Schwankungen unterliegt) ist ausschlaggebender Grund für die Entwicklung und Testung von Prodrugderivaten dieses peripheren COMT-Hemmers.

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Prodrugs lassen sich anhand der Funktionalität des Prodrug-Rests in die Gruppen Carbonate, Carbamate, Ester und Ether einteilen. Die Substitution der OH-Gruppen des Entacapon-Grundgerüsts erfolgte an Position 3. Darüber hinaus wurden auch Derivate hergestellt, in denen beide phenolische Gruppen in Prodrug-Funktionalitäten eingebunden sind. Eine Übersicht über die hergestellten Prodrug-Stoffklassen gibt Abbildung 6-1.

Die Darstellung der Monocarbonate (**2**) konnte auf effiziente Weise durch Öffnung des reaktiven, cyclischen Carbonats (**4**) mit Alkoholen erfolgen.

Die Gewinnung des cyclischen Carbonats (**4**) konnte auf drei verschiedenen Wegen realisiert werden:

i. Die Umsetzung mit einem palladiumhaltigen Carbonylgruppenübertragungsreagenz. Dies hatte Vorteile im Hinblick auf eine einfache Aufarbeitung des Reaktionsansatzes ohne toxische Nebenprodukte, lieferte jedoch nicht die gewünschten Ausbeuten.

ii. Der Ringschluss zum cyclischen Carbonat mit Phosgen in Gegenwart von Pyridin. Dieser erfolgte schnell und mit befriedigenden Ausbeuten. Der Einsatz des hochtoxischen Edukts muss jedoch als Nachteil dieser Variante angesehen werden.

iii. Verwendung von *N*,*N*'-Carbonyldiimidazol (CDI) im 2-Phasen-System. Die Darstellung des cyclischen Zwischenprodukts nach dieser Variante ergab die besten Resultate im Hinblick auf Ausbeute und Handhabung.

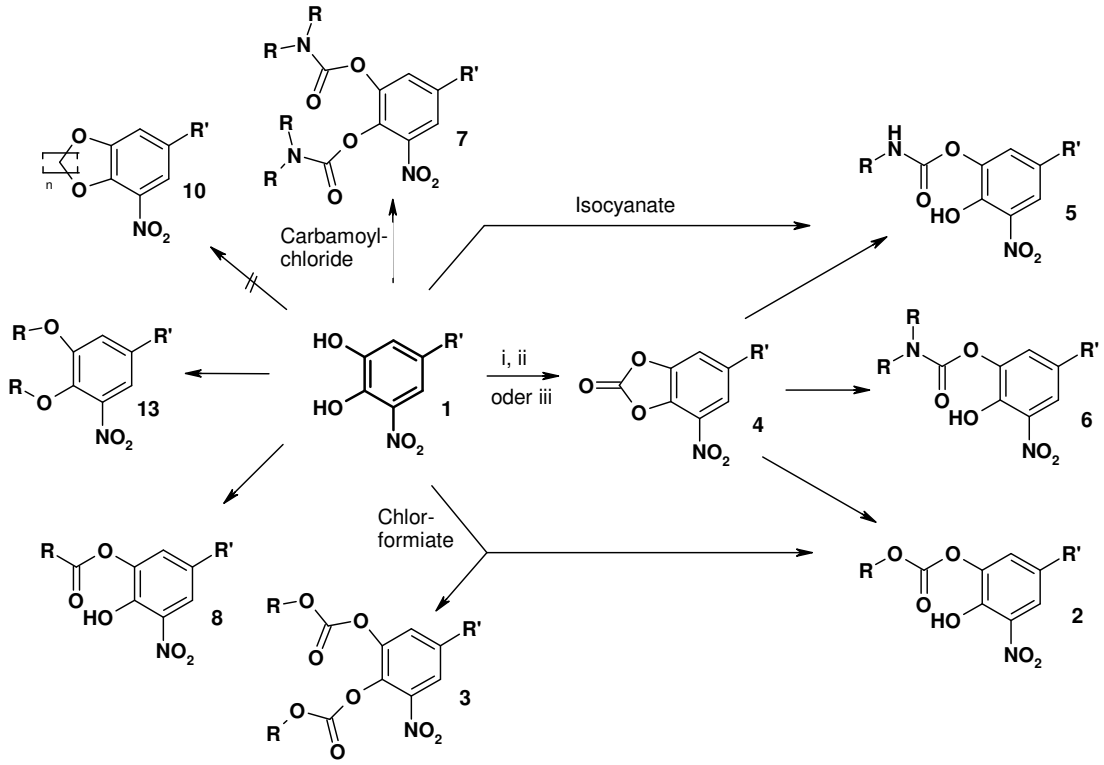


Abb. 6-1: Die synthetisierten Prodrugstoffklassen im Überblick*.

Analog der Synthese der Monocarbonate gelang die Darstellung der Monocarbamate (**5**+**6**) durch Ringöffnung des cyclischen Carbonats (**4**) mit Aminen. Eine weitere Variante diese Stoffgruppe zu erhalten ergab sich durch die Addition von Isocyanaten an die phenolische Funktion des Arzneistoffs. Auf diesem Wege waren allerdings nur *N*-monosubstituierte Derivate (**5**) darstellbar.

Die Biscarbonate (**3**) wurden durch Reaktion des Entacapon mit unterschiedlich substituierten Chlorformiaten unter Basenkatalyse

* Die Stoffklasse der Acetale (vgl. Kap. 2) wurde von Dr. W. Thimann im Rahmen des Projekts dargestellt. Die Beschreibung dieser Prodrugs ist nicht Teil dieser Arbeit.

synthetisiert. Die an beiden phenolischen OH-Gruppen substituierten Carbamat-Vertreter (**7**) entstanden durch analoge Umsetzung mit *N*,*N*-disubstituierten Carbamoylchloriden.

Die Gruppe der Entacapon-Ester (**8**) ist sehr heterogen. Die Veresterung mit *N*-acetylierten Aminosäuren gelang unter Zuhilfenahme der Kupplungsreagenzien CDI oder EDC-HCl. Ein gemischter Ester der Malonsäure wurde durch Umsetzung mit dem entsprechenden Säurechlorid unter Basenkatalyse dargestellt.

