

**Struktur – Wirkungsbeziehungen an
Bicyclo[3.3.1]nonan-9-on-1,5-diestern
und anderen κ -selektiven Opioiden**

Dissertation



Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der
Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Diplom-Chemikerin Susanne Drosihn
geb. am 6.8.1970 in Köthen

Gutachter: 1. PD Dr. W. Brandt
2. Prof. U. Holzgrabe
3. Prof. H.-D. Höltje

Halle (Saale), den 12.11.99

Meinem Betreuer, Herrn PD Dr. Wolfgang Brandt, möchte ich für die herzliche Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, sowie für die Überlassung des interessanten Themas und die vielfältigen Gespräche und Diskussionen danken.

Sein Optimismus und Ideenreichtum waren mir immer Ansporn.

Besonders bedanken möchte ich mich bei

Meinen Kollegen für das freundliche Klima, die immer noch währende schöne Zusammenarbeit und die unzähligen Gespräche.

Unsrem Systemadministrator Dr. Heiko Schinke für die zu jeder Tages- und Nachtzeit gewährte Hilfeleistung wenn nichts mehr ging.

Frau Prof. U. Holzgrabe und Dr. Tom Siener für eine sehr erfolgreiche Zusammenarbeit, Diskussionsbereitschaft und die Unterstützung beim Anfertigen dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. W. Straßburger, Herrn Dr. Buschmann, Herrn Dr. E. Friderichs und Herrn Dr. M. Haurand, Grünenthal GmbH Aachen, für die pharmakologischen Testungen.

Herrn Prof. Dr. G. Adam (Institut für Pflanzenbiochemie Halle) für das große Verständnis während der Anfertigung dieser Dissertationschrift.

Meiner jetzigen Betreuerin Frau Dr. Andrea Porzel für das entgegengebrachte Interesse, die ständig gewährte Hilfsbereitschaft und die unerschöpfliche Geduld.

Nicht zuletzt möchte ich meinem Freund danken, welcher mich in das Reich der Computer eingeführt hat und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Meinen Eltern möchte ich für die Unterstützung während der langen Zeit des Studiums und der Promotion danken.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Opioid-Rezeptoren	2
1.2	Aufbau der Rezeptoren und Signalweiterleitung	3
1.3	Opioid- Agonisten und –Antagonisten	4
1.4	Struktur - Wirkungsbeziehungen	9
1.5	Experimentelle Untersuchungen an Bicyclononanonen	11
1.5.1	Konfigurations- und Konformationsbeschreibung der Diazabicyclo- [3.3.1]nonan-9-one	11
1.5.2	Pharmakologie	15
1.5.3	NMR- und pK _a -Wert Untersuchungen	17
1.6	Aufgabenstellung und Ziele	19
2	THEORETISCHE METHODEN	21
3	ERGEBNISSE	25
3.1	Theoretische Konformationsuntersuchungen	25
3.2	Untersuchungen zur Stellung der Methylgruppen an N3 und N7	28
3.3	Berechnung von Protonenaffinitäten	30
3.4	Diskussion der Ergebnisse im Vergleich mit experimentellen Daten	34
3.5	Semiempirische PM3 Berechnungen zur <i>cis-trans</i> Isomerie der aromatischen Substituenten am Bicyclus der Bicyclononanone	38
3.5.1	Thermodynamik des <i>cis/trans</i> Verhältnisses	41
3.5.2	Kinetik des <i>trans/cis</i> Isomerisierungs-Mechanismus	44
3.5.3	Untersuchungen zum Isomerisierungsmechanismus	44
3.5.4	Zusammenfassung der <i>cis/trans</i> Isomerie	53

4	Struktur-Wirkungsbeziehungen	55
4.1	Konformationsanalyse von Ketocyclazocin (KCZ)	56
4.2	Zugänglichkeits-Berechnungen der Stickstoffatome des Grundgerüsts	60
4.3	Konformationsanalyse verschiedener Arylacetamide	62
4.4	Erstellung des κ -Pharmakophormodells	64
4.4.1	Struktur-Wirkungsbeziehungen von EMD-61753	69
4.4.2	Vergleich der Oberflächenpotentiale	73
4.4.3	Zusammenfassung des κ -Pharmakophormodells	76
4.5	Vergleich des hier erstellten Modells mit Modellen aus der Literatur	78
4.6	Struktur-Wirkungsbeziehungen bei Bicyclononanonen	79
5	Vorschläge zur Synthese neuer Opioid-Liganden	88
5.1	Vergleich der pharmakophoren Konformation von κ -selektiven mit μ - und δ -selektiven Opioiden	88
5.2	Vorschläge zur Synthese neuer κ - und δ -selektiver Liganden	90
6	ZUSAMMENFASSUNG	96
7	LITERATURVERZEICHNIS	98
8	ANHANG	

Abkürzungsverzeichnis

ac	anticlinal
AG	Agonist
AT	Antagonist
EKC	Ethylketocyclazocin
G-Protein	Guanin-bindendes Protein
GDP	Guanosindiphosphat
GTP	Guanosintriphosphat
HAMOG	Hallesches Molekül-Grafik-Programm
$\Delta_B H$	Bildungsenthalpie
$\Delta_R H$	Reaktionsenthalpie
IC ₅₀	halbmaximale Hemmkonzentration
KCZ	Ketocyclazocin
K _i	Dissoziationskonstante des Enzym-Inhibitor-Komplexes
ORL	orphan receptor like
PDB	Brookhaven Protein Datenbank
PEOE	partial equilibration of orbital electronegativities
RKS	Röntgenkristallstruktur
RMS	root mean square
sc	synclinal
SS	Sessel-Sessel
SW	Sessel(N3)-Wanne(N7)
WS	Wanne(N3)-Sessel(N7)
WW	Wanne-Wanne

1 EINLEITUNG

In allen Kulturen der Erde spielen bewußtseinsverändernde Drogen eine wichtige Rolle. Seit Jahrtausenden schätzt der Mensch sie als Rausch- und Genußmittel und Bestandteil von Gift- und Heiltränken. Die Halluzinogene der Schamanen, die Pfeilgifte urtümlicher Jäger und das Curare der südamerikanischen Indianer gelten als die ältesten Drogen der Menschheit. Hinweise auf psychoaktive Pflanzenextrakte finden sich schon in archaischen Kulturen vor 12000 Jahren.^{1,2}

Die betäubende und euphorisierende Wirkung des Schlafmohns kannten die Sumerer bereits vor 6000 Jahren. Jedoch bis Anfang des 19. Jahrhunderts war völlig unbekannt, welche Inhaltsstoffe die seit Jahrtausenden geschätzte Wirkung des Opiums in seinen vielfältigen Erscheinungsformen ausmachen. Erst der aus Paderborn stammende Apotheker *F.W. Sertürner* isolierte und charakterisierte um 1804 den Hauptwirkstoff des Opiums. Aufgrund seiner Wirkung nannte er ihn nach dem griechischen Gott des Schlafes Morpheus, **Morphin**.³ Zur Behandlung postoperativer Schmerzen sowie zur Linderung tumorbedingter Schmerzzustände sind zentral angreifende Opioide^a nach wie vor die Analgetika der ersten Wahl. So wirkungsvoll sie einerseits die Schmerzen lindern, so problematisch ist die Tatsache, daß bei falscher Therapie Abhängigkeit auftreten kann. Aber auch unerwünschte Nebenwirkungen wie Atemdepression, Bradykardie (sinkende Herzfrequenz) oder Obstipation (Verstopfung) stellen ein Problem bei der Behandlung dar, da der

^a Substanzen wie z. B. Heroin und Codein, welche Bestandteile des Opiums sind oder sich von diesem ableiten, wurden ursprünglich als „Opiate“ bezeichnet. Später wurden alle diese Verbindungen, einschließlich der morphinartigen Analgetika und der analgetisch wirksamen Peptide, unter dem Begriff „Opioide“ zusammengefaßt. In dieser Arbeit wird daher der Begriff „Opioide“ verwendet.

Allgemeinzustand der zumeist schwerst kranken Patienten, die auf eine Opioidtherapie angewiesen sind, sehr schlecht ist. So ist es auch nach Jahren intensiver Forschung immer noch von großer Bedeutung, zentral wirksame Analgetika zu suchen, welche die erwähnten Nebenwirkungen nicht aufweisen.^{4,5} Es muß an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß die Voraussetzung für eine Suchtentwicklung ein wacher Organismus ist, dem ohne vorliegende Schmerzen, allein aus Gründen des Lustgefühls, Drogen zugeführt werden. Bei Patienten mit Schmerzen ist die Tendenz einer Sucht- und Abhängigkeitsentwicklung, im Vergleich zu Individuen ohne Schmerzen, kaum vorhanden. Verschiedene Studien belegen, daß es selbst bei Krebspatienten mit langfristiger Opioidgabe extrem selten zu einer Abhängigkeit kommt.⁵

1.1 Opioid-Rezeptoren

Ein entscheidender Fortschritt auf dem Gebiet der Opioidforschung war der Nachweis von Opioid-Rezeptoren.⁶⁻⁸ Der erste Hinweis, daß es nicht nur einen Opioid-Rezeptor gibt, wurde von *Martin und Mitarbeitern* erbracht.^{9,10} Es sind heute wenigstens drei Rezeptortypen mit unterschiedlichen Subtypen bekannt. Das sind der μ -Rezeptor, nach seinem wichtigsten Liganden dem Morphin benannt, der δ -Rezeptor (δ wie different) sowie der κ -Rezeptor, nach dem ersten bekannten Liganden, dem Ketocyclazocin, benannt.¹⁰⁻¹⁶

Weitere Rezeptortypen, wie ϵ (epsilon)^{17,18}, σ (sigma)¹⁹, λ (lambda)²⁰, ι (iota)²¹ und ζ (zeta)²² werden in der Literatur diskutiert, da aber bisher noch wenig über diese Rezeptoren bekannt ist, soll hier nicht näher darauf eingegangen werden.

Anhand von Bindungsstudien konnten verschiedene Subtypen der drei Opioid-Rezeptoren ermittelt werden. So wurden unter anderem μ_1 - und μ_2 - sowie δ_1 - und δ_2 -Opioid-Rezeptoren beschrieben.²³⁻²⁸ Für den κ -Rezeptor werden 3 Subtypen, κ_1 , κ_2 und κ_3 , diskutiert.²⁹⁻³² Es ist jedoch bisher noch nicht geklärt, ob diese unterschiedlichen Subtypen auch in verschiedenen Organen lokalisiert sind.

1.2 Aufbau der Rezeptoren und Signalweiterleitung

Die Opioid-Rezeptoren gehören zu den G-Protein (Guanin-Nucleotid-bindendes Protein) gekoppelten Rezeptoren. Sie sind membrangebundene Proteine und bestehen aus 370-400 Aminosäuren. Bisherige Untersuchungen weisen darauf hin, daß die Rezeptoren aus sieben Transmembranhelices bestehen, welche durch Loops verbunden sind. Sie besitzen weiterhin einen extrazellulären N-Terminus und einen intrazellulären C-Terminus. Obwohl diese Beschreibungen recht detailliert erscheinen, darf nicht vergessen werden, daß bisher nur die Aminosäuresequenzen der Opioid-Rezeptoren bekannt sind. Keiner dieser Rezeptoren ist bisher kristallisiert und röntgenstrukturanalytisch untersucht worden.

Jedoch werden seit einigen Jahren erhöhte Anstrengungen unternommen, die Struktur und Funktion von Opioid-Rezeptoren durch andere Methoden aufzuklären. Ausgangspunkt für solche Untersuchungen sind bisher hauptsächlich Mutations- und Chimerastudien.³³⁻³⁷ Diese bilden die Grundlage für bereits in der Literatur beschriebenen Modellen von solchen Rezeptoren, welche auf dem Vergleich der Aminosäuresequenzen untereinander und der Röntgenstruktur des wahrscheinlich strukturhomologen Proteins Rhodopsin³⁸, das allerdings eine ganz andere Funktion hat, beruhen.³⁹⁻⁴⁷ Speziell für den δ -Rezeptor wurden in der letzten Zeit ebenfalls Modelle entwickelt^{48,49}, bei denen jedoch, wie auch bei den anderen Modellen, nur die Helices untersucht wurden, und die für eine Ligandbindung und Signalweiterleitung entscheidenden Loops (anhand von Mutationsstudien nachgewiesen) und Umgebungseinwirkungen (Lipidschicht, Ionenkanäle) außer acht gelassen wurden. Vergleicht man die Aminosäuresequenzen der drei Opioid-Rezeptoren, so kann eine Homologie von $\approx 60\%$ festgestellt werden, wobei die κ - und δ -Opioid-Rezeptoren die größte Übereinstimmung aufweisen.

Opioid-Liganden können als Agonisten (AG), Antagonisten (AT) oder partielle Agonisten wirken. Agonisten hemmen die Schmerzweiterleitung und Antagonisten heben deren Wirkung wieder auf.

Aufgrund der verschiedenen Struktur und Funktion dieser Liganden binden sie auf unterschiedliche Weise am Rezeptor; so z. B. an einem extrazellulären Loop des membran- gebundenen Proteins oder direkt in einer Bindungstasche, welche von den sieben Helices gebildet wird. Es folgen Konformationsänderungen im Rezeptor, die wahrscheinlich durch Phosphorylierungen am C-Terminus oder Öffnung einer Salzbrücke ausgelöst werden.⁵⁰

Dadurch wird intrazellulär ein G-Protein aktiviert, welches aus drei Untereinheiten (α , β , γ) besteht. Dies hat zur Folge, daß Guanosindiphosphat (GDP) abgespalten wird und anschließend Guanosintriphosphat (GTP) bindet, wobei sich die α -Untereinheit mit dem GTP von der $\beta\gamma$ -Untereinheit des G-Proteins absplattet. Die α -Untereinheit bindet nun an ein Effektorprotein, z. B. Adenylatcyclase oder Phospholipase C, welches über die Bildung von Botenstoffen, wie cyclisches Adenosinmonophosphat, die Funktionen verschiedener zellulärer Effektoren reguliert. Durch unterschiedliche G-Protein-Typen werden stimulierende oder inhibierende Wirkungen auf Ionenkanäle, Enzyme und Transportproteine ausgeübt. Nach der Hydrolyse von GTP zu GDP lagern sich die Untereinheiten des G-Proteins wieder zusammen.

1.3 Opioid-Agonisten und -Antagonisten

Im Folgenden kann nur eine kurze Zusammenfassung über diese umfangreiche Thematik gegeben werden. Jedoch wurde bereits in einem Übersichtsartikel⁵¹ über Opioid-Agonisten, -Antagonisten und -Rezeptoren ausführlich berichtet.