Die geplante Einbindung der phenolischen OH-Gruppen des Entacapon in ein Ringsystem (**10**) gelang (mit Ausnahme des cyclischen Carbonats, welches sich als sehr instabil erwies) nicht. Versuche, die Brenzcatechinstruktur in einen Orthokohlensäureester zu integrieren, erbrachten als unerwartetes Produkt den Diethylether (**13**) des Entacapon.

In vitro Studien zur Stabilität der gewonnenen Prodrugs gegenüber chemischer und enzymatischer Hydrolyse wurden von der Firma Schwarz BioSciences GmbH durchgeführt. Sie ergaben, dass die Stoffgruppe der Ester für die Anwendung als Entacaponprodrug zu instabil ist.

Ebenfalls als ungeeignet eingestuft wurden die Stoffklassen Ether, Biscarbamate und *N*,*N*-dialkylierte Monocarbamate. Diese Verbindungen sind nicht bioreversibel, d. h. sie setzten unter physiologischen Bedingungen kein Entacapon frei. Die Biscarbonate erwiesen sich als praktisch unlöslich bei unterschiedlichen pH-Werten und sind deshalb als oral verfügbare Prodrugs ebenfalls nicht verwendbar.

Vielversprechend sind hingegen Vertreter der *N*-monoalkylierten Monocarbamate und Monocarbonate. Sie erfüllen die Anforderungen an Löslichkeit, Stabilität gegenüber chemischer Hydrolyse und Bioreversibilität. Ergebnisse von *in vivo* Untersuchungen dieser Prodrugderivate stehen aus.

7 Summary

The objective of this work is the synthesis of prodrugs of the catechol-*O*-methyltransferase (COMT) inhibitor entacapone (**1**, Comtess®). This compound is being used in combination with levodopa and peripheral decarboxylase inhibitors in the treatment of Parkinson's disease. Due to its improvable pharmacokinetic profile (particularly its low oral bioavailability with huge variability in between individuals) new prodrugs of this peripherally acting COMT inhibitor are being developed and tested.

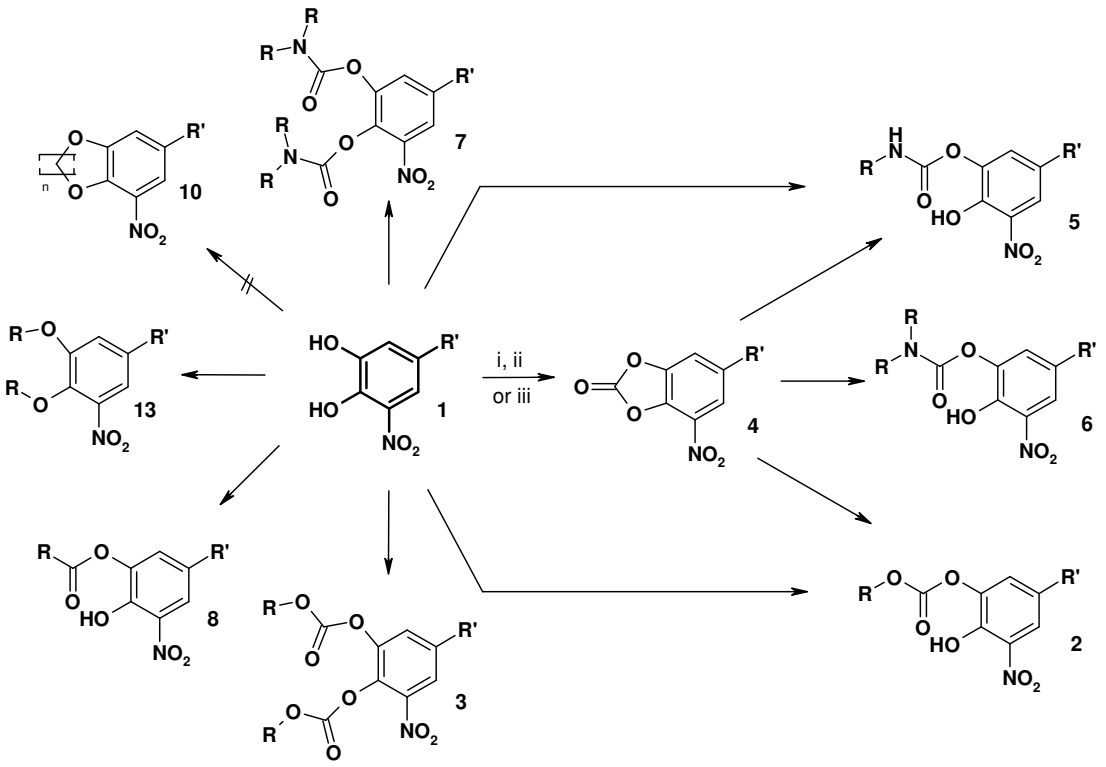
The synthesized compounds can be classified into prodrug groups depending on the chemical structure of their promoiety (carbonates, carbamates, esters and ethers). In most cases the hydroxylic group in position 3 of the entacapone molecule was modified. Further derivatives involve both OH-groups of the brenzcatechin into the prodrug. A brief overview of the compounds obtained during this work is outlined in scheme 7-1.

Preparation of the monocarbonates (**2**) was achived by opening the reactive cyclic carbonate (**4**) with alcohols. Therefore the synthesis of the cyclic compound was accomplished in three different ways:

i. Cyclisation with palladium carbonyl chloride. Its advantages were the simple work up and the harmlessness of possible byproducts. Unfortunately, reaction of entacapone with this compound resulted in poor yields.

ii. Reaction with phosgene in the presence of pyridine. This method gave good results in an adequate amount of time. Toxicity of the carbonyle compound must be regarded as a drawback.

iii. Coupling with *N*,*N*'-carbonyldiimidazole in a 2-phase-system. This approach resulted in the best yields and was easy manageable.



Scheme 7-1: prodrugs of entacapone obtained within the scope of this thesis*.

By analogy with the above mentioned synthesis of the monocarbonates, the preparation of the monocarbamates (**5**+**6**) was achieved by reaction of the cyclic carbonate (**4**) with several amines. Another approach to obtain this class of prodrugs was the addition of isocyanates to the phenolic functionality of the drug. Using this way of preparation, only *N*-monosubstituted carbamates (**5**) were accessible.

Treatment of entacapone with chloroformiates under basic conditions led to the group of biscarbonates (**3**). Prodrugs having both OH-groups involved in urethane substructures (**7**) were obtained by acylation with carbamoyle chlorides.

Ester prodrugs (**8**) form a heterogeneous group of compounds. Esterification of entacapone with *N*-acetyl amino acids was performed by utilisation of EDC-HCl or CDI as reactants. The ethyl malonylic

* Prodrugs with an acetalic structure (chapter 2) were accomplished by Dr. W. Thimann within the scope of this project. Description of this class of compounds is not part of this thesis.

ester of the COMT inhibitor was prepared by reaction with the acid chloride under basic conditions.

Attempts to synthesize cyclic prodrugs (**10**) of the catechol substructure failed exept for the above mentioned cyclic carbonate, which was highly unstable. During the preparation of a cyclic orthocarbonate an unforeseen product was isolated, which turned out to be the diethylether of entacapone (**13**).

In vitro studies concerning the stability of the prodrugs against chemical and enzymatical hydrolysis were carried out by Schwarz BioSciences GmbH. As a result of these tests the group of esters of entacapone showed poor stability. Thus it cannot be used as an orally administered prodrug.

Biscarbamates, disubstituted monocarbamates and the diethylether of entacapone were classified to be too stable. These compounds are not bioreversible, meaning that entacapone is not released under physiological conditions. Biscarbonates appeared to be almost insoluble at variable pH-values and are therefore not applicable either.

Promising prodrugs derived from the groups of monocarbonates and *N*-monosubstituted monocarbamates. These compounds met demands concerning the solubility, stability against chemical hydrolysis and bioreversibility. *In vivo* tests of an assortment of substances are presently under investigation at Schwarz BioSciences GmbH.

8 Literaturverzeichnis

1. de Rijk, M. C., Launer, L. J., Berger, K., Breteler, M. M., Dartigues, J.-F., Baldereschi, M., Fratiglioni, L., Lobo, A., Martinez-Lage, J., Trenkwalder, C. Hofman, A., *Neurology* **54**, 21-23 (2000).
2. Yahr, M. D., *Parkinsonism*, in: *Merritt's textbook of neurology*, Ed.: Rowland, L. P., 8. Auflage, Lea & Febiger, Philadelphia, S. 658-671 (1989).
3. Parkinson, J., *An essay on the shaking palsy*, Sherwood, Neely and Jones, London, 19-26 (1817)
4. Forno, L. S., *J. Neuropath. Exp. Neurol.* **55**, 259-272 (1996).
5. Feuerstein, T. J., Jurna, I., *Antiparkinsonmittel*, in: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Ed.: Forth, W., Henschler, D., Rummel, W., Starke, K. et al., 7. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, S. 279-284 (1998).
6. Riederer, P., Wuketich, S., *J. Neural. Transm.* **38**, 277-301 (1976).
7. Zecca, L., Berg, D., Arzberger, T., Ruprecht, P., Rausch, W. D., Musicco, M., Tampellini, D., Riederer, P., Gerlach, M., Becker, G., *Movement Disorders* **20**, 1278-1285 (2005).
8. Hoehn, M. M., Yahr, M. D., *Neurology* **17**, 427-442 (1967).
9. Marsden, C. D., *Clin. Neuropharmacol.* **17**, 32-44 (1994).
10. Olanow, C. W., *Neurology* **40**, 32-37 (1990).
11. Polymeropoulos, M. H., Lavedan, C., Leroy, E., Ie. S. E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Root, H. et al., *Science* **276**, 2045-2047 (1997).
12. Biskup, S., Moore, D. J., *BioEssays* **28**, 963-967 (2006).
13. Büeler, H., *Pharm. Unserer Zeit* **3**, 198-203 (2006).
14. Lashuel, H. A., Hartley, D., Petre, B. M., Walz, T., Lansbury Jr., P. T., *Nature* **418**, 291 (2002).
15. Shimura, H., Schlossmacher, M. G., Hattori, N., Frosch, M. P., Trockenbacher, A., Schneider, R., Mizuno, Y., Kosik, K. S., Selkoe, D. J., *Science* **293**, 263-269 (2001).
16. Gibb, W. R. G., *Neurol. Clin.* **10**, 361-376 (1992).

17. Kramer, M. L., Schulz-Schaeffer, W. J., *J. Neurosci.* **27**, 1405-1410 (2007).

18. Giasson, B. I., Lee, V. M.-Y., *Neuron* **31**, 885-888 (2001).

19. Conway, K. A., Rochet, J.-C., Bieganski, R. M., Lansbury Jr., P. T., *Science* **294**, 1346-1349 (2001).

20. Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., Caron, M. G., *Physiol. Rev.* **78**, 189-225 (1998).

21. Standaert, D. G., Young, A. B., *treatment of central nervous system degenerative disorders*, in: *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, Ed.: Wonsiewicz, M. J., Morriss, J. M., Verlag McGraw-Hill, New York, S. 549-568 (2001).

22. Müller, C. E., Hubert, M. A., Mayer, R., *Dtsch. Apoth. Ztg.* **38**, 4569-4580 (2002).

23. Götz, W., *Pharm. Unserer Zeit* **3**, 190-196 (2006).

24. Cedarbaum, J. M., *Clin. Pharmacokin.* **13**, 141-178 (1987).

25. Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., Traynelis, S. F., *Pharmacol. Rev.* **51**, 7-61 (1999).

26. Schwab, R. S., England jr., A. C., Poskanzer, D. C., Young, R. R., *JAMA* **208**, 1168-1170 (1969).

27. Przuntek, H., Müller, T., *J. Neural. Transm.* **56**, 75-82 (1999).

28. Budipin Vertriebseinschränkung, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **2**, 10 (2001).

29. Nyholm, D., *Clin. Pharmacokin.* **45**, 109-136 (2006).

30. Pfizer Pharma GmbH, *Fachinformation Cabaseril*, (2006).

31. Rinne, U. K., *Neurology* **35**, 1196-1198 (1985).

32. Gensthaler, B. M., *Pharm. Ztg.* **34**, 22-23 (2004).

33. Hobson, D. E., Pourcher, E., Martin, W. R. W., *Can. J. Neurol. Sci.* **26**, 27-33 (1999).

34. Parkinson Study Group, *Arch. Neurol.* **12**, 1721-1728 (2003).

35. Riederer, P., Lachenmayer, I., Laux, G., *Curr. Med. Chem.* **11**, 2033-2043 (2004).

36. Yamada, M., Yasuhara, H., *NeuroToxicology* **25**, 215-221 (2004).

37. Rabey, J. M., Sagi, I., Hubermann, M., Melamed, E., Korczyn, A., Giladi, N., Inzelberg, R., Djaldetti, R., Klein, C., Berecz, G.,

Rasagilin Study Group, *Clin. Neuropharmacol.* **23**, 324-330 (2000).