Seit der Subtypisierung der Opioid-Rezeptoren und der Entdeckung körpereigener, sogenannter endogener Opioide, setzte eine verstärkte Suche nach neuen Schmerzmitteln mit günstigerem Nebenwirkungsspektrum ein. Die endogenen Opioide werden in Säugetierorganismen aus drei Precursor-Molekülen, dem Proopiomelanocortin, Proenkephalin und Prodynorphin gebildet. Weitere Familien von Opioidpeptiden, die Dermorphine und Deltorphine, wurden aus der Haut von Amphibien isoliert. Zu den exogenen Opioiden werden β -Casomorphine gezählt, die Fragmente des Rinder- β -Caseins sind (Schema 1).

Die Entdeckung der endogenen Peptide führte zur Synthese einer Vielzahl neuer Peptide und Peptidanaloga und ihrer Testung hinsichtlich einer starken analgetischen Wirkung, langer Wirkdauer und einer hohen Rezeptorspezifität.

Die heute in der Pharmakotherapie eingesetzten Opioide wirken im allgemeinen am μ -Rezeptor. Jedoch weisen diese Pharmaka nicht nur eine hohe Analgesie auf, sondern zeigen auch starke Nebenwirkungen wie Tachykardie, Bradykardie, Obstipation und Toleranzentwicklung. Die Ursache dafür ist in der geringen Spezifität der Opioidliganden gegenüber einem bestimmten Rezeptor zu finden. So greifen die Pharmaka nicht nur am μ_1 -, sondern auch am μ_2 -Rezeptor an und wirken ebenfalls auf das endokrine System.

Schema 1: Übersicht über natürlich vorkommende Opioidpeptide.

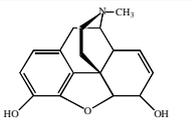
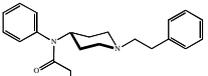
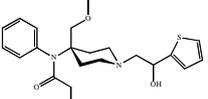
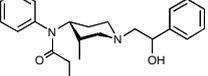
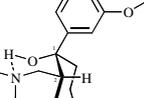
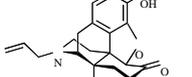
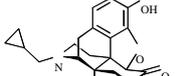
Precursor	Verbindung	Aminosäuresequenz	Rezeptor-Selektivität
Proenkephalin	[Leu ⁵]-Enkephalin	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH	$\delta > \mu > \kappa \approx 0$
	[Met ⁵]-Enkephalin	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH	$\delta > \mu > \kappa \approx 0$
Proopiomelanocortin	β_h -Endorphin	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu-OH	$\mu = \delta > \kappa$
Prodynorphin	Dynorphin A [1-8]	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-OH	$\kappa > \mu > \delta$
	Dynorphin B [1-13]	H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Gln-Phe-Lys-Val-Val-Thr-OH	$\kappa > \mu > \delta$
Dermorphine	Dermorphin [1-7]	H-Tyr-(R)Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH ₂	$\mu \gg \delta, \kappa \approx 0$
Deltorphine	Deltorphin I	H-Tyr-(R)Ala-Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH ₂	$\delta \gg \mu > \kappa \approx 0$
	Deltorphin II	H-Tyr-(R)Ala-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH ₂	
β -Casein	β -Casomorphin-5	H-Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-OH	$\mu > \delta > \kappa \approx 0$
	Morphiceptin	H-Tyr-Pro-Phe-Pro-NH ₂	$\mu \gg \delta > \kappa \approx 0$
?	Endomorphin I	H-Tyr-Pro-Trp-Phe-NH ₂	$\mu > \delta > \kappa^{**}$
?	Endomorphin II	H-Tyr-Pro-Phe-Phe-NH ₂	
?	Nociceptin	H-Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln-OH	$ORL_1 \gg \mu, \delta, \kappa^*$

Die mit * und ** gekennzeichneten Selektivitäten wurden Lit. [52] und Lit. [53] entnommen, alle übrigen.⁵⁴

Ziel ist es daher, hoch spezifische, also nur an einen Rezeptorsubtyp angreifende Opioide mit einem möglichst geringen Nebenwirkungsspektrum zu finden. Bei den μ -selektiven Pharmaka zählen dazu Loperamid und Codein, welche bereits in der Praxis angewendet werden. Neueste Medikamente, welche hauptsächlich bei der Schmerzbekämpfung während chirurgischer Eingriffe angewendet werden, sind Fentanyl, Sufentanil, Alfentanil und Tramadol.

Morphin ist die Ausgangsstruktur für viele nicht-peptidische μ -Opioide. In dem folgenden Schema 2 sind einige Vertreter peptidischer und nicht-peptidischer μ -Liganden aufgeführt.

Schema 2: μ -Opioide-Agonisten (AG)- und Antagonisten (AT)

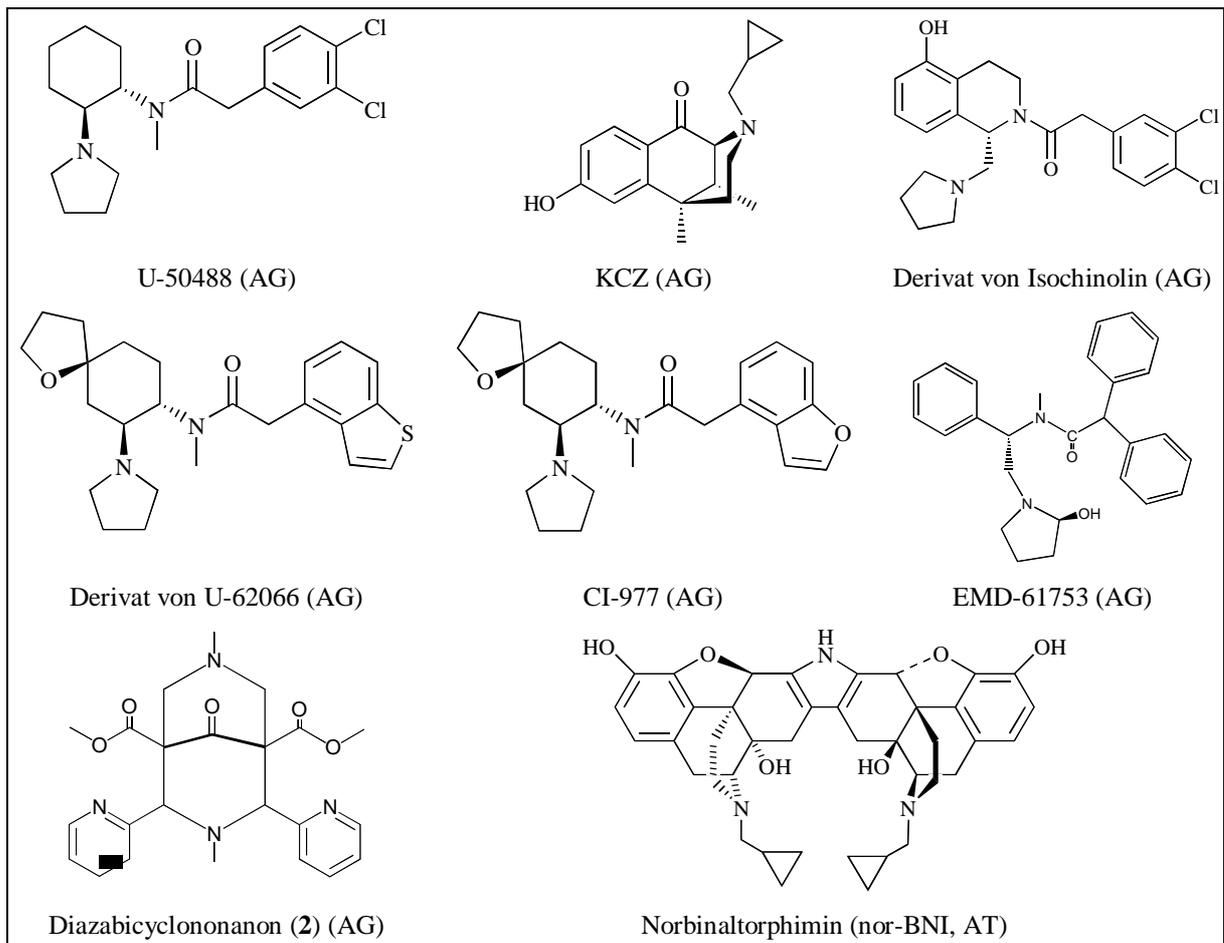
Peptidische Verbindung	Sequenz	Nicht-peptidische Verbindung	Struktur
DAMGO/DAGO (AG)	H-Tyr ¹ – (R)Ala ² – Gly ³ – MePhe ⁴ – NH-CH ₂ -CH ₂ -OH	Morphin (AG)	
Morphiceptin (AG)	H-Tyr ¹ – Pro ² – Phe ³ – Pro ⁴ -NH ₂	Fentanyl (AG)	
β -Casomorphin-7 (AG)	H-Tyr ¹ – Pro ² – Phe ³ – Pro ⁴ – Gly ⁵ – Pro ⁶ – Ile ⁷	Sufentanil (AG)	
Dermorphin (AG)	H-Tyr ¹ – (R)Ala ² – Phe ³ – Gly ⁴ – Tyr ⁵ – Pro ⁶ – Ser ⁷ -NH ₂	Ohmefentanyl (AG)	
DALDA (AG)	H-Tyr ¹ – (R)Arg ² – Phe ³ – Lys ⁴ -NH ₂	(1R,2R)-Tramadol (AG)	
SMS-201995 (AT)	H-(R)Phe ¹ -cyclo[Cys ² -Phe ³ – (R)Trp ⁴ – Lys ⁵ – Thr ⁶ – Cys ⁷] – Thr-OH ⁸	Naloxon (AT)	
CTP (AT)	H-(R)Phe ¹ -cyclo[Cys ² -Tyr ³ – (R)Trp ⁴ – Lys ⁵ – Thr ⁶ – Pen ⁷] – Thr-OH ⁸	Naltrexon (AT)	

Selektive δ -Rezeptor-Agonisten scheinen gegenüber μ -Rezeptor-Agonisten ein geringeres Nebenwirkungsspektrum zu besitzen. Erst seit kurzer Zeit stehen nicht-peptidische δ -Agonisten zur Verfügung. Wichtige Vertreter hierfür sind (+)-SNC80⁵⁵ und (+/-)-

κ -Selektive Opioide zeichnen sich durch hohe Analgesie aus, wobei die μ -spezifischen Nebenwirkungen, wie z. B. Atemdepression, Obstipation oder physische Abhängigkeit nicht festgestellt werden können. Sie galten lange Zeit als die Zukunft der stark wirksamen Analgetika. Jedoch zeigt sich bei den κ -Opioiden ein anderes Nebenwirkungsspektrum mit Sedierung (Beruhigung), Dysphorie (gedämpfte Stimmungslage) und Diurese (Harnausscheidung), welches den therapeutischen Einsatz bisher erschwert.

Die ersten nicht-peptidischen κ -Agonisten stellten z. B. die Benzomorphone mit Ketocyclazocin als ihrem wichtigsten Vertreter dar.⁹ Einen entscheidenden Einfluß auf die Entwicklung neuer wirksamer κ -Opioide hatte die Entdeckung der analgetischen Wirkung der Arylacetamide von *Upjohn et al.*^{58,59} Die später als Leitstruktur verwendete Verbindung U-50488 (Schema 4) zeichnet sich durch hohe Selektivität und Rezeptorspezifität aus.⁶⁰ Modifikationen im Aryl- und Cyclohexanteil der Arylacetamide führten zu den Verbindungen U-62066⁶¹ (Spiralodin) und U-69593 (Schema 6, Seite 20),⁶² welche ein ähnliches Wirkprofil besitzen. Die Affinität und Selektivität zum κ -Rezeptor ist bei dem Benzofuranderivat CI-977 (Enadolin) wesentlich erhöht.⁶³ Eine weitere interessante Gruppe von Arylacetamiden sind die EMD-Derivate von *Gottschlich et al.*^{64,65} Die Derivate können in vier stereoisomeren Formen auftreten, die unterschiedliche Aktivitäten zum κ -Rezeptor aufweisen.

κ -Selektive Antagonisten durch Modifizierung von Dynorphin A zu entwickeln, ist bisher noch nicht gelungen. Der bekannteste κ -Antagonist ist das Norbinaltorphimin, bei welchem Pyrrol als Spacer dient.⁶⁶ Diese Verbindung erwies sich als sehr wirksam und selektiv. In Schema 4 sind die Strukturen einiger nicht-peptidischer κ -Agonisten und Antagonisten aufgeführt. Auf die κ -selektiven Bicyclononanone wird in den folgenden Kapiteln ausführlich eingegangen.

Schema 4: κ -Opioid-Agonisten und -Antagonisten**1.4 Struktur-Wirkungsbeziehungen**

Für die Entwicklung von Struktur-Wirkungsbeziehungen können Strukturen aus der NMR-Spektroskopie bzw. Röntgenstrukturanalyse herangezogen werden und dann mit pharmakologischen Daten wie Aktivität oder Bindungsaffinitäten verglichen werden. Diese spektroskopischen Daten sind aus experimenteller Sicht jedoch bisher schwer zugänglich, da der Rezeptor mit dem Liganden erst isoliert und dann gemessen werden müsste. Aus diesem Grunde sind mittels Molecular Modelling erstellte 3D-Strukturen eine Möglichkeit, die Beziehungen zwischen Struktur und Aktivität einer Vielzahl von Liganden zu untersuchen. Daraus abgeleitet können Modelle für Liganden mit ähnlicher Rezeptorspezifität erstellt werden.