38. Binda, C., Hubálek, F., Li, M., Herzig, Y., Sterling, J., Edmondson, D. E., Mattevi, A., *J. Med. Chem.* **47**, 1767-1774 (2004).

39. Mandel, S., Weinreb, O., Amit, T., Youdim, B. H., *Brain Res. Rev.* **48**, 379-387 (2005).

40. Langston, J. W., Forno, L.S., Tetrud, J., Reeves, A. G., Kaplan, J. A., Karluk, D., *Ann. Neurol.* **46**, 598-605 (1999).

41. Gütschow, M., Meusel, M., *Pharm. Unserer Zeit* **3**, 218-225 (2006).

42. Starke, K., *Grundlagen der Pharmakologie des Nervensystems*, in: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Ed.: Forth, W., Henschler, D., Rummel, W., Starke, K. et al., 7. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, S. 103-133 (1998).

43. Armstrong, M. D., McMillan, A., Shaw, K. N. F., *Biochim. Biophys. Acta* **25**, 422-423 (1957).

44. Eisenhofer, G., Kopin, I. J., Goldstein, D. S., *Pharmacol. Rev.* **56**, 331-349 (2004).

45. Eisenhofer, G., Friberg, P., Rundqvist, B., Quyyumi, A. A., Lambert, G., Kaye, D. M., Kopin, I. J., Goldstein, D. S., Esler, M. D., *Circulation* **93**, 1667-1676 (1996).

46. Carlsson, A., Lindqvist, M., Magnusson, T., *Nature* **180**, 1200 (1957).

47. Knowles, W. S., Sabacky, M. J., Vineyard, B. D., *3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-L-alanin*, DE 2210938 (1972).

48. Mercuri, N. B., Bernardi, G., *Trends Pharmacol. Sci.* **26**, 341-344 (2005).

49. Birkmayer, W., Hornykiewicz, O., *Wien. Klin. Wochenschr.* **73**, 787-788 (1961).

50. Koller, W. C., *Neurology* **55**, 2-7 (2000).

51. Hornykiewicz, O., *Pharmacol. Rev.* **18**, 925-964 (1966).

52. Männistö, P. T., Ulmanen, I., Lundström, K., Taskinen, J., Tenhunen, J., Tilgmann, C., Kaakkola, S., *Progr. Drug Res.* **39**, 291-350 (1992).

53. Andersson, I., Granerus, A.-K., Jagenburg, R., Svanborg, A., *Acta Med. Scand.* **198**, 415-420 (1975).

54. Bartholini, G., Bates, H. M., Burkard, W. P., Pletscher, A., *Nature* **215**, 852-853 (1967).

55. Keränen, T., Gordin, A., Karlsson, M., Korpela, K., Pentikäinen, P.J., Rita, H., Schultz, E., Seppälä, L., Wikberg, T., *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **46**, 151-157 (1994).

56. Sweet, R. D., McDowell, F. H., *Neurology* **24**, 953-956 (1974).

57. Fahn, S., *Arch. Neurol.* **56**, 529-534 (1999).

58. Sit, S. Y., *Curr. Pharm. Des.* **6**, 1211-1248 (2000).

59. Chase, T. N., *Neurology* **50**, 17-25 (1998).

60. Shoulson, I., Glaubiger, G. A., Chase, T. N., *Neurology* **25**, 1144-1148 (1975).

61. Burkhard, P., Dominici, P., Borri-Voltattorni, C., Jansonius, J. N., Malashkevich, V. N., *Nat. Struct. Biol.* **8**, 963-967 (2001).

62. Nutt, J. G., Woodward, W. R., Anderson, J. L., *Ann. Neurol.* **18**, 537 - 543 (1985).

63. Olanow, C. W., Obesco, J. A., *Neurology* **55**, 1 (2000).

64. Guldberg, H. C., Marsden, C. A., *Pharmacol. Rev.* **27**, 135-206 (1975).

65. Wu, R. M., Cheng, C. W., Chen, K. H., Lu, S. L., Shan, D. E., Ho, Y. F., Chern, H. D., *Neurology* **56**, 375-382 (2001).

66. Axelrod, J., Tomchick, R., *J. Biol. Chem.* **233**, 702-705 (1958).

67. Butterworth, M., Lau, S. S., Monks, T. J., *Drug Metab. and Disp.* **24**, 588-594 (1996).

68. Männistö, P. T., Kaakkola, S., *Pharmacol. Rev.* **51**, 593-628 (1999).

69. Huotari, M., Gogos, J., Karayiorgou, M., Koponen, O., Forsberg, M., Raasmaja, A., Hyttinen, J., Männistö, P., *European Journal of Neuroscience* **15**, 246-256 (2002).

70. Axelrod, J., Senoh, S., Witkop, B., *J. Biol. Chem.* **233**, 697-701 (1958).

71. Creveling, C. R., Delgard, N., Shimizu, H., Daly, J. W., *Mol. Pharmacol.* **6**, 691-696 (1970).

72. Wade, L. A., Katzman, R., *Life Sciences* **17**, 131-136 (1975).

73. Müller, T., Hefter, H., Huebner, R., Jost, W. H., Leenders, K. L., Odin, P., Schwarz, J., *J. Neurol.* **251**, 44-46 (2004).

74. Müller, T., Werne, B., Fowler, B., Kuhn, W., *The Lancet* **354**, 126-127 (1999).

75. Mercuri, N. B., Federici, M., Bernardi, G., *J. Neural Transm.* **106**, 1135-1140 (1999).

76. Novaroli, L., Doulakas, G. B., Reist, M., Rolando, B., Fruttero, R., Gasco, A., Carrupt, P.-A., *Helv. Chim. Acta* **89**, 144-152 (2006).

77. Colosimo, C., *J. Neurol.* **246**, 880-882 (1999).

78. FDA, *Important Drug Warning*, www.fda.gov/MEDWATCH/SAFETY/1998/tasmar.htm (1998).

79. Heikkinen, H., Saraheimo, M., Antila, S., Ottoila, P., Pentikäinen, P. J., *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **56**, 821-826 (2001).

80. Evans, M. A., Triggs, E. J., Broe, G. A., Saines, N., *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **17**, 215-221 (1980).

81. Hauser, R. A., *Neurology* **62**, 64-71 (2004).

82. Kaakkola, S., Ahtila, S., Rita, H., Gordin, A., Teräväinen, H., *Neurology* **44**, 77-80 (1994).

83. Rinne, U. K., Larsden, J. P., Siden, A., Worm-Petersen, J., *Neurology* **51**, 1309-1314 (1998).

84. Dingemanse, J., *Drug Dev. Res.* **42**, 1-25 (1997).

85. Lotta, T., Vidgren, J., Tilgmann, C., Ulmanen, I., Melen, K., Julkunen, I., Taskinen, J., *Biochemistry* **34**, 4202-4210 (1995).

86. Tervo, A. J., Nyrönen, T. H., Rönkkö, V., Poso, A., *Journal of Computer-Aided Design* **17**, 797-810 (2003).

87. Taskinen, J., Wikberg, T., Ottoila, P., Vuorela, V., *Drug Metab. Dispos.* **21**, 81-92 (1993).

88. ORION Pharma GmbH, *Fachinformation Comtess*, (2003).

89. Lee, C.-P., de Vrueh, R. L. A., Smith, P. L., *Adv. Drug Del. Rev.* **23**, 47-62 (1997).

90. Böckler, F., *Pharm. Unserer Zeit* **3**, 204-216 (2006).

91. Albert, A., *Nature* **182**, 421 (1958).

92. Johansen, M., Moellgard, B., Wotton, P. K., Larsen, C., Hoelgaard, A., *Int. J. Pharm.* **32**, 199-206 (1986).

93. Bundgaard, H., *Drugs Fut.* **16**, 443-458 (1991).

94. Sorbera, L. A., Martín, L., Leeson, P. A., Castaner, J., *Drugs Fut.* **26**, 219-223 (2001).

95. Dijkstra, D., Meltzer, L. T., Venhuis, B. J., Wikström, H. V., Wise, L. D., Wustrow, D. J., *Method for treating Parkinson's disease by administering (-)-5-keto-2-N,N-di-n-propylamino-tetrahydrotetralin*, WO 0128977 A1 (2001).

96. Venhuis, B. J., Wikström, H. V., Dijkstra, D., Wustrow, D. J., Meltzer, L. T., Wise, L. D., Johnson, S. J., Heffner, T. G., *J. Med. Chem.* **46**, 584-590 (2003).

97. Venhuis, B. J., Wikström, H. V., Dijkstra, D., Wustrow, D. J., Meltzer, L. T., Wise, L. D., Johnson, S. J., *J. Med. Chem.* **46**, 4136-4140 (2003).

98. Venhuis, B. J., Wikström, H. V., Rodenhuis, N., Sundell, S., Dijkstra, D., *J. Med. Chem.* **45**, 2349-2351 (2002).

99. Neumann, H.-G., *Entstehung und Behandlung von Tumoren, Immunsuppressiva*, in: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Ed.: Henschler, D., Forth, W., Rummel, W., Starke, K. et al., Heidelberg, S. 789-814 (1998).

100. Shin, J. M., Cho, Y. M., Sachs, M., *J. Am. Chem. Soc* **126**, 7800-7811 (2004).

101. Sedaghat, A., Ahrens jr., E. H., *Europ. J. Clin. Inv.* **5**, 177-185 (1975).

102. Burger, A., *Sci. Pharm.* **45**, 269-281 (1977).

103. Rosin, H., Henschler, D., *Antibiotika und Chemotherapeutika*, in: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Ed.: Forth W., H. D., Rummel W., Starke K. et al., 7. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, S. 713-715 (1998).

104. Ranadive, S. A., Chen, A. X., Serajuddin, A. T. M., *Pharmaceutical Research* **9**, 1480-1486 (1992).

105. Friedman, D. I., Amidon, G. L., *Pharm. Res.* **6**, 1043-1047 (1989).

106. Drummer, O. H., Kourtis, S., Iakovidis, D., *Drug Res.* **38**, 647-651 (1988).

107. Duggan, D. E., Chen, I.-W., Bayne, W. F., Halpin, R. A., Duncan, C. A., Schwartz, M. S., Stubbs, R. J., Vickers, S., *Drug Metab. Dispos.* **17**, 166-173 (1989).

108. Irwin, W. J., Belaid, K. A., *Int. J. Pharm.* **48**, 159-166 (1988).

109. Jordan, C. G. M., *J. Pharm. Sci.* **87**, 880-885 (1998).

110. Burnette, T. C., De Miranda, P., *Drug Metab. Dispos.* **22**, 60-64 (1994).

111. Bundgaard, H., Larsen, C., Arnold, E., *Int. J. Pharm.* **18**, 79-87 (1984).

112. Bundgaard, H., Nielsen, N. M., *Int. J. Pharm.* **43**, 101-110 (1988).

113. Testa, B., *The Hydrolysis of Carboxylic Acid Ester Prodrugs*, in: *Hydrolysis in Drug and Prodrug Design*, Ed.: Testa, B., Mayer, J. M., Verlag Helvetica Chimica Acta AG, Zürich, S. 474-481 (2003).

114. Dittert, L. W., Higuchi, T., *J. Pharm. Sci.* **52**, 852-857 (1963).

115. Persson, G., Pahlm, O., Gnossepelius, Y., *Curr. Ther. Res.* **56**, 457-465 (1995).

116. Iwanaga, Y., Kimura, T., Miyashita, N., Morikawa, K., Nagata, O., Itoh, Z., Kondo, Y., *Jpn. J. Pharmacol.* **66**, 317-322 (1994).

117. Tunek, A., Svensson, L.-A., *Drug Metab. Dispos.* **16**, 759-764 (1988).

118. Tunek, A., Levin, E., Svensson, L.-A., *Biochem. Pharmacol.* **37**, 3867-3876 (1988).

119. Olsson, T. O. A., Svensson, L. A., *Pharm. Res.* **1**, 19-23 (1984).

120. Pirtosek, Z., Merello, M., Carlsson, A., Stern, G., *Adv. Neurol.* **69**, 535-540 (1996).

121. Thorberg, S.-O., Berg, S., Lundström, J., Petterson, B., Wijkström, A, Sanchez, D., Lindberg, P., Nilssin, J. L. G., *J. Med. Chem.* **30**, 2008-2012 (1987).