Erste Vorstellungen von Struktur-Wirkungsbeziehungen bei Opioiden gehen auf *Beckett und Casy* im Jahre 1954 zurück. Als essentielles Strukturmerkmal für Opioide wird hier das Vorhandensein eines Aromaten und dazu in bestimmter räumlicher Position ein protoniertes Stickstoffatom beschrieben.⁶⁷

Für die Erstellung eines Pharmakophormodells mittels Molecular Modelling ist die Ermittlung der pharmakophoren Konformation bzw. bioaktiven Konformation des Liganden, welche am Rezeptor vorliegt und die Selektivität und Affinität der Verbindung bestimmt, entscheidend. Dieses Modell wird durch die sterischen und elektrostatischen Ähnlichkeiten der 3D-Strukturen charakterisiert. In der Literatur werden sowohl für Agonisten und Antagonisten als auch für Peptide und Nicht-Peptide unterschiedliche Bindungsstellen im Rezeptor diskutiert.⁶⁸⁻⁷⁰ Die Frage, in welcher Weise Agonisten und Antagonisten an den Rezeptor binden, bzw. durch welche Strukturmerkmale die Affinität jeweils charakterisiert wird, ist bis heute noch nicht eindeutig aufgeklärt. Mit Hilfe der Pharmakophormodelle für die Liganden der unterschiedlichen Rezeptortypen ist es möglich, mehr Einblick in diese Problematik zu erhalten. Aber erst die Aufklärung der Röntgenstruktur eines Opioidrezeptors wird diese Fragen beantworten, und die Richtigkeit der Modelle letztendlich bestätigen können. In den letzten Jahren wurden für die rezeptorspezifischen Liganden immer detailliertere Modelle erstellt. So gibt es eine Reihe von Modellen für μ -Opioide. Jedoch konnte z. B. das Modell von *Portoghese*^{71,72} noch nicht die Aktivität von Morphin im Vergleich zu hochpotenten Fentanylanalogen überzeugend erklären. Erst einem umfassenden Modell für peptidische und nicht-peptidische μ -Agonisten von *Brandt* gelang dies.^{73,74,69} Ebenso existieren für δ -Opioid-Agonisten bereits einige Pharmakophormodelle.^{75,76} Auf der Grundlage von theoretischen Konformationsanalysen entstanden verschiedene Modelle für κ -Opioid-Liganden.⁷⁷⁻⁷⁹ Als Vergleichsstruktur diente bei den meisten Modellen das relativ starre Ketocyclazocin (KCZ) bzw. Ethylketocyclazocin (EKC).⁸⁰⁻⁸² Die bisher bekannten κ -Opioid-Modelle vergleichen jedoch nur strukturell sehr ähnliche Verbindungen.

1.5 Experimentelle Untersuchungen an Bicyclononanonen

1.5.1 Konfigurations- und Konformationsbeschreibung der Diazabicyclo- [3.3.1]nonan-9-one

Die Bindung eines Liganden an den Rezeptor und die daraus resultierende pharmakologische Aktivität wird sowohl durch die vorliegende Konfiguration der Verbindung als auch durch die Konformation des Moleküls bestimmt.

Da die Bicyclononanone vier chirale Kohlenstoffatome besitzen sind theoretisch 16 Konfigurationen möglich. Die Konfigurationen der Estergruppen (an C1 und C5) wurden in diese Untersuchungen jedoch nicht mit einbezogen, da diese durch die Synthese vorgegeben sind. Bei der Knüpfung mit dem zweiten Piperidonring ergibt sich eine R,S bzw. S,R Konfiguration an C1 und C5.

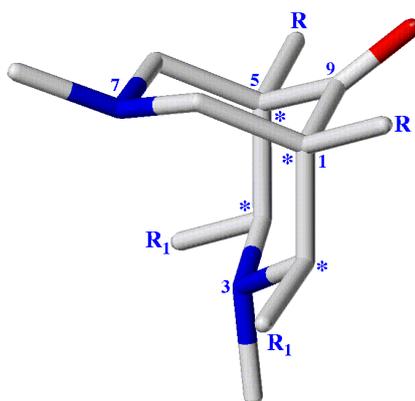


Abbildung 1: Numerierung und Kennzeichnung der chiralen Kohlenstoffatome (*) im Bicyclononanon-Grundgerüst (R = Methylester, R₁ = Aromaten).

Es können Konfigurationsisomere durch eine unterschiedliche Stellung der aromatischen Substituenten in 2- und 4-Position auftreten. Die Aromaten können axial/axial bzw. äquatorial/äquatorial angeordnet sein, welches zwei *cis*-Isomeren entspricht, und sie können axial/äquatorial stehen bzw. das entsprechende Enantiomer (äquatorial/axial), welches zwei

trans-Isomeren entspricht. NMR-Untersuchungen und Röntgenstrukturanalysen zeigten, daß die Aromaten in einer *cis*-Stellung nur in äquatorialer Anordnung vorkommen (Abbildung 2). Bei heterocyclischen bzw. voluminösen Substituenten und gleichzeitig einer Methylgruppe an N3 tritt eine Rotationsbehinderung der Aromaten auf. Sind diese Substituenten selbst nicht symmetrisch bezüglich der C2-C_{Aromat} Achse aufgebaut (z.B. Pyridyl-, Chinolyl-Reste), können Atropisomere auftreten. In der *cis*-Konfiguration gibt es zwei symmetrische (+ac/-ac, +sc/-sc) und zwei asymmetrische (+ac/+sc, +sc/+ac) Isomere. In der entsprechenden *trans*-Konfiguration werden im weiteren die analogen Konformere als pseudo-symmetrisch (-sc/+ac, +ac/-sc) und pseudo-asymmetrisch (-sc/-sc, +ac/+ac) bezeichnet. Die *cis/trans*-Konfiguration mit den entsprechenden Atropisomeren sind an einem Beispiel (Verbindung 14) in Abbildung 2 dargestellt.

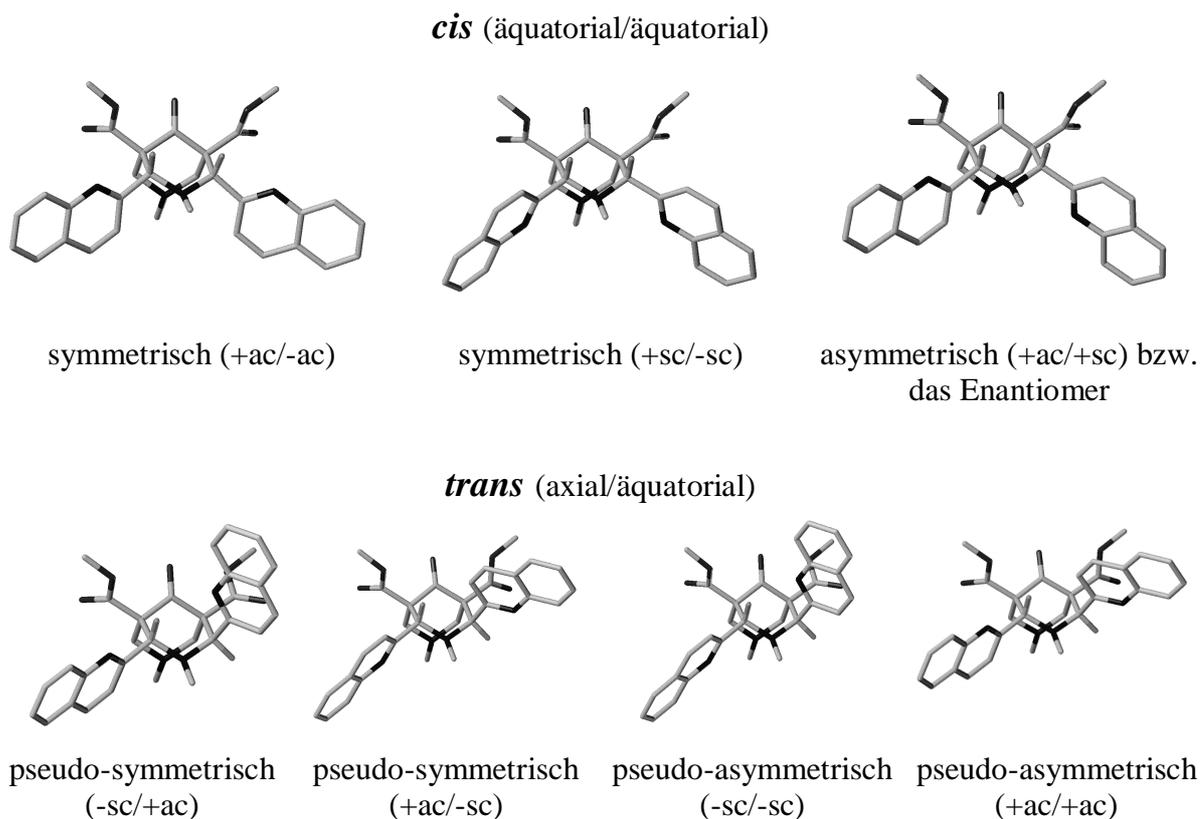


Abbildung 2: Atropisomere in der *cis*- und *trans*-Konfiguration der Verbindung 14

Weiterhin müssen die unterschiedlichen Konformationen des Bicyclus betrachtet werden. Er kann vier verschiedene Konformationen einnehmen, welche die Sessel/Sessel (SS), Sessel/Wanne(N7) (SW), Wanne(N3)/Sessel (WS) und Wanne/Wanne (WW) Konformationen sind (Abbildung 3).

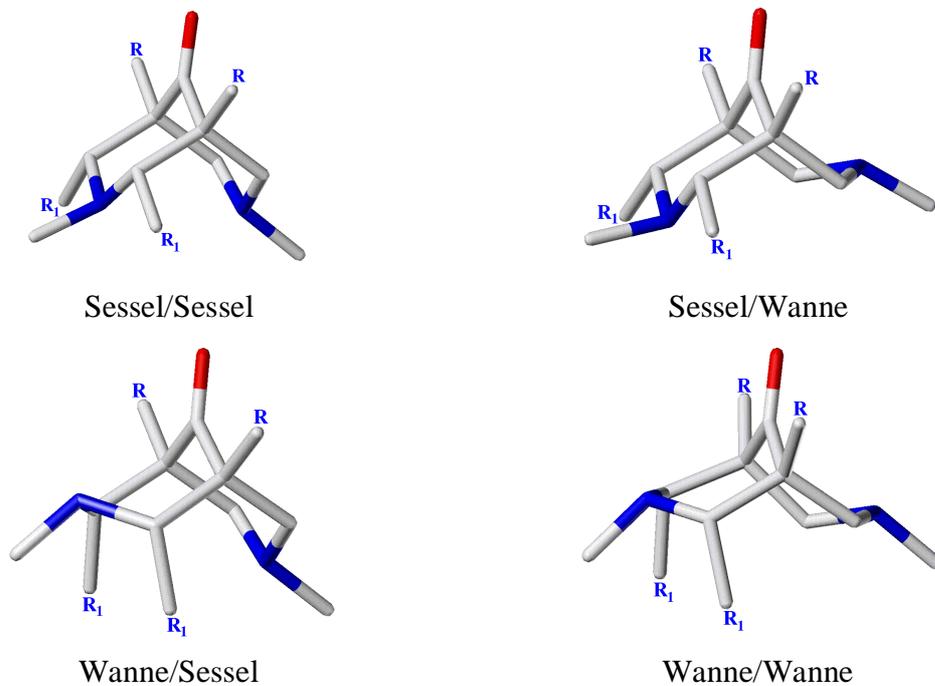


Abbildung 3: Konformationen des Bicyclus bei Bicyclononanonen

Weitere Konformationsisomere treten durch die mögliche axiale und äquatoriale Stellung der Methylgruppen an den Stickstoffatomen N3 und N7 des Bicyclus auf (siehe Kapitel 3.2, Seite 28) als auch durch die mögliche Rotation der Estergruppen.

Zusammenfassend müssen für das *cis*-Isomer (äquatorial/äquatorial) insgesamt 48 Grundstrukturen berechnet werden:

3 Konfig. (Atropisomere) **x 4 Konform.** (Bicycluskonform.) **x 4 Konform.** (Stellung d. Methylgr. an N3, N7) = **48 Strukturen**

Das andere Isomer (axial/axial) muß nicht in die Betrachtungen einbezogen werden, da aus den NMR-Untersuchungen hervorgeht, daß diese Konfiguration nicht auftritt.

Für das *trans*-Isomer muß ebenfalls nur eine Konfiguration an C2/C4 (axial/äquatorial) berechnet werden, da das entsprechende Enantiomer (äquatorial/axial) in seinen chemischen Eigenschaften (z.B. Energie) gleich ist, solange nur das isolierte Molekül betrachtet wird.

Hier ergeben sich insgesamt 64 Grundstrukturen:

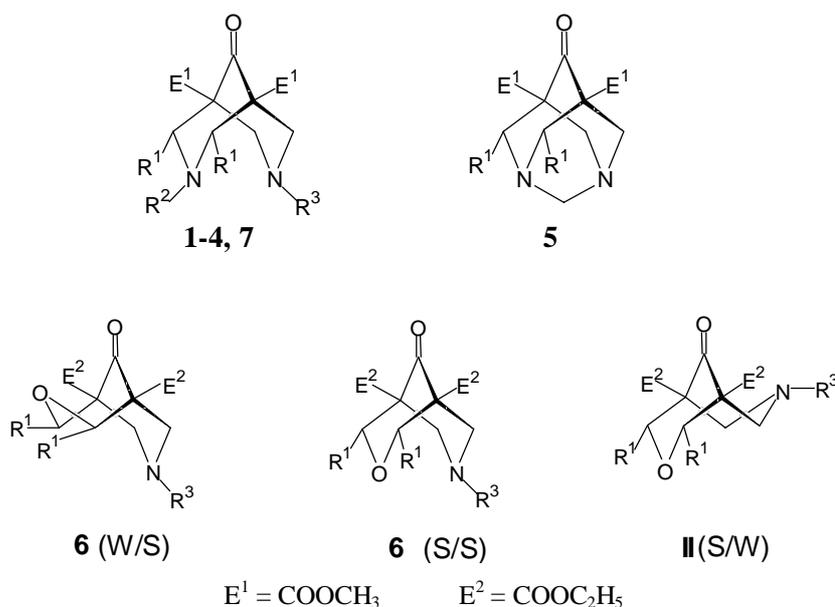
4 Konfig. (Atropisomere) **x 4 Konform.** (Bicycluskonform.) **x 4 Konform.** (Stellung d. Methylgr. an N3, N7) = **64 Strukturen**

Hinzu kommen für alle Grundstrukturen die unterschiedlichen Konformationen der Estergruppen und Aromaten, welche jeweils über eine systematische Konformationsuche ermittelt werden.

1.5.2 Pharmakologie

Bereits vor einigen Jahren hatten pharmakologische Untersuchungen wie Tail-Flick-, Phenylchinon-writhing- und Hot-plate-Test mit heterocyclischen Bicyclo[3.3.1]nonan-9-onen⁸³ ein opioidartiges Wirkprofil ergeben. Nachfolgende Radioligand-Bindungsuntersuchungen mit 2,4-dipyridylsubstituierten 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on-1,5-dimethylester zeigten eine große Affinität zum κ -Rezeptor, insbesondere zum κ_1 -Rezeptor ($IC_{50} = 6,8 \text{ nM}$), während die Affinität zum μ - und δ -Rezeptor um den Faktor 500 bzw. 1000 niedriger war.⁸⁴

Schema 5: Heterocyclische Bicyclo[3.3.1]nonan-9-on-Derivate



Verbindung	R^1	R^2	R^3
1	2-pyridyl	H	CH_3
2	2-pyridyl	CH_3	CH_3
3	phenyl	CH_3	CH_3
4	2-pyridyl	H	$\text{CH}_2\text{C}_3\text{H}_7$
5	2-pyridyl	-	$-\text{CH}_2-$
6	phenyl	-	CH_3
7	3-Cl-phenyl	CH_3	CH_3
II	phenyl	-	adamantyl

Die heterocyclischen Bicyclo[3.3.1]nonan-9-on-Derivate, welche in Schema 5 zu sehen sind, wurden in Hinsicht auf ihre Fähigkeit, selektive Radioliganden von jedem Rezeptorsubtyp kompetitiv zu verdrängen, von der Grüenthal GmbH Aachen getestet. Dabei wurde für den μ -Rezeptor Naloxon (Schema 2), für den κ -Rezeptor CI-977 (Schema 4) und für den δ -Rezeptor DPDPE verwendet. Die K_i -Werte bzw. die prozentuale Inhibierung der Radioligandbindung sind für jede Substanz in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Ergebnisse der Radioligandbindungsuntersuchungen an den 3 Rezeptorsubtypen μ , δ , κ . Angegeben sind K_i -Werte bzw. %-Hemmung der Radioligandbindung bei konstanter Ligandkonzentration.⁸⁵

Verbindungen	³ H]-CI-977-Bindung κ -Rezeptor	³ H]-Naloxon-Bindung μ -Rezeptor	³ H]-p-Cl-DPDPE-Bindung δ -Rezeptor
	K_i oder % Inhibierung für 10 μ M	% Inhibierung für 1 μ M	% Inhibierung für 10 μ M
1	9,7 \pm 4,0 nM	15,3	6,5
2	15,3 \pm 5,9 nM	20,0	5,0
3	211,0 \pm 35,0 nM	14,5	-0,3
4	15,8 %	5,7	1,1
5	11,4 %	-0,4	11,2
6	8,5 %	5,1	17,5
7	17,1 %	8,8	-0,8

K_i -Werte entsprechen der mittleren Standardabweichung von drei Experimenten wovon jedes dreimal durchgeführt wurde. % Inhibierungswerte stellen den Mittelwert aus zwei Experimenten mit jeweils drei durchgeführten Untersuchungen dar.

Die 2,4-dipyridylsubstituierten 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on-1,5-diester (**1**, **2**) erwiesen sich als die aktivsten κ -agonistischen Verbindungen in dieser Serie, und zwar im nanomolaren Bereich. Die Affinität zu den anderen Rezeptoren ist sehr gering. Der Austausch der Pyridinringe gegen Phenylringe (**3**) erniedrigt die κ -Affinität signifikant. Aufgrund von Löslichkeitsproblemen bei den Verbindungen **4-7** im physiologischen Puffersystem wurde eine 10 μ M Suspension getestet. Die Ergebnisse dieser Experimente sind nicht vergleichbar mit den oben erwähnten K_i -Werten. Trotz allem wurde im Vergleich zu der Verbindung **2**

eine niedrigere Affinität zum κ Rezeptor sowie zu den anderen Rezeptoren konstatiert. Dies ist in Übereinstimmung mit Ergebnissen, welche bei Untersuchungen am vas deferens der Maus (MVD) erhalten wurden.⁸⁶

Weitergehende pharmakologische Untersuchungen ergaben für **2** eine gute perorale Verfügbarkeit. Die Effekte waren mit Norbinaltorphimin (κ -Antagonist) aufhebbar, jedoch gelang dies nicht mit Naloxon.

Zusammenfassend wurde die Verbindung **2** als typischer κ -Agonist mit langer Wirkdauer von der Grünenthal GmbH beschrieben.⁸⁷

1.5.3 NMR- und pK_a-Wert Untersuchungen

Für den therapeutischen Einsatz zentralwirksamer Analgetika sind die Säure-Base-Eigenschaften der Substanzen von großer Bedeutung. Damit der Arzneistoff die Blut-Hirn-Schranke bei physiologischem pH-Wert überwinden kann, muß er zum größten Teil ungeladen vorliegen. Bisher wird angenommen, daß bei Opioiden das protonierte Stickstoffatom ein Bestandteil des Pharmakophors ist, und somit die Säure-Base-Eigenschaften der Opioide auch für die Bindung am Rezeptor entscheidend sind. Die Verbindungen müssen einerseits die Blut-Hirn-Schranke überwinden, also unpolar sein, und andererseits am Wirkort in ausreichender Menge protoniert vorliegen.

Um die Konformationen der Bicyclononanone und ihren Protonierungsgrad aufzuklären, wurden sowohl NMR-spektroskopische Messungen als auch pK_a-Wert-Bestimmungen durchgeführt.¹¹³

Es wurden die chemischen Verschiebungen aus den ¹³C-NMR-Spektren der Verbindungen **1-3** und **7**⁸⁸ mit den Konformationsisomeren des entsprechenden 3-Oxa-7-azabicyclo-[3.3.1]nonanons (**6**) (Schema 5) verglichen (siehe Anhang, Tabelle I), dessen Struktur durch Röntgenstrukturanalyse gesichert wurde.⁸⁹ Die chemischen Verschiebungen des Ketocarbonyl-Kohlenstoffatoms C9, der Brückenkopf-atome C1/C5 und der Methylene-

kohlenstoffatome C6/C8 sind relativ unabhängig von der Substitution O → N in Position 3, aber empfindlich gegenüber Konformationsänderungen (Numerierung siehe Abbildung 1, Seite 11).⁹⁰ Die δ -Werte dieser Atome (siehe Anhang, Tabelle II) sind in guter Übereinstimmung mit den chemischen Verschiebungen der entsprechenden Atome des SS-Oxa-azabicyclononanon (6), was auf eine SS-Konformation des Diazabicyclus in DMSO- d_6 schließen läßt.

Im Fall des 2,4-bis(*m*-Chlorphenyl-3,7-dimethyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on (7) wurden Konformationsisomere gefunden⁸⁸, da die Rotation der *m*-Cl-Phenylringe durch die Methylgruppe an N3 eingeschränkt ist.

Dieser Effekt, welcher nur in der Sessel-Konformation des 2,4-substituierten Piperidons auftrat, konnte durch ¹H-NMR von 3 nachgewiesen werden. Bei 3 ist das H2' Proton des Phenylringes signifikant tieffeldverschoben; auch alle anderen zeigen deutlich separierte Signale. Im Gegensatz dazu wurde im Spektrum des entsprechenden N3-H-Derivates von 3 für die chemisch äquivalenten Phenylwasserstoffe nur ein Singulett beobachtet, da der Phenylring frei drehbar ist.⁸³ Zusätzliche NOE-Messungen an 3 zeigten räumliche Nachbarschaft zwischen den H2'/H2'' der Phenylringe und den Protonen an C2/C4, was auf eine nahezu senkrechte Stellung der Phenylringe am Piperidongerüst hinweist. Weiterhin wurde festgestellt, daß dieser NOE-Effekt im N3-H-Derivat 1 stärker auftritt als in der N3-methylsubstituierten Verbindung 2. Die NMR-Ergebnisse für 1-7 zeigten ausschließlich eine *cis*-Anordnung (äquatorial/äquatorial) der aromatischen Substituenten zueinander.

Die NMR-spektroskopische Bestimmung des pK_a -Wertes und somit die Ermittlung des Protonierungsgrades von Diazabicyclononanonen ist durch die Unlöslichkeit der Substanzen in Wasser und ihre geringe Säurestabilität erschwert. Deshalb wurden andere Methoden zur Ermittlung des Protonierungsgrades verwendet. Die pK_a -Werte wurden von Siener mittels einer potentiometrischen Methode mit einem Mikrotitrator PCA 101 bestimmt (siehe Anhang,

Tabelle III).⁹¹ Die erneuten Messungen ergaben, daß die untersuchten Diazabicyclononanone bei physiologischem pH-Wert zu 80 % zweifach positiv geladen vorliegen.⁸⁷

Beide experimentellen Methoden konnten jedoch keine eindeutigen Ergebnisse hinsichtlich der bevorzugten Protonierungsorte (N3, N7 und ggf. Pyridin- oder Chinolinstickstoff) liefern, da die Fehlergrenzen sehr hoch liegen und beim Vergleich der Ergebnisse beider Methoden Widersprüche auftraten. Mehr Aufschluß über die begünstigten Protonierungsorte und die Reihenfolge der Protonierung der Bicyclononanone sollten die in dieser Arbeit dargestellten quantenchemischen Berechnungen liefern.

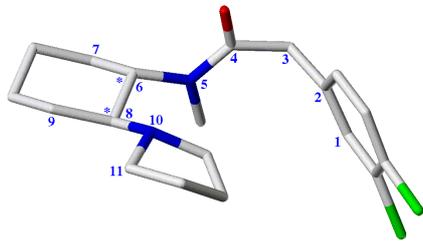
1.6 Aufgabenstellung und Ziele

Die bisher bekannten Opioide weisen alle ein relativ hohes Nebenwirkungsspektrum auf. Im Mittelpunkt der heutigen Forschung steht daher die Entwicklung von hoch selektiven und affinen Pharmaka, die in der Praxis besser und umfangreicher eingesetzt werden können.

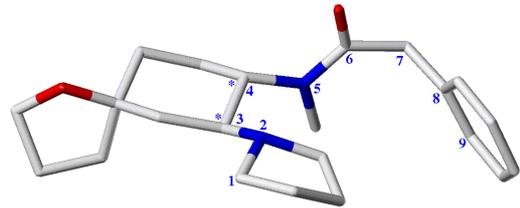
Durch systematische Konformationsanalysen und Substanzklassen-spezifische Pharmakophormodelle ist es heute möglich, gezielte Vorschläge für die Synthese zu erbringen und somit in effektiver Zusammenarbeit mit Synthese und pharmakologischen Tests zu neuen hochwirksamen Medikamenten zu gelangen.

Eine relativ neue Klasse von κ -Opioiden stellen die heterocyclischen Bicyclo[3.3.1]nonanone dar. Diese Bicyclononanone sollten wenn möglich ähnliche Merkmale wie die bekannten Arylacetamide sowie Ketocyclazocin (Schema 6) aufweisen. Deshalb sollte für alle untersuchten Verbindungen zunächst eine systematische Konformationsanalyse durchgeführt werden. Sowohl diese Untersuchungen als auch Vergleiche mit bisher bekannten Modellen sollten Ausgangspunkt für die Erstellung eines neuen allgemeinen Pharmakophormodells für κ -Agonisten darstellen und damit pharmakophore Strukturen mit gemeinsamen strukturellen und elektrostatischen Eigenschaften für eine selektive Bindung am κ -Rezeptor liefern. Mit

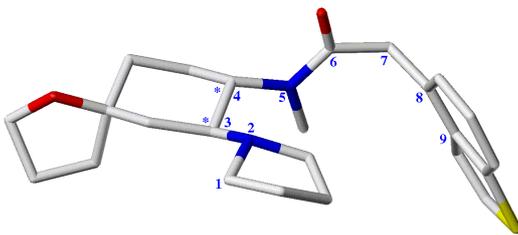
Hilfe dieses Modells und dem Vergleich mit μ - und δ -selektiven Verbindungen sollte es möglich sein, neue κ - und δ -selektive Verbindungen für die Synthese vorzuschlagen.



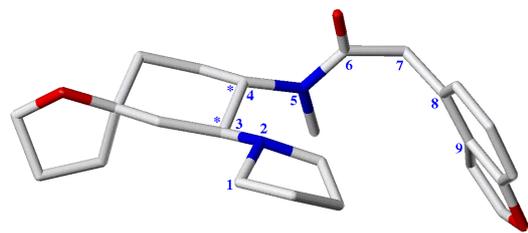
a) U-50488



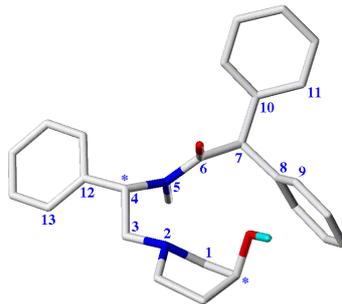
b) U-69593



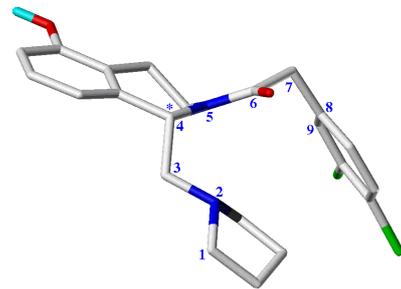
c) 4-Benzothieryl-Derivat von U-62066



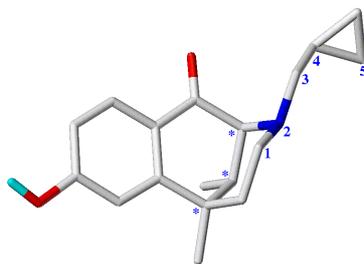
d) CI-977



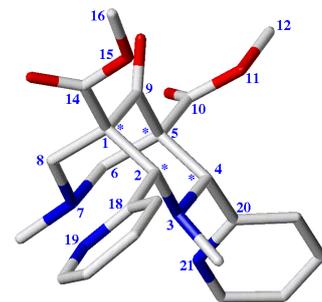
e) EMD-61753



f) Tetrahydroisochinolin-Derivat



g) Ketocyclazocin (KCZ)



h) Bicyclononanon 2

Schema 6: Schematische Darstellung der untersuchten κ -Opioiden.^b

^b Die willkürlich gewählte Numerierung dient zur Torsionswinkel-Definition.

Farbcodierung: C-weiss, O-rot, N-blau, H-cyan, Cl-grün, S-gelb; Die Protonen (außer an Heteroatomen) wurden der Übersichtlichkeit halber nicht dargestellt.