122. Murata, K., Noda, K., Kohno, K., Samejima, M., *J. Pharm. Sci.* **78**, 812-814 (1989).

123. Hansen, L. B., Christrup, L.L., Bundgaard, H., *Int. J. Pharm.* **88**, 229-235 (1992).

124. Möllmann, H., Rohdewald, P., Barth, J., Verho, M., Derendorf, H., *Biopharm. Drug Dispos.* **10**, 453-464 (1989).

125. Leppänen, J., Savolainen, J., Nevalainen, T., Huuskonen, J., Taipale, H., Gynther, J., Järvinen, T., Vepsäläinen, J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **10**, 1967-1969 (2000).

126. Forsberg, M., Savolainen, J., Leppänen, J., Heimbach, T., Oh, D.-M., Li, L. Y., Matsunaga, Y., Flynn, G., Fleischer, D., *Pharm. Res.* **20**, 848-856 (2003).

127. Richardson, A. P., Walker, H. A., Miller, I., Hansen, R., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **60**, 272-276 (1945).

128. von Daehne, W., Frederiksen, E., Gundersen, E., Lund, F., Morch, P., Petersen, H. J., Roholt, K., Tybring, L., Godtfredsen, W. O., *J. Med. Chem.* **13**, 607-612 (1970).

129. Sjövall, J., Magni, L., Bergan, T., *Antimicrob. Agents Chemother.* **13**, 90-96 (1978).

130. Ferres, H., *Drugs of today* **19**, 499-538 (1983).

131. Ferech, M., Coenen, S., Dvorakova, K., Hendrickx, E., Suetens, C., Goossens, H., *J. Antimicrob. Chemother.* **58**, 408-412 (2006).

132. Agersborg, H. P. K., Batchelor, A., Cambridge, G. W., Rule, A. W., *Brit. J. Pharmacol.* **26**, 649-655 (1966).

133. Schultz, C., *Bioorg. Med. Chem.* **11**, 885-898 (2003).

134. Gilead Sciences International Limited, *Fachinformation Hepsera 10 mg Tabletten*, (2006).

135. Cundy, K. C., Fishback, J. A., Shaw, J.-P., Lee, M. L., Soike, K. F., Visor, G. C., Lee, W. A., *Pharm. Res.* **11**, 839-843 (1994).

136. Hammer, K., Hatlelid, J., Groetli, M., Arukwe, J., Klaveness, J., Rise, F., Undheim, K., *Acta Chem. Scand.* **50**, 609-622 (1996).

137. Cynkowska, G., Cynkowski, T., Al-Ghananeem, A. A., Guo, H., Ashton, P., Crooks, P. A., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 3524-3527 (2005).

138. Jones, R. N., Barry, A. L., Thornsberry, C., *Antimicrob. Agents Chemother.* **33**, 944-950 (1989).

139. Leppänen, J., Nevalainen, T., Huuskonen, J., Taipale, H., Gynther, J., Järvinen, T., *J. Med. Chem.* **45**, 1379-1382 (2002).

140. Forsberg, M., Savolainen, J., Järvinen, T., Leppänen, J., Gynther, J., Männistö, P. T., *Pharmacol. Toxicol.* **90**, 327-332 (2002).

141. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J., *Adv. Drug Del. Rev.* **23**, 3-25 (1997).

142. Leppänen, J., Savolainen, J., Nevalainen, T., Forsberg, M., Huuskonen, J., Taipale, H., Gynther, J., Männistö, P. T., Järvinen, T., *J. Pharm. Pharmacol.* **53**, 1489-1498 (2001).

143. Avery, M. A., Verlander, M. S., Goodman, M., *J. Org. Chem.* **45**, 2750-2753 (1980).

144. Leppänen, J., Wegelius, E., Nevalainen, T., Järvinen, T., Gynther, J., Huuskonen, J., *J. Mol. Struct.* **562**, 129-135 (2001).

145. Um, S.-J., Kwon, Y.-J., Han, H.-S., Park, S.-H., Park, M.-S., Rho, Y.-S., Sin, H.-S., *Chem. Pharm. Bull.* **52**, 501-506 (2004).

146. Fife, T. H., McMahon, D. M., Hutchins, J. E. C., *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 1316-1323 (1972).

147. Viehe, H. G., Janousek, Z., *Iminium Salts in Organic Chemistry. Part 1*, in: *Advances in Organic Chemistry: Methods and Results.*, Ed.: Böhme, H., Viehe, H. G., Wiley-Interscience, New York, S. 343 ff. (1976).

148. Viehe, H. G., Janousek, Z., *Angew. Chem. internat. Edit.* **10**, 573 (1971).

149. Viehe, H. G., Janousek, Z., *Angew. Chem.* **85**, 837-876 (1973).

150. Kiselyov, A. S., *Tetrahedron Lett.* **47**, 1395-1398 (2006).

151. Copeland, C., Stick, R. V., *Aust. J. Chem.* **32**, 637-641 (1979).

152. Jiang, Q., Shing, T. K., *Tetrahedron Lett.* **42**, 5271-5273 (2001).

153. Kok, S. H. L., Shing, T. K. M., *Tetrahedron Lett.* **41**, 6865-6868 (2000).

154. Hallgren, J. E., Matthews, R. O., *J. Organometal. Chem.* **175**, 135-142 (1979).

155. Goggin, P. L., Mink, J., *J. Chem. Soc. Dalton*, 534-540 (1974).

156. Colton, R., Farthing, R. H., McCormick, M. J., *Aust. J. Chem.* **26**, 2607-2614 (1973).

157. Braun, H., *Dtsch. Med. Wschr.* **31**, 1667-1671 (1905).

158. Einhorn, A., *Liebigs Ann. Chem.* **300**, 135-155 (1898).

159. Savolainen, J., Forsberg, M., Taipale, H., Gynther, J., Jarho, P., Männistö, P.T., Järvinen, T., Järvinen, K., *Drug Dev. Res.* **49**, 238-244 (2000).

160. Stenseth, R. E., Schisla, R. M., Baker, J. W., *J. Chem. Eng. Data* **9**, 390-397 (1964).

161. Coe, J. W., Vetelino, M. G., Bashore, C. G., Wirtz, M. C., Brooks, P. R., Arnold, E. P., Lebel, L. A., Fox, C. B., Sands, S. B., Davis, T. I., Schulz, D. W., Rollema, H., Tingley III, F. D., O'Neill, B. T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 2974-2979 (2005).

162. Anderson, G. W., Paul, R., *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 4423 (1958).

163. Laufer, D. A., Doyle, K., Zhang, X., *Org. Prep. Proc. Int.* **21**, 771-776 (1989).

164. Liebig, J. v., *Liebigs Ann. Chem.* **23**, 32 (1837).

165. Schlüter, K., *Dissertation Hamburg* (2006).

166. Rinehart, K. L., Gloer, J. B., Hughes, R. G., Renis, H. E., McGovren, J. P., Swynenberg, E. B., Stringfellow, D. A., Kuentzel, S. L., Li, L. M., *Science* **212**, 933-935 (1981).

167. Schmidt, U., Kroner, M., Griesser, H., *Synthesis*, 294-300 (1991).

168. Tsuji, T., Kataoka, T., Yoshioka, M., Sendo, Y., Nishitani, Y., Hirai, S., Maeda, T., Nagata, W., *Tetrahedron Lett.* **30**, 2793-2796 (1979).

169. Meier, H., *UV/Vis-Spektren*, in: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Ed.: Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., Thieme Verlag, Stuttgart, S. 14-17 (2002).

170. Kortüm, G., *Chem. Ber.* **74**, 409-416 (1941).

171. Meier, H., *Kernresonanz-Spektren*, in: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Ed.: Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., Thieme Verlag, Stuttgart, S. 97-102 (2002).

172. Wikberg, T., *Dissertation Helsinki* (1993).

173. DeJongh, D. C., Brent, D. A., *J. Org. Chem.* **35**, 4204-4208 (1970).

174. Savolainen, J., Leppanen, J., Forsberg, M., Taipale, H., Nevalainen, T., Huuskonen, J., Gynther, J., Mannisto, P. T., Jarvinen, T., *Life Sci.* **67**, 205-216 (2000).

175. Christenson, I., *Acta Chem. Scand.* **18**, 904-922 (1964).

176. Merz Pharmaceuticals GmbH, *Fachinformation PK-Merz Filmtabletten 150 mg*, (2004).

177. Skelly, P. D., Ray, W.J., Timberlake, J.W., *J. Org. Chem.* **50**, 267-268 (1985).

178. Merey, C., Stuttgarter Zeitung online, http://www.stuttgarter-zeitung.de/stz/page/detail.php/836717 (2004)

179. Liu, J., Kolar, C., Lawson, T.A., Gmeiner, W. H., *J. Org. Chem.* **66**, 5655-5663 (2001).

180. Ohme, R., Preuschhof, H., *J. Prakt. Chem.* **313**, 626-635 (1971).

181. Einhorn, A., Hollandt, F., *Liebigs Ann. Chem.* **301**, 95-115 (1898).

182. Hocking, M. B., *J. Chem. Educ.* **57**, 527 (1980).

183. Doleschall, G., Lempert, K., *Tetrahedron Lett.* **4**, 1195-1199 (1963).

184. Ito, H., Takamatsu, N., Ichikizaki, I., *Chem. Lett.*, 539-542 (1977).

185. Sheehan, J. C., Cruickshank, P.A., Boshart, G.L., *J. Org. Chem.* **26**, 2525 (1961).

186. Sheehan, J. C., Ledis, S. L., *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 875-879 (1973).

187. Sehgal, D., Vijay, I. K., *Anal. Biochem.* **218**, 87-91 (1994).

188. Staab, H. A., Mannschreck, A., *Chem. Ber.* **95**, 1284-1297 (1962).

189. Hoye, T. R., Magee, A. S., Trumper, W. S., *Synth. Commun.* **12**, 183-187 (1982).

190. Fischer, E., Giebe, G., *Chem. Ber.* **30**, 3053-3059 (1897).

191. Claus, A., Trainer, E., *Chem. Ber.* **19**, 3004-3011 (1886).

192. Sloof, G., *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **54**, 995-1019 (1935).

193. Baker, W., *J. Chem. Soc.*, 1765-1771 (1931).

194. Baker, W., Field, F. B., *J. Chem. Soc.*, 86-91 (1932).

195. Reppe, W. u. M., *Liebigs Ann. Chem.* **601**, 81-138 (1956).

196. Nichols, D. E., Kostuba, J. L., *J. Med. Chem.* **22**, 1264-1267 (1979).

197. Bonthrone, W., Cornforth, J. W., *J. Chem. Soc. (C)*, 1202-1204 (1969).

198. Bashall, A. P., Collins, J. F., *Tetrahedron Lett.* **40**, 3489-3490 (1975).

199. Clark, J. H., Holland, H. L., Miller, J. M., *Tetrahedron Lett.* **38**, 3361-3364 (1976).

200. Bischoff, C. A., von Hedenström, A., *Chem. Ber.* **35**, 3452-3457 (1902).

201. Ghosh, B. N., *J. Chem. Soc., Transactions* **107**, 1588-1605 (1915).

202. Schmidt, S. P., Schuster, G. B., *J. Org. Chem.* **43**, 1823-1824 (1978).

203. Bonsignore, L., Cabiddu, S., Loy, G., Secci, M., *J. Heterocyclic Chem.* **19**, 1241-1242 (1982).

204. Houwing, H. A., van Oene, J. C., Horn, A. S., *Pharm. Weekbl. Scientific Edition* **5**, 177-181 (1983).

205. Gross, H., Rusche, J., Bornowski, H., *Liebigs Ann. Chem.* **675**, 142-150 (1964).

206. Kantlehner, W., Maier, T., Löffler, W., Kapassakalidis, J. J., *Liebigs Ann. Chem.*, 507-529 (1982).

207. Böhme, H., Neidlein, R., *Chem. Ber.* **95**, 1859-1862 (1962).

208. Kantlehner, W., Maier, T., Kapassakalidis, J. J., *Liebigs Ann. Chem.*, 70-84 (1981).

209. Smith, B., *Acta Chem. Scand.* **10**, 1006-1010 (1956).

210. McElvain, S. M., Kundiger, D., *J. Am. Chem. Soc.* **64**, 254-259 (1942).

211. Kocienski, P. J., *Carboxyl protecting groups*, in: *Protecting Groups*, Ed.: Enders, D., Noyori, R., Trost, B. M., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 119-154 (1994).