2 THEORETISCHE METHODEN

Grundlage für Molecular-Modelling-Untersuchungen von Molekülen und die Analyse von erhaltenen Konformationen ist eine Beziehung zwischen der räumlichen Anordnung der Atome im Molekül und der Energie dieser speziellen Anordnung. Zur Energieberechnung der Moleküle gibt es grundsätzlich drei verschiedene Ansätze. Das sind zum einen die „ab initio“ Methoden, welche die Lösung der Schrödinger Gleichung numerisch approximieren. Diese Methoden sind jedoch für die hier untersuchten Strukturen sehr rechenzeitaufwendig. Die semiempirischen Methoden beruhen grundsätzlich auf dem Formalismus der „ab initio“ Technik, aber mit zahlreichen Vereinfachungen. So werden bei dieser Methode nur die Valenzelektronen betrachtet. Weiterhin werden empirische Parameter, welche auf experimentellen Daten beruhen, eingefügt. Mit diesen Verfahren können Moleküle mit einigen 100 Atomen berechnet werden; sie sind somit für die Untersuchung der κ -Opioid-Agonisten geeignet. Um jedoch den gesamten Konformationsraum einer Verbindung schnell zu erfassen, d. h. die Energie aller möglichen Konformationen zu berechnen, ist es sinnvoll, Kraftfeldverfahren einzusetzen. Die hierbei verwendete Energiefunktion ist von den Kernkoordinaten abhängig, die Elektronenkoordinaten werden dabei nicht berücksichtigt. Die Energiegleichungen des Kraftfeldes sind aus Einzeltermen zusammengesetzt, welche eine Funktion der Molekülgeometrie sind. Jedes Kraftfeld besitzt einen bestimmten Parametersatz und zum Teil unterschiedliche Funktionen. So enthält das im Rahmen dieser Arbeit verwendete TRIPOS-Kraftfeld Potentialterme für Bindungslängen und -winkel, Torsionswinkel, Terme für die Verletzung der Planarität von speziellen Atomanordnungen (C_{sp}^2 , z.B. Aromaten), sowie Terme für elektrostatische und van-der-Waals-Wechselwirkungen (Details siehe Anhang, A-2). Es werden dabei z. B. für den Torsionswinkelbeitrag modifizierte Sinus- oder Cosinusfunktionen verwendet, die den Potentialverlauf bei der

Drehung um eine Bindung wiedergeben. Die Elektrostatik wird in der Funktion durch das Coulomb-Potential beschrieben.

$$V_{\text{Kraftfeld}} = V_{\text{Bindungslänge}} + V_{\text{Bindungswinkel}} + V_{\text{Torsionswinkel}} + V_{\text{Planarität}} + V_{\text{vdWAALS}} + V_{\text{COULOMB}} \quad \text{Gl. 1}$$

Einige Kraftfelder enthalten aufgrund der gegenseitigen Abhängigkeit einzelner Terme auch sogenannte Kreuzterme. Die meisten Kreuzterme sind Funktionen von zwei internen Koordinaten, wie den Termen welche die Beziehung zwischen Bindungslänge/Bindungslänge, Bindungslänge/Bindungswinkel und Bindungslänge/Torsionswinkel beschreiben.

Das Prinzip der Molekülmechanik beruht darauf, daß Bindungen „natürliche“ Längen und Winkel besitzen. Die Gleichgewichtswerte dieser Bindungslängen und –winkel und ihre entsprechenden Kraftkonstanten, welche in der Energiefunktion implementiert sind, werden als Kraftfeldparameter im Kraftfeld definiert. Die Parameter der Energiefunktion werden so justiert, daß experimentelle Geometrien und in ausgewählten Kraftfeldern (MM3) auch Schwingungsspektren gut wiedergegeben werden.

Der Konformationsraum eines Moleküls wird durch seine Energiehyperfläche beschrieben. Um nun den Konformationsraum des Moleküls zu erfassen, wird diese Hyperfläche durch Anwendung verschiedener Algorithmen abgetastet. Eine komplette Berechnung ist durch die hohe Anzahl von Rotationsfreiheitsgraden oftmals nicht möglich, die Algorithmen müssen also effizient sein und möglichst nur „sinnvolle“ Punkte der Hyperfläche berechnen. Häufig genutzte Methoden zur Lösung dieses Problems sind die Moleküldynamik oder die in dieser Arbeit verwendete systematische Konformationssuche. Jeder Punkt auf der Energiehyperfläche stellt eine Konformation mit einer bestimmten Geometrie und Energie dar. Stabile Konformationen mit einer niedrigen Energie bilden die lokalen Minima. Ein Problem ist jedoch, daß nicht in jedem Fall das globale Minimum (stabilste Konformation)

gefunden werden kann. Alle ermittelten Minimumskonformationen mit geringer relativer Konformationsenergie müssen bei einer Pharmakophorsuche berücksichtigt werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Molekülgeometrien wurden mit dem Molecular Modelling Programm SYBYL 6.2⁹² auf Silicon Graphics Workstations konstruiert, oder stammen aus der Cambridge-Struktur-Datenbank.⁹³ In den Farbabbildungen sind die Kohlenstoffatome grau, Stickstoffatome blau, Sauerstoffatome rot, Wasserstoffatome cyan, Schwefelatome gelb und Chloratome grün dargestellt.

Die flexiblen Moleküle wurden einer Konformationssuche durch Rotation jeder drehbaren Bindung ($C_{sp^3} - C_{sp^3}$) in 30° Schritten unterworfen. Dabei wurde ein Energiefenster von 30 kJ/mol gewählt. Alle durch die systematische Suche erhaltenen Konformationen wurden in Gruppen unterteilt, welche auf der Ähnlichkeit ihrer Torsionswinkel ($\pm 30^\circ$) basieren und zu einem lokalen energetischen Minimum gehören (Torsionswinkeldefinition siehe Anhang). Mittels des TRIPOS Kraftfeldes⁹⁴ und der Powell-Methode⁹⁵, welche im SYBYL-Modul MAXIMIN implementiert sind, wurden jeweils die ersten 50 energetisch günstigsten Strukturen aus der Konformationssuche bis zu einem Gradienten von $0,001 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ \AA}^{-1}$ minimiert. Zur Berechnung der Partiaalladungsverteilung der Moleküle wurde die Gasteiger (PEOE) Methode verwendet.⁹⁶ Die elektrostatischen Wechselwirkungen wurden durch die Dielektrizitätskonstante mit einer distanzabhängigen Funktion $\epsilon=4r$ berücksichtigt. Es wurde gezeigt, daß diese Funktion relevante Konformationen in Übereinstimmung mit positiv geladenen Verbindungen in wäßriger Lösung aus der NMR Spektroskopie widerspiegelt.⁹⁷

Um Protonenaffinitäten und Bildungsenthalpien zu berechnen, wurden semiempirische Methoden verwendet. Diese Berechnungen wurden mit dem Programmpaket MOPAC 6.0, speziell mit PM3⁹⁸, welches in MOPAC enthalten ist, durchgeführt. Zum Vergleich wurde teilweise auch mit der semiempirischen AM1 Methode gerechnet. Die Bildungsenthalpiendifferenzen, welche entscheidend für die Schlußfolgerungen in dieser Arbeit waren, liegen im Bereich der mit der PM3 Methode ermittelten Differenzen. Jedoch aufgrund deutlicher

Abweichungen der mittels AM1 berechneten Bildungsenthalpien für substituierte Benzenringe (Nitrobenzen, 3-Nitrotoluen, 4-Nitrotoluen) im Vergleich zu experimentellen Werten, wurden einheitlich alle semiempirischen Berechnungen mit der PM3 Methode durchgeführt.

Zur Absicherung der Genauigkeit der Geometrieoptimierung wurde das Keyword GNORM=0.3 (geometry optimization termination criteria) verwendet. Weiterhin wurden die Keywörter SCFCRT=1.D-12 (self consistent field calculation routine) und EF (eigenvector following routine) eingesetzt, um Oszillationen während der Optimierung zu vermeiden.

Das Hallesche-Molekül-Graphik Programm (HAMOG⁹⁹) diente zur Berechnung der sterischen Zugänglichkeit einzelner Atome verschiedener Bicyclononanone, wobei als Startstruktur die mit dem Programm SYBYL berechneten Konformationen dienten. Es wurde die zugängliche Oberfläche der Stickstoffatome, bzw. der an diese gebundenen Wasserstoffatome berechnet. Als Wechselwirkungspartner wurden nach *Lavery und Pullmann*¹⁰⁷ der van der Waals Radius eines Wasserstoffatoms als Bestandteil von Wasser (1,2 Å) und der eines Sauerstoffatoms, ebenfalls als Bestandteil von Wasser, (2,0 Å) verwendet. Durch diese Berechnungen ist es möglich abzuschätzen, inwieweit der Rezeptor aus sterischer Sicht mit der funktionellen Gruppe des Liganden wechselwirken kann.

Bei der Erstellung des Pharmakophormodells und der Durchführung von Struktur-Wirkungsbeziehungen wurden die Moleküle durch automatische Superpositionierung ausgewählter Atome oder Atomgruppen miteinander verglichen. Als Ähnlichkeitsmaß wurde der RMS-Wert verwendet (Gleichung 2), welcher mit BMFIT (im SYBYL implementiert) berechnet wurde.¹⁰⁰

$$\text{Gl. 2: RMS (in \AA)} = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n}}$$

d = Abstand zwischen den Atomen (Å)

n = Anzahl der Atompaare

Die elektrostatischen, lipophilen und Wasserstoffbrückenbindungs-Potentiale wurden mit dem Programm MOLCAD (im SYBYL implementiert) berechnet. Zunächst wurde die Conolly-Oberfläche ($r = 1,4 \text{ \AA}$) generiert. Sie beschreibt die Oberfläche, welche durch ein Proton zugänglich ist. Die Berechnung der einzelnen Potentiale ist im Anhang ausführlich beschrieben (A-3).

3 ERGEBNISSE

3.1 Theoretische Konformationsuntersuchungen

Die meisten Moleküle sind aufgrund der vorhandenen Rotationsfreiheitsgrade insbesondere um eine Einfachbindung nicht starr sondern beweglich, d. h. sie können in vielen verschiedenen Konformationen auftreten. Entscheidend für eine biologische Funktion oder auch eine chemische Reaktion ist die bioaktive Konformation eines Moleküls, welche am Rezeptor oder Enzym vorliegt. Aus diesem Grund ist es von Bedeutung, Aktivkonformationen von Liganden zu ermitteln, um biologische Funktionen besser verstehen und aufklären zu können.

Die κ -opioiden Verbindungen **1-3** und **6** (Schema 5, Seite 15) wurden in Hinsicht auf die Flexibilität aller rotierbaren Bindungen sowie auf die Fähigkeit des Bicyclo[3.3.1]nonan-9-on-Ringes, verschiedene Konformationen einzunehmen, analysiert. Dafür kamen prinzipiell 4 Konformationen des Bicyclus in Betracht, die Sessel/Sessel (SS), Sessel/Wanne(N7) (SW), Wanne(N3)/Sessel (WS) und die Wanne/Wanne (WW) Konformation. Aber auch die Stellung der Methylgruppen an den Stickstoffatomen bzw. die Konformationen der Estergruppen und der aromatischen Ringe sind für die pharmakophore Struktur bestimmende Merkmale.

Da der Protonierungsort in diesen Verbindungen experimentell nicht eindeutig bestimmbar war, sollten die Strukturen in ihren verschiedenen Protonierungsstufen berechnet werden. Das sind für die Derivate **1-3** mit zwei Stickstoffatome und für **6** mit einem Sauerstoff- und einem Stickstoffatom vier Protonierungsstufen: unprotoniert, jeweils einfachprotoniert an N3 oder N7 und zweifach protoniert. Zusammengenommen müssen also alle vier Grundkonformationen des Bicyclus in allen vier Protonierungsstufen (insgesamt 16 Strukturen) untersucht werden, um die Struktur zu finden, welche möglicherweise am Rezeptor vorliegt.

Anhand der NMR-Untersuchungen ist ersichtlich, daß die Bicyclononanonderivate **1 – 6** symmetrisch aufgebaut sind, d.h. die Aromaten sind an C2 und C4 äquatorial gebunden (*cis*-Konfiguration).

Die WS- und WW-Konformationen erwiesen sich aufgrund von starken sterischen Hinderungen für die Verbindungen **1-3** und **6** als ungünstig. Die Startstrukturen nahmen während der Energieoptimierung entweder eine SS-Konformation ein, oder besaßen eine Energie, die um 170 kJ/mol höher war als die der energetisch günstigsten SS- bzw. SW-Konformation. Diese Ergebnisse bestätigen bereits publizierte NMR- und RKS-Untersuchungen, in denen SS- und SW-Konformationen gefunden wurden.^{90,101} Deshalb werden die Strukturen der WS- und WW-Konformation nachfolgend nicht weiter diskutiert.

Konformationsuntersuchungen am Bicyclus wurden bereits von *Smeyers et al.*¹⁰² an unsubstituierten 3-Azabicyclononanonen (nicht protoniert) mit semiempirischen und ab initio Methoden durchgeführt. Die von *Smeyers et al.* erhaltene Stabilitätsreihenfolge für den unprotonierten Bicyclus, SS als die stabilste Konformation, gefolgt von SW, WS und WW, stimmt mit den Ergebnissen dieser Arbeit gut überein.

Für jede der im weiteren betrachteten acht Strukturen mußten vier Torsionswinkel in die Untersuchungen einbezogen werden. Da die Moleküle jedoch eine Spiegelebene besitzen, sofern die Konformationen der Seitenketten äquivalent sind, werden im folgenden nur die

stabilsten Konformationen mit den Torsionswinkeln Φ_1 und Φ_2 aufgeführt (Schema 6, Seite 20, $\Phi_1 = 3-4-20-21$, $\Phi_2 = 4-5-10-11$). Die vollständigen symmetrischen Konformationen erhält man durch Wahl des entgegengesetzten Vorzeichens der den jeweiligen Torsionswinkeln entsprechenden Werte. Die Energie der asymmetrischen Konformationen kann abgeschätzt werden, indem der Mittelwert über die Energien aller gemischten Konformationen gebildet wird. Dies ist möglich, da die Wechselwirkungen zwischen den Seitenketten auf jeder Seite der Spiegelebene vernachlässigbar sind.

Es wurde eine systematische Konformationssuche über die zwei flexiblen Torsionswinkel durchgeführt (andere Torsionswinkel können aufgrund der Starrheit des Ringsystems nicht rotiert werden), wobei Φ_1 die Rotation des aromatischen Ringes und Φ_2 die Konformation der Estergruppe beschreibt. Dabei wird der Torsionswinkel (C4-C5-C10-O11) der Carboxymethylgruppe bei 0° eingestellt, da eine Geometrie mit einem Winkel von 180° energetisch gesehen einen mit mehr als 70 kJ/mol ungünstigeren Wert ergab. In Tabelle 2 sind alle Konformationen der Verbindung **2** mit einer niedrigen Energie, welche mittels des TRIPOS Kraftfeldes und nachfolgender Optimierung mit PM3 erhalten wurden, zusammengestellt. Unabhängig vom Protonierungsgrad und einer SS bzw. SW Anordnung wurden für Φ_1 und für Φ_2 jeweils zwei Durchschnittswerte ($\Phi_1 \approx -57^\circ, 124^\circ$ und $\Phi_2 \approx 56^\circ, -143^\circ$) ermittelt. Für die Estergruppe sind Konformationen mit $\Phi_2 \approx 60^\circ$ und $\Phi_2 \approx -160^\circ$ favorisiert, während sich die bevorzugte Konformation für den Pyridinring mit Φ_1 von ungefähr 137° für die unprotonierte Form zu Φ_1 von $\approx -48^\circ$ für die jeweilige protonierte bzw. zweifach protonierte Form ändert. Die Veränderung der Stabilitätsreihenfolge bei der Rotation der Pyridinringe in der protonierten SS-Form kann durch Ausbildung einer schwachen Wasserstoffbrückenbindung zwischen N3H-N7 bzw. N7H-N3 erklärt werden, welche durch die Stickstoffatome im Pyridinring stabilisiert wird. Der Abstand zwischen dem an N3

gebundenen Proton und dem Pyridin-Stickstoffatom beträgt dann 2,72 Å bzw. zwischen dem an N7 gebundenen Proton und dem Pyridin-Stickstoffatom 2,97 Å.

Tabelle 2: Bildungsenthalpien und Torsionswinkel aller Konformationen des Diazabicyclononanons **2***.

Protonierungsgrad	Konf.	Sessel- Sessel			Sessel- Wanne		
		Φ_1	Φ_2	$\Delta_B H$ (kJ/mol)	Φ_1	Φ_2	$\Delta_B H$ (kJ/mol)
unprotoniert	1	-64	54	-413.0	-61	54	-420.5
	2	-65	-142	-410.9	-67	-163	-418.4
	3	137	61	-440.6	129	62	-440.6
	4	138	-122	-429.3	129	-126	-423.8
an N3 protoniert	1	-46	55	164.0	-40	56	200.8
	2	-48	-145	162.3	-45	-157	200.4
	3	114	59	177.8	119	62	223.0
	4	112	-135	186.6	117	-131	234.7
an N7 protoniert	1	-60	52	161.9	-65	44	191.2
	2	-60	-146	165.7	-67	-163	195.8
	3	138	61	203.8	132	54	223.4
	4	115	-131	213.8	131	-131	242.7
zweifachprotoniert	1	-51	55	1139.3	-62	50	1124.2
	2	-54	-161	1137.6	-63	-170	1122.6
	3	128	63	1217.2	122	55	1183.2
	4	110	-128	1230.6	120	-136	1201.2

Φ_1 (3-4-20-21) und Φ_2 (4-5-10-11) (siehe Schema 6, Seite 20)

* Methylgruppen an N3 und N7 in äquatorialer Position

3.2 Untersuchungen zur Stellung der Methylgruppen an N3 und N7

Nachdem bereits in dem vorangegangenen Kapitel die Stellung der aromatischen Ringe der Bicyclononanone diskutiert wurde, mußte weiterhin die Lage der Methylgruppen an N3 und N7 betrachtet werden. Es gab dabei vier verschiedene Anordnungsmöglichkeiten; beide Methylgruppen in äquatorialer bzw. in axialer Stellung sowie die N3-Methylgruppe in axialer und die N7-Methylgruppe in äquatorialer Stellung und umgekehrt (Abbildung 4).

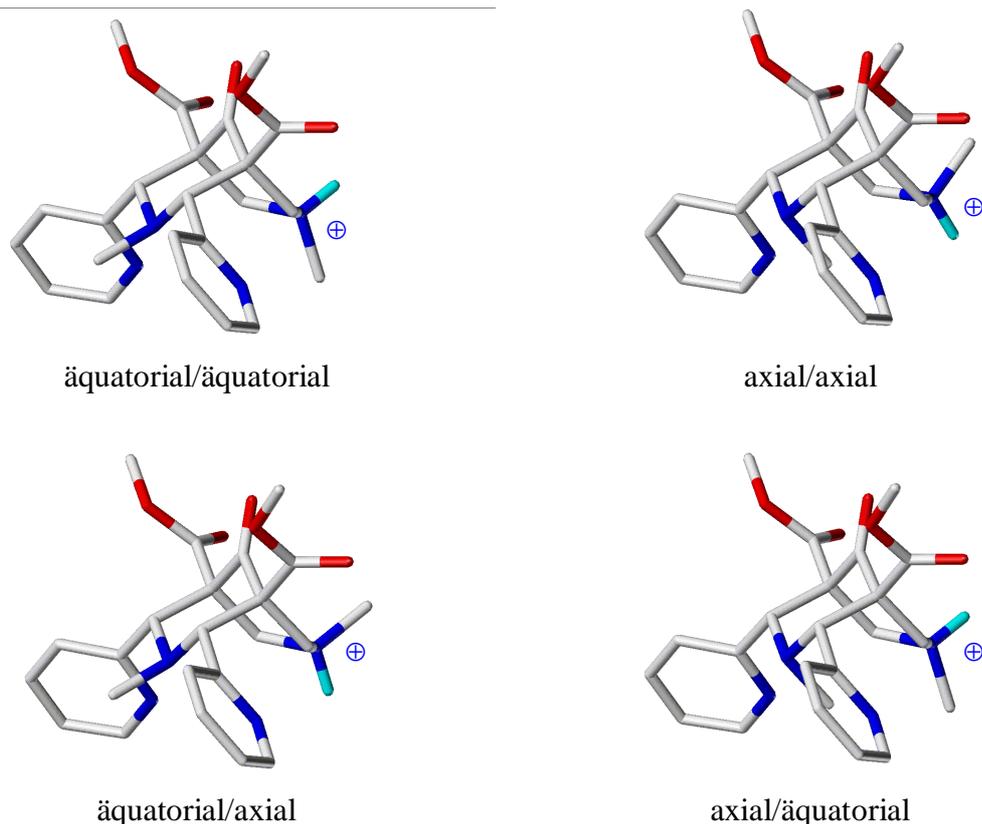


Abbildung 4: Potentiell mögliche Stellungen der Methylgruppen an N3 und N7 der N7-protonierten Form von **2**.

Es wurden die Verbindungen **1**, **2** und **3** in allen Protonierungsstufen untersucht, wobei der Bicyclus in SS- und in SW-Konformation berechnet wurde. Da bei **1** keine Methylgruppe an N3 vorhanden ist, steht hier axial bzw. äquatorial für die Stellung des Protons. Die PM3 Berechnungen ergaben für alle drei Verbindungen, daß sowohl in der SS- als auch in der SW-Konformation eine äquatoriale Stellung beider Methylgruppen energetisch bevorzugt ist (Als Beispiel sind die N7-protonierten Verbindungen in Tabelle 3 aufgeführt).

Eine axiale Anordnung beider Methylgruppen in einer SS-Konformation des Bicyclus ist aus sterischen Gründen nicht möglich. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden bei allen weiteren Untersuchungen Konformationen mit einer äquatorialen Stellung der Methylgruppen betrachtet.

Tabelle 3: Bildungsenthalpien (in kJ/mol, PM3 Berechnungen) verschiedener Konformationen der N7-protonierten Verbindungen **1**, **2** und **3** bezüglich der Stellung der Methylgruppen an N3 und N7.

Konf. des Bicyclus	Stellung der Methylgruppen		1	2	3
	R ₂ *	R ₃ *			
SS	axial	axial	sterisch behindert	sterisch behindert	sterisch behindert
	äquatorial	axial	192.6	288.3	165.9
	axial	äquatorial	183.0	sterisch behindert	sterisch behindert
	äquatorial	äquatorial	150.6	161.9	128.4
SW	axial	axial	187.7	223.7	193.5
	äquatorial	axial	186.6	195.8	163.8
	axial	äquatorial	183.1	212.0	182.7
	äquatorial	äquatorial	182.8	191.2	154.2

ax = axial, eq = äquatorial

* siehe Schema 5, Seite 15

3.3 Berechnung von Protonenaffinitäten

Da der Protonierungsgrad für die ZNS-Gängigkeit (ZNS= Zentralnervensystem) entscheidend ist, war von Interesse, in welcher Protonierungsstufe die pharmakophoren Strukturen vorliegen und welches Stickstoffatom bevorzugt protoniert wird.

Die experimentellen Ergebnisse sind aufgrund von erschwerten Meßbedingungen - DMSO als Lösungsmittel, sowie Zerfall der Verbindungen bei Zugabe von DCl während der NMR-Untersuchungen- schwierig zu interpretieren. Die theoretischen Berechnungen sollten Hinweise über den bevorzugten Protonierungsort der untersuchten Bicyclononanone (an welchem Stickstoffatom) liefern.

In Tabelle 4 sind die mittels der PM3-Methode berechneten Protonenaffinitäten verschiedener Bicyclononanone unter Berücksichtigung von Konformation und Protonierungsgrad aufgeführt. Um zu überprüfen, ob die verwendete Methode die experimentellen Ergebnisse richtig widerspiegeln kann, wurden zunächst verschiedene Amine und ihre jeweiligen protonierten Formen als Richtwerte mit PM3 berechnet und mit den publizierten experimentellen Werten, welche für die Gasphase bestimmt wurden, verglichen.¹⁰³

Vergleicht man z. B. die berechneten Protonenaffinitäten für Methylamin und Pyridin (-874,4 und -895,4 kJ/mol) mit den experimentell ermittelten Werten (-915,1 und -941,5 kJ/mol), so liegen die Werte zumindest in der richtigen Größenordnung und in diesem Fall auch in der richtigen Reihenfolge. Beim Vergleich zwischen experimentell ermittelten und berechneten Werten ergaben sich keine Unterschiede in Bezug auf die verwendete Berechnungsmethode (AM1, PM3). Da die Berechnungen nur zum Vergleich sehr ähnlicher Moleküle verwendet wurden, also nicht die Absolutwerte von Interesse waren, sollte die PM3-Methode für die Berechnung der Protonenaffinitäten zur qualitativen Abschätzung angewendet werden.

Um jedoch Lösungsmiteleinflüsse zu studieren, sollten andere Verfahren verwendet werden (z.B. Programm *AMSOL*).

Tabelle 4: Bildungsenthalpien und Protonenaffinitäten (in kJ/mol, PM3-Berechnungen) verschiedener Konformationen und Protonierungsstufen von Bicyclononanonen.

Protonierungsgrad	Verbindung	$\Delta_B H_{SS}$	$\Delta_B H_{SW}$	$\Delta H_{SS} - \Delta H_{SW}$	$\Delta_R H$
unprotoniert	1	-460.7	-450.2	-10.5	
	2	-440.6	-440.6	0.0	
	3	-503.7	-503.7	0.0	
	6	-659.0	-663.6	4.6	
an N3	1	140.6	179.9	-39.3	-935.1 /-895.8
	2	162.3	200.4	-38.4	-933.4 /-895.8
	3	107.9	150.6	-42.7	-924.7 /-882.0
an O3	6	113.4	133.9	-20.5	-760.6 /-740.1
an N7	1	150.6	182.8	-32.2	-929.3 /-897.0
	2	161.9	191.2	-29.3	-933.9 /-904.6
	3	128.4	154.2	-25.8	-904.3 /-878.5
	6	-0.8	18.4	-19.2	-878.2 /-859.0
an N3 und N7	1	1133.4	1117.1	16.3	-559.8 (-1494.9)
	2	1137.6	1122.6	15.0	-575.7 (-1506.6)
	3	1130.1	1104.2	25.9	-540.1 (-1464.8)
an O3 und N7	6	1101.6	187.4	14.2	-448.1 (-1326.3)

$\Delta_B H (H^+) = 1536.4$ kJ/mol (aus exp. Ionisierungsenergie berechnet)¹⁰⁴; Fett hervorgehoben sind die jeweils stabilsten Strukturen. In Spalte 6 ($\Delta_R H$) sind im Falle der Einfachprotonierungen die Protonenaffinitäten ausgehend von der stabilsten unprotonierten Form zu beiden Konformationen (SS, SW) angegeben. Die Werte in Klammern für die Zweifachprotonierung beziehen sich auf den Schritt von der unprotonierten zur doppelt protonierten Form, die vor der Klammer nur auf den Schritt von Einfach- zu Zweifachprotonierung.

Vergleicht man nun diese Daten miteinander, so sind einige Ähnlichkeiten zwischen den Verbindungen **1-3** und **6** festzustellen.

Betrachtet man als erstes die unprotonierte Form, so sind die SS- bzw. SW-Konformation energetisch nahezu gleich. Dieses Resultat ist nicht überraschend, da im Gegensatz zu Cyclohexanen im Fall der Diazabicyclen eine Wannen-Konformation gegenüber einer Sesselform (siehe Abbildung 5a und b) energetisch nicht sehr stark benachteiligt ist. Dies lässt sich mit repulsiven Wechselwirkungen zwischen den zwei Stickstoffatomen N3 und N7 (2,96 Å) in einer SS-Anordnung erklären, welche in einer SW-Konformation (3,62 Å) vermieden werden. Im Vergleich zum Cyclohexan tritt in einer Wannen-Konformation keine C-H—H-C Repulsion auf.

Im Fall einer Einfachprotonierung an N3 oder an N7 wird eine SS-Konformation bevorzugt eingenommen. Aufgrund des geringen Abstandes zwischen den beiden Stickstoffatomen im Grundgerüst bildet das Proton an dem einen Stickstoffatom zum gegenüberliegenden Stickstoffatom (oder Sauerstoffatom bei der Verbindung **6**) eine Wasserstoffbrückenbindung aus (Abbildung 5c), die die SS-Konformation stabilisiert. Dagegen ist bei einer Zweifachprotonierung die SW-Konformation gegenüber der SS-Konformation energetisch bevorzugt. In einer zweifachprotonierten SS-Konformation existieren aufgrund des geringen Abstandes (1,95 Å) zwischen den beiden Protonen der positiv geladenen Stickstoffatome starke abstoßende Kräfte. Diese Abstoßungen können durch Bildung einer SW-Geometrie vermieden werden (vergleiche Abbildung 5d).