212. Fife, T. H., McMahon, D. M., *J. Org. Chem.* **35**, 3699-3704 (1970).

213. Shiryaev, A. K., Kryslov, I. Y., *Russ. J. of Org. Chem.* **38**, 1382-1383 (2002).

214. Kirkwood, M. W., Wright, G. F., *J. Org. Chem.* **18**, 629-642 (1953).

215. Chantret, I., Barbat, A., Dussaulx, E., Brattain, M. G., Zweibaum, A., *Cancer Res.* **48**, 1936-1942 (1988).

9 Gefahrstoffverzeichnis

Über die toxikologischen Eigenschaften der meisten im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Chemikalien bzw. synthetisierten Verbindungen liegen keine Daten im Sinne des Chemikaliengesetzes vor Gefährliche Eigenschaften können nicht ausgeschlossen werden. Sie Substanzen sind mit der für gefährliche Chemikalien üblichen Vorsicht zu handhaben.

Nachfolgend sind die wichtigsten verwendeten Reagenzien und Lösungsmittel aufgeführt, die nach Anhang VI der Richtlinie 67/548/EWG mit Gefahrensymbolen, Bezeichnungen der besonderen Gefahren (R-Sätze) und Sicherheitsratschlägen (S-Sätze) versehen sind.

Lösungsmittel	Gefahren-symbole	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F	11-36-66-67	9-16-23-33
Acetonitril	T, F	11-20/21/22-36	16-27-45
Ameisensäure	C	35	23-26-36
Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
Dichlormethan	Xn	40	23.2-24/25-36/37
Diethylether	F^+	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Eisessig	C	10-35	2-23-26
Ethanol	F	11	7-16
Ethylacetat	F	11-36-66-67	16-23-29-33
N,N-Dimethyl-formamid	T	61-20/21-36	53.1-45
n-Hexan	Xn, F	11-38-48/20-51/53-62-65-67	9-16-24/25-29-51
Methanol	T, F	11-23/24/25-39/23/24/25	7-16-24-45
Tetrahydrofuran	Xi, F	11-19-36/37	16-25-29-33
Toluol	Xn, F	11-20	16-25-29-33

Reagenzien	Gefahren-symbole	R-Sätze	S-Sätze
Anilin	T, N	20/21/22-40-48/23/24/25-50	28-36/37-45-61
Bortrichlorid	T^+	14-26/28-36/37/38-40	9-23-26-28-36/37/39-45
2-Butanol	Xn	10-36/37-67	13-24/25-26-46-7/9
tert.-Butanol	F, Xn	11-20	9-16
1,1'-Carbonyl-diimidazol	C	22-24	26-36/37/39-45
Chlorameisensäure-propargylester	T	10-23/24/25-34	26-36/37/39-45
1,8-Diaza-bi-cyclo[5.4.0]undec-7-en	C	22-34	26-36/37/39-45
Dichlormethylendi-methyliminiumchlorid	C	14-34-37	26-36/37/39-45
Dimethyl-carbamoylchlorid	T	45-22.1-23.1-36/37/38	53.1-45
Diphosgen	T^+	26-34	9-26-28.6-36/37/39-45
N-Ethyl-*N*´-(3-di-methyl-aminopropyl)-carbodiimid-HCl	Xi	36/37/38	-
Kaliumcarbonat	Xi	22-36/37/38	26-36
Kaliumhydroxid	C	22-35	22-26-37/39
Kohlenmonoxid	F, T	61-12-23.1-48/43.1	53.1-45
Natriumcarbonat	Xi	36	22-26
Natriumhydroxid	C	35	26-37/39-45
4-Nitrobrenzcatechin	Xi	36/37/38	26-36
Palladium(II)chlorid	Xi	37/38-41-43	26-/36/37/39
Palladium/Kohle-Katalysator	F	7	17

Reagenzien	Gefahren-symbole	R-Sätze	S-Sätze
1,2,2,6,6-Penta-methylpiperidin	Xi	10-22-36/37/38	26-36/37
1-Pentanol	Xn	10-20	24/25
(+/-)-2-Pentanol	Xn	10-20	24/25
3-Pentanol	Xn	10-20	24/25
Phenol	T	24/25-34	28.2-45
4-Phenoxyanilin	Xn	22-36/37/38-43	26-36/37/39
(+/-)-Phenylethanol	Xi	22-38-41	26-39
2-Phenylethanol	Xi	21/22-36/38	26-28.1-36/37
Phenylisocyanat	T	10-22-26-34-42-52	16-26-28.1-36/37/39-45
(R)-1-Phenyl-prop-2-inol	Xi	22	26-36/37/39
Phosgen	F, T^+	11-26-34	9-16-33-36/37/39-45
Phosphorsäure	C	34	26-45
Piperidin	F, T	11-23/24-34	16-26-27-45
2-Propanol	F, Xn	11-36-67	7-16-24/25-26
Pyridin	F, Xn	11-20/21/22	26-28.1
Pyrrolidin	F,C	11-20/22-35	16-26-36/37/39-45
Salzsäure	C, T	23-25	9-36/37/39-45
Schwefelsäure			
Thionylchlorid	C	14-20/22-29-35	26-36/37/39-45
Triethylamin	C, F	11-20/21/22-35	3-16-26-29-36/37-45
Trifluoressigsäure	C	20-35-52/53	26-36/37/39-45
Wasserstoff	F^+	12	9-16-33

Lebenslauf

Name:	Katharina Angelika Susanne Wehner
Geburtsdatum:	03. Dezember 1977
Geburtsort:	Celle

1984-1990	Grundschule und Orientierungsstufe Klein-Hehlen/Celle
1990-1997	Kaiserin-Auguste-Viktoria Gymnasium/Celle

10/1997-03/2002	Studium der Pharmazie, Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald
04/2002-10/2002	Diplomarbeit, Arbeitskreis Prof. Dr. H.-H. Otto, Institut für Pharmazie, Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald
11/2002-04/2003	Pharmaziepraktikum, Reventlow-Apotheke, Hamburg
08. Juli 2003	Approbation als Apothekerin
07/2003-05/2004	Apothekerin, St. Catherinen-Apotheke, Hamburg
05/2004-04/2007	Anfertigung der vorliegenden Dissertation, Arbeitskreis Prof. Dr. D. Geffken, Institut für Pharmazie, Universität Hamburg
05/2004-05/2007	Wissenschaftliche Mitarbeiterin, Institut für Pharmazie, Universität Hamburg