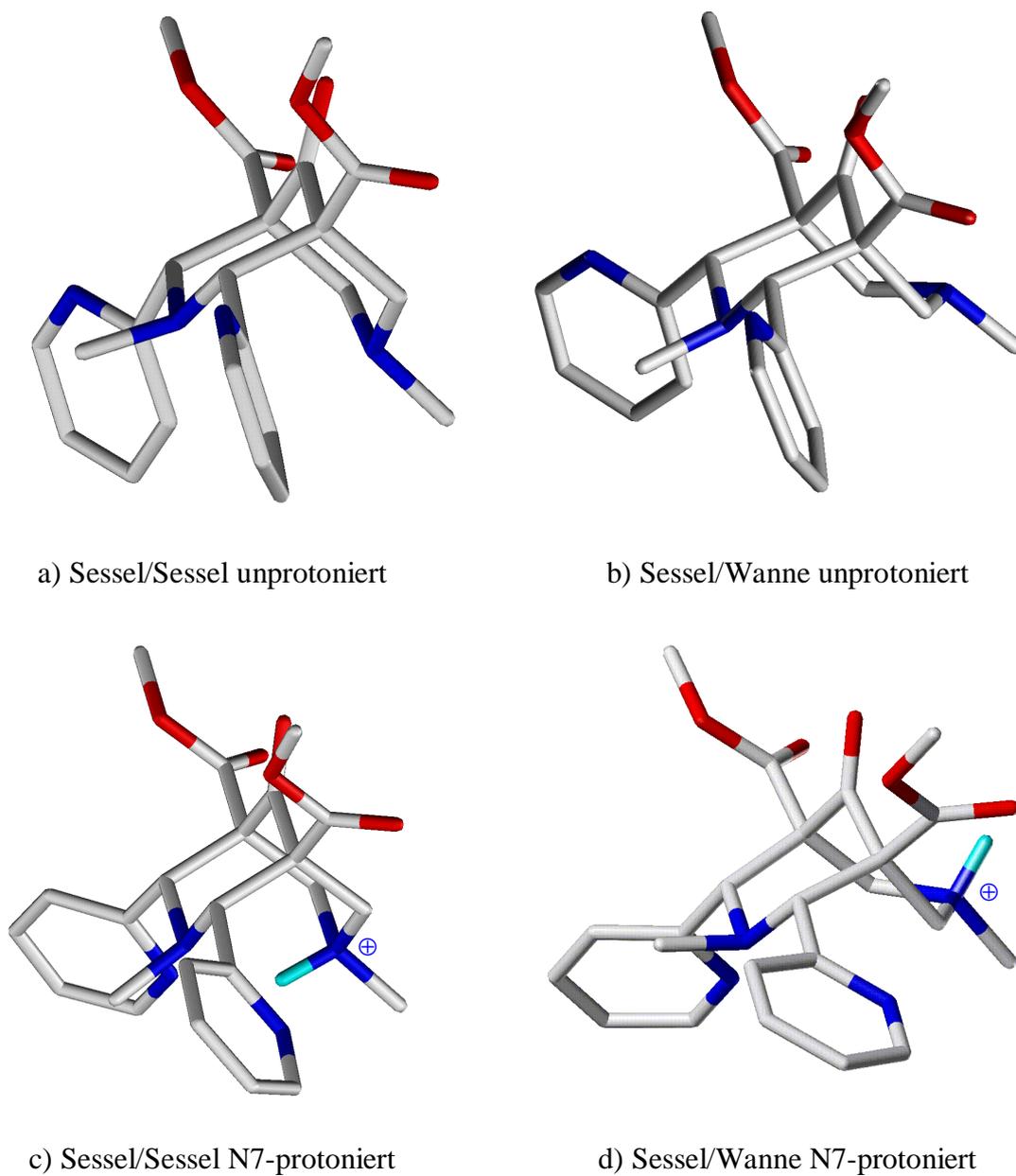


Abbildung 5: Die unprotonierten und die entsprechenden N7 protonierten SS- und SW-Konformationen des 2,4-Dipyridyl-3,7-diazabicyclononanon (2).^b

^b Zur besseren Übersicht wurden die an den Kohlenstoffatomen gebundenen Wasserstoffatome in einigen Farbabbildungen nicht mit dargestellt.

3.4 Diskussion der Ergebnisse im Vergleich mit experimentellen Daten

Die bisher diskutierten Konformationen der Verbindung **2**, insbesondere die Stellung der Pyridinringe (180°-Drehung beim Übergang von unprotonierter zu protonierter Form), sollen unter Einbeziehung der NMR-Daten und der pK_a -Werte betrachtet werden.

Der NOE Effekt zwischen H2/H4 und den H3'/H3'' Protonen der Pyridinringe ist in der unprotonierten Form von **2** relativ klein, was auf einen großen Abstand zwischen diesen Protonen hinweist. Dies bedeutet umgekehrt eine räumliche Nachbarschaft zwischen den Pyridinstickstoffatomen und den Protonen an den Kohlenstoffatomen C2/C4, was sich auch aus den theoretischen Berechnungen für unprotoniertes **2** (Abstand = 2,48 Å) ergibt. Desweiteren ist die N3-Methylgruppe in der Verbindung **2** nach Protonierung im Vergleich zu **3** leicht entschirmt ($\Delta\delta=0,3$ ppm) (siehe Anhang, Tabelle II). Das ist darauf zurückzuführen, daß sich die Position der Methylgruppe relativ zu den Pyridinringen geändert hat, genauer gesagt, steht die Methylgruppe in der Weise zu den Pyridinringen, daß sie aufgrund des Ringstromeffektes tieffeldverschoben ist. Die theoretischen Berechnungen bestätigen dies, da erstens eine Verkürzung des Abstandes zwischen dem Zentroid der Pyridinringe und der Methylgruppe (3,86 Å zu 3,74 Å) errechnet wurde, zweitens führt die gleichzeitige Rotation der Ringe zu einem kürzeren Abstand zwischen den Pyridinstickstoffatomen und den Protonen der Methylgruppe (3,75 Å zu 3,23 Å).

Für **1** ist eine Änderung der Torsionswinkel Φ_1 bei einer Protonierung an den jeweiligen Stickstoffatomen nicht so deutlich sichtbar (Tabelle 5), wie im Fall von **2**. Die experimentellen Ergebnisse zeigen einen relativ großen NOE-Effekt zwischen den H2/H4 Protonen und den H3'/H3'' Protonen der Pyridinringe in **1**. Dies bedeutet, daß sich eben diese Protonen räumlich sehr nahe sind; damit weisen die Stickstoffatome der Pyridinringe nach unten (analog zu **2** in Abbildung 5c).

Tabelle 5: Torsionswinkel von **1** in verschiedenen Protonierungsstufen und Konformationen

Protonierungsgrad	Sessel/Sessel		Sessel/Wanne	
	Φ_1	Φ_2	Φ_1	Φ_2
unprotoniert	51	-55	62	-50
N3 protoniert	46	-55	40	-56
N7 protoniert	60	-52	65	-38
zweifachprotoniert	56	-54	52	-54

Die PM3-Berechnungen an **2** zeigen fast die gleiche Protonenaffinität für die Protonierung an N3 und an N7. Im Fall von **3** ist eine Protonierung an N3 gegenüber einer N7-Protonierung bevorzugt, wohingegen bei der Verbindung **6** eine Protonierung an O3 sehr unwahrscheinlich ist. So konnte die Annahme aus den NMR- und pK_a -Wert-Messungen⁹¹, daß ein Gleichgewicht zwischen den beiden Protonierungsstellen besteht, durch die semiempirischen Berechnungen unterstützt werden. Dies wird zusätzlich durch die für **2** ermittelte (PM3-Berechnung) relativ niedrige Aktivierungsbarriere von 50 kJ/mol bei einem Protonentransfer von N7 nach N3 gezeigt.

So werden für eine N7- bzw. N3-Einfachprotonierung der Verbindungen **1-3** die Werte (-924 bis -935 kJ/mol) durch ähnliche pK_a -Werte bestätigt (siehe Anhang, Tabelle III), dagegen sollte dieser pK_a Wert für die Verbindung **6** (-878 kJ/mol) bedeutend kleiner sein. Der weitere Energiegewinn für eine Zweifachprotonierung ist wesentlich kleiner (~ -558 kJ/mol) als für den ersten Protonierungsschritt. Jedoch kann eine Zweifachprotonierung aufgrund der experimentell ermittelten pK_a -Werte nicht ausgeschlossen werden.

Die berechneten Bildungsenthalpien und Protonenaffinitäten, welche mehr Aufschluß über den Protonierungsort der untersuchten Verbindungen geben sollten, konnten bis hierher keine eindeutige Protonierungsstelle lokalisieren.

Kürzlich durchgeführte pK_a -Wert-Messungen ergaben für die Verbindungen **1** und **2** im Gegensatz zu den NMR-Untersuchungen jedoch nicht wie bisher angenommen nur zwei pK_a -

Werte, sondern vier (siehe Anhang, Tabelle III). Dies bedeutet, daß außer einer N3 und N7 Protonierung, weiterhin auch eine Protonierung der Pyridin-Stickstoffatome möglich zu sein scheint. Aufgrund dieser relativ neuen experimentellen Ergebnisse wurden für **2** weitere PM3-Berechnungen mit einer Protonierung an N7 und an einem Pyridin-Stickstoffatom in der SS- und SW-Konformation durchgeführt.

Betrachtet man den mittels PM3 berechneten Wert der Protonenaffinität für eine Protonierung des Pyridinringes (-881,1 kJ/mol), so liegt dieser im Bereich experimentell ermittelter Protonenaffinitäten¹⁰³ in der Gasphase, wie z.B. für Pyridin (-941,5 kJ/mol) und Methylamin (-874,4 kJ/mol), eine Protonierung des Pyridin-Stickstoffatoms ist also energetisch gesehen möglich. Vergleicht man die berechneten Protonenaffinitäten von **2** für die jeweiligen Protonierungsstufen mit den experimentell ermittelten pK_a-Werten, so scheint als erstes eine Protonierung von N7 mit -933,9 kJ/mol oder von N3 mit -933,4 kJ/mol gegenüber einer Pyridinprotonierung mit -894,6 kJ/mol zu erfolgen.

Dies wird bei einer Zweifachprotonierung noch deutlicher. Die resultierende Protonenaffinität für eine (N7, N-H Pyridin) Zweifachprotonierung (-1539,4 kJ/mol; für den Schritt von unprotoniert zu zweifachprotoniert) ist gegenüber einer Protonierung an N3 und N7 (-1506,6 kJ/mol) deutlich größer. Daraus kann geschlußfolgert werden, daß für eine Zweifachprotonierung des Moleküls das erste Pyridinstickstoffatom und erst in der 3. Protonierungsstufe das N3-Stickstoffatom energetisch bevorzugt sind.

Betrachtet man eine Protonierung an N7 und N3 der Diazabicyclononanone, so muß angenommen werden, daß das Proton sehr schnell (so schnell, daß es mittels NMR-Spektroskopie nicht detektiert werden kann) zwischen den beiden Stickstoffatomen wechselt. Dieser schnelle Wechsel ist während der pK_a-Wert Bestimmungen jedoch nicht feststellbar.

Alle bisher bekannten peptidischen und nichtpeptidischen Opioide besitzen ein protoniertes Stickstoffatom, welches somit essentiell für eine Bindung an den Opioidrezeptor zu sein scheint. Die Entfernung dieser Gruppe führt zu einem Affinitäts- und somit auch zu einem

Aktivitätsverlust. Für die Erstellung eines κ -Pharmakophor-Modells und der damit einhergehende Vergleich der Bicyclononanone mit bekannten κ -Opioiden ist somit ein protoniertes Stickstoffatom essentiell. Es wurde deshalb vorerst von einer Einfachprotonierung des Moleküls ausgegangen. Da nach den theoretischen Berechnungen sowohl N3 als auch N7 dafür in Frage kommen, kann erst ein Pharmakophormodell zeigen, welches der beiden Stickstoffatome bei der Bindung an den Rezeptor entscheidend ist. D. h. es müssen im weiteren beide Möglichkeiten betrachtet werden. Die Rolle der Pyridin-Protonierung soll in einem späteren Kapitel (Kapitel 5.2, Seite 90) diskutiert werden.

3.5 Semiempirische PM3 Berechnungen zur *cis/trans* Isomerie der aromatischen Substituenten am Bicyclus der Bicyclononanone

Bei der Synthese von neuen Bicyclonanon-Derivaten wurden verschiedene Isomere bezüglich der Konformation und Konfiguration gefunden. In der Einleitung (Kapitel 1.5.1) wurden bereits alle möglichen Isomere bei Bicyclononanonen aufgezeigt.

In diesem Kapitel sind die Ergebnisse der Untersuchungen an *cis/trans* Isomeren und ihren Atropisomeren ausführlich dargestellt.

Das Ziel der Untersuchungen war die Strukturaufklärung der isolierten Isomere, die Analyse des Reaktionsweges der Isomerisierung sowie herauszufinden, ob Diazabicyclen in der Lage sind, unter physiologischen Bedingungen zu isomerisieren.

Die 2,4-bis-(4-nitrophenyl), 2,4-bis-(3-nitrophenyl), 2,4-bis-(4-chinoly), 2,4-bis-(2-chinoly) und 2,4-bis-(1-naphthyl) substituierten 3,7-Dimethyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on-1,5-dimethylester wurden synthetisiert und ihre Stereochemie mittels NMR-Spektroskopie aufgeklärt.^{91,114} Als Vergleichssubstanz bei den hier vorgestellten Studien diente die 2,4-diphenylsubstituierte Verbindung **3**.

Die NMR-Untersuchungen ergaben, daß bei den 4-NO₂ (**11**), 3-NO₂ (**12**) und 4-Chinoly (**13**) substituierten Verbindungen ein *cis/trans* Isomerengemisch im Rohprodukt vorliegt (siehe Anhang, Tabelle IV und V sowie Abbildung I und II). Während bei diesen Verbindungen das symmetrische *cis*-Isomer rein isoliert wurde, konnte das *trans*-Isomer nur im Gemisch mit dem *cis*-Isomer erhalten werden. Bei Erwärmen wandelt sich das *trans*-Isomer vollständig in das thermodynamisch stabilere *cis*-Isomer um.

Für die 2-Chinoly-Verbindung (**14**) konnte ausschließlich das *trans*-Isomer und für **3** nur das thermodynamisch stabilere *cis*-Isomer erhalten werden.⁹¹

Um die experimentell gefundenen Ergebnisse zu begründen und die Unterschiede in der thermodynamischen Stabilität bzw. den kinetischen Prozessen, welche die Stereochemie

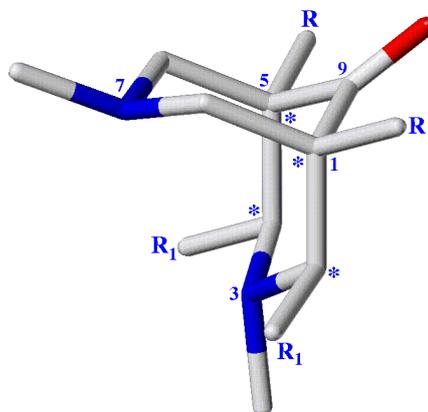
bestimmen, zu erklären, wurden Kraftfeldberechnungen (*TRIPOS*-Kraftfeld) sowie semiempirische PM3 Berechnungen durchgeführt.

Bei vorn beschriebenen Konformationsanalysen von symmetrischen Bicyclononanonen wurde festgestellt, daß WS und WW Konformationen ungünstig sind. Da jedoch die hier betrachteten Moleküle auch in einer *trans*-Konfiguration auftreten können, mußten alle Konformationen des Bicyclus, d. h. Sessel/Sessel (SS), Sessel/Wanne (SW), Wanne/Sessel (WS) und Wanne/Wanne (WW) untersucht werden. Die Berechnungen ergaben, daß die Wanne/Wanne, Wanne/Sessel und Sessel/Wanne Konformationen energetisch immer ungünstiger sind (siehe Anhang, Tabelle VI-VII). Aus diesem Grund werden im folgenden nur die Sessel/Sessel Konformationen des Bicyclus betrachtet.

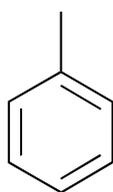
Weiterhin wurde die äquatoriale und axiale Orientierung der N3-Methylgruppe am Piperidinring in die Betrachtungen einbezogen. In einigen Fällen (siehe Tabelle 6) ist eine axiale gegenüber einer äquatorialen Orientierung der Methylgruppe energetisch bevorzugt.

Folgende Verbindungen wurden untersucht:

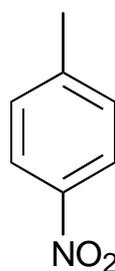
Schema 7: 2,4-Diarylsubstituierte 3,7-dimethyl-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-on-1,5-dimethylester



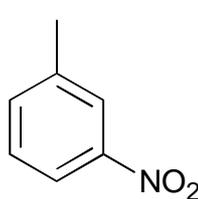
R₁ =



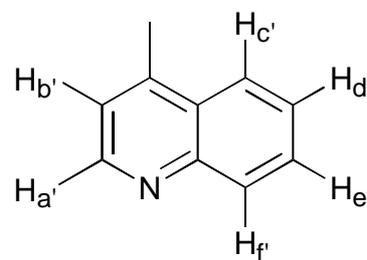
3



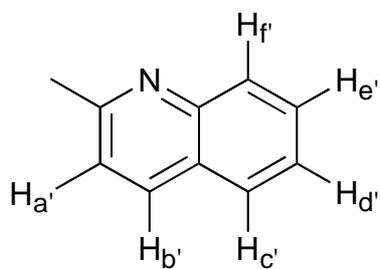
11 (4-NO₂)



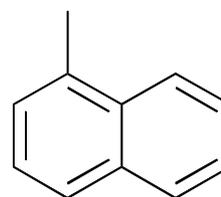
12 (3-NO₂)



13 (4-Chinolylyl)



14 (2-Chinolylyl)



15 (1-Naphthyl)

R = COOCH₃

3.5.1 Thermodynamik des *cis/trans* Verhältnisses

Die stabilsten Konformationen der hier betrachteten Verbindungen sind der bereits in diesem Kapitel ausführlich besprochenen Struktur von **3** sehr ähnlich, jedoch wurden bei **3** keine Konfigurationsisomere gefunden. Da mindestens ein Stickstoffatom für eine Rezeptorbindung protoniert sein muß, wurden beide Möglichkeiten (N3 und N7 Protonierung, siehe Anhang Tabelle VI-VII) mit der semiempirischen PM3-Methode berechnet. Aufgrund des hier postulierten Mechanismus und der bis hierher nicht eindeutigen Charakterisierung der Protonierungsstelle wurde im Folgenden nur auf die unprotonierten und N3 protonierten Konformationen eingegangen (Tabelle 6). Nimmt man an, daß die Entropiebeiträge bei den relativ starren Verbindungen hinsichtlich der *cis*- und *trans*-Konfiguration nahezu identisch sind, so kann man anhand der Enthalpieunterschiede auf die experimentell gefundenen unterschiedlichen *cis/trans*-Verhältnisse schließen. Ist bei **3** mit einem Wert von $\Delta_{trans/cis}\Delta H = 7,6$ kJ/mol (und 9,6 kJ/mol, im Fall einer N3 Protonierung) ausschließlich die *cis*-Konfiguration bevorzugt, so ist die Energiedifferenz zwischen dem *cis*- und *trans*-Isomer bei **11** und **12** am geringsten (**11** $\Delta_{trans/cis}\Delta H = 4,2$ kJ/mol (7,1 kJ/mol), **12** $\Delta_{trans/cis}\Delta H = 4,1$ kJ/mol (10,5 kJ/mol)). Die Unterschiede in den Bildungsenthalpien der zwei möglichen Konfigurationen können die experimentell ermittelten *trans/cis* Verhältnisse der Verbindungen **11** und **12** im Vergleich mit **3** nicht vollständig erklären, aber es kann daraufhin eine *cis*-Konfiguration favorisiert werden. Die *cis*-konfigurierte Verbindung wurde experimentell nach Rekristallisation erhalten.

Tabelle 6: Bildungsenthalpien (mit PM3 in kJ/mol) der untersuchten Derivate (Schema 7) in unprotonierter und N3 protonierter Form.

Thermodynamik				Kinetik		
Verbindung	ΔH_{cis}	ΔH_{trans}	$\Delta_{trans-cis}\Delta H$	$\Delta H_{C2-deprot.}$	$\Delta\Delta H_{cis}^{\#,*}$	$\Delta\Delta H_{trans}^{\#,*}$
3	nur <i>cis</i> ⁺					
N3-prot.	108.1	117.7	9.6	-371.6	132.8	124.4
unprot.	-504.5	-496.9	7.6	-602.5	1383.5	1375.9
11	<i>cis/trans</i> ⁺					
N3-prot.	106.4	113.5	7.1	-445.8	124.0	119.8
unprot.	-569.8	-565.6	4.2	-794.8	1256.6	1252.4
12	<i>cis/trans</i>					
N3-prot.	89.6	100.1	10.5	-442.5	130.3	124.0
unprot.	-572.7	-566.5	6.2	-751.3	1303.1	1296.8
asym-N3-prot.	92.6	103.9	11.3	-436.6	135.7	131.6
asym-unprot.	-572.3	-568.2	4.1	-688.8	1365.1	1360.9
13	<i>cis/trans</i> ⁺					
sym-N3-prot.	345.7	387.9	42.2	-163.4	121.1	99.3
sym-unprot.	-284.5	-262.7	21.8	-398.5	1367.6	1345.8
asym-N3-prot.	370.4	353.6	-16.8	-163.4	101.4	120.7
asym-unprot.	-264.8	-284.0	-19.2	-403.5 [#]	1342.8	1362.2
14	<i>trans</i> ⁺					
sym N3 prot	304.2	313.0	8.8	-162.1	132.0	126.6
sym unprot	-294.1	-288.7	5.4	-403.5	244.2	238.8
asym N3-prot.	308.8	305.4	-3.4	-176.0	107.7	114.4
asym unprot.	-283.7	-290.4	-6.7	-396.8	240.5	247.2
15	nur <i>cis</i> ⁺					
N3-prot.	258.9	268.2	9.3	-219.1	122.8	121.5
unprot.	-341.9	-341.5	0.4	-419.4	1404.1	1403.6
asym N3-prot.	284.5	302.5	18.0	-222.9 [#]	98.9	90.5
asym unprot.	-321.8	-313.4	8.4	-428.2 [#]	1375.1	1368.4

* in den zwei rechten Spalten (Kinetik) sind jeweils die Werte für $\Delta\Delta H_{cis}^{\#}$ und $\Delta\Delta H_{trans}^{\#}$ aufgelistet, welche die Differenzen zwischen den Bildungsenthalpien von C2/C4 deprotonierten N3-protonierten und den neutralen unprotonierten Verbindungen darstellen (fett). Die entsprechenden Werte darunter sind die Differenzen zwischen den Bildungsenthalpien der anionischen C2/C4 Form, dem Proton mit 1481,6 kJ/mol (PM3) und der neutralen Form.

stabilste Konformation mit der Methylgruppe an N3 in axialer, und nicht wie gewöhnlich, in äquatorialer Stellung zum Piperidinring.

+ experimentell gefunden

Für die Verbindung **13** konnten im Experiment zwei Strukturen mit einer *cis*-Konfiguration, welche durch eine symmetrische und eine asymmetrische Position des 4-Chinolytringes charakterisiert sind, gefunden werden (siehe Anhang Abbildung II). Zu Vergleichszwecken wurden beide Konformationen und ihre entsprechenden *trans*-Konfigurationen berechnet. Es zeigte sich, daß in der symmetrischen Konformation die *cis*-Konfiguration gegenüber der *trans*-Konfiguration ($\Delta_{trans/cis}\Delta H = 21,8 \text{ kJ/mol}$ (42,2 kJ/mol)) favorisiert ist, dagegen trat im Falle der asymmetrischen Konformation das Gegenteil auf ($\Delta_{trans/cis}\Delta H = -19,2 \text{ kJ/mol}$ (-16,8 kJ/mol)). Dennoch konnte im Experiment nur die *cis*-Konfiguration beobachtet werden. Der kurze Abstand von 2,5 Å zwischen dem Proton H_c (Schema 7) und den beiden Stickstoffatomen des Grundgerüsts scheint der Grund für die thermodynamisch ungünstige asymmetrische *cis*-Konfiguration zu sein. In einer *trans*-Konfiguration ist diese räumliche Nähe der Atome nicht vorhanden. Auf den Widerspruch zwischen Experiment und Berechnung wird bei der Diskussion der Kinetik näher eingegangen.

Ähnliche widersprüchliche Ergebnisse wurden bei der Untersuchung von **14**, welche ausschließlich in der *trans*-Konfiguration isoliert wurde, erhalten. Beide Konfigurationen wurden analysiert. In Übereinstimmung mit dem Experiment ist die asymmetrische Verbindung in der *trans*-Konfiguration stabiler als in der *cis*-Konfiguration ($\Delta_{trans-cis}\Delta H = -6,7 \text{ kJ/mol}$, (-3,4 kJ/mol)). Jedoch ist in der symmetrischen Konformation die *cis*-Konfiguration ($\Delta_{trans-cis}\Delta H = 5,4 \text{ kJ/mol}$, (8,8 kJ/mol)) bevorzugt.

Die thermodynamischen Untersuchungen können demzufolge keine befriedigenden Erklärungen für die erhaltenen Isomeren-Verhältnisse liefern. Aus diesem Grunde wurde eine kinetische Betrachtungsweise herangezogen.

3.5.2 Kinetik des *trans-cis* Isomerisierungs-Mechanismus

Die experimentellen Ergebnisse zeigen, daß auf der einen Seite nach der Isolierung des *trans*-Isomers (für Verbindung **11**) das *cis/trans* Verhältnis sich nach einer bestimmten Zeit wieder einstellt, auf der anderen Seite eine Temperaturabhängigkeit des *cis/trans* Verhältnisses beobachtet wird. Die Ergebnisse weisen auf eine Isomerisierung auch nach der vollständigen Synthese der Verbindungen hin. Es konnte bereits in einigen wenigen Fällen von *Samhammer et al.* eine *trans*-Konfiguration anstelle der *cis*-Konfiguration der Aryl-Ringe beobachtet werden.⁸³

Wie bereits beschrieben, sind die Bicyclononanone relativ starre Verbindungen. Aus diesem Grunde scheinen drei Grundmechanismen für die *cis/trans* Isomerisierung möglich zu sein. Einerseits die Öffnung und Schließung der kovalenten Bindung zwischen C2-C1 bzw. C2-N3, andererseits könnte man eine *cis/trans* Isomerisierung in der Weise erklären, daß eine Deprotonierung am C2 oder C4 zu einem planaren sp^2 hybridisierten Kohlenstoffatom führt. Mit Hilfe der folgenden theoretischen Untersuchungen soll gezeigt werden, welcher Mechanismus eine *cis/trans* Isomerisierung am besten beschreibt.

3.5.3 Untersuchungen zum Isomerisierungsmechanismus

1. **Modell** : Öffnung der C2-C1 Bindung als Initialschritt der Isomerisierung.

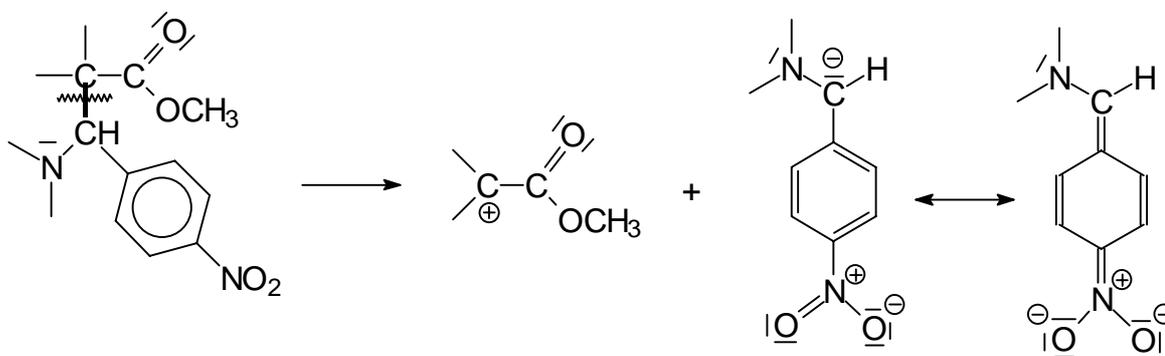


Abbildung 6: Öffnung der C2-C1 Bindung

Als erstes wurde die Öffnung der Bindung C2-C1 über eine Reaktionskoordinate mit der PM3 Methode berechnet. Ausgehend von der stabilsten Konformation wurde die C-C Bindung, bei welcher sich der gebundene Aromat in axialer Stellung befindet, schrittweise um 0,1 Å auf eine maximale Länge von 2,5 Å verlängert. In jedem Fall erhöhte sich die Energie auf mehr als 260 kJ/mol. Auch durch UHF Berechnungen (unrestricted Hartree Fock), bei welcher eine homolytische Spaltung simuliert werden kann, konnten keine anderen Ergebnisse erhalten werden. Experimentell wurde eine Aktivierungsbarriere von 104 kJ/mol durch NMR-spektroskopische Bestimmung des zeit- und temperaturabhängigen Isomerenverhältnisses ermittelt.⁹¹ Die berechneten hohen Aktivierungsenergien von ~260 kJ/mol (Tabelle 7) erscheinen somit als Initialschritt in der *trans/cis* Isomerisierung unmöglich.

Es sind keine signifikanten Unterschiede in der Energie und Geometrie nach der Bindungsöffnung zwischen den drei untersuchten Verbindungen **11**, **12** und **3** festzustellen.

Tabelle 7: Reaktionskoordinaten zur Verlängerung der C2-C1 Bindung (Energien in kJ/mol).

Bindungslänge (BL in Å)	11	12	3
Start	113.5	100.1	117.3
1.6	115.6	102.2	119.4
1.7	131.6	118.2	135.7
1.8	155.4	142.0	159.6
1.9	183.1	169.7	187.7
2.0	215.8	200.7	218.7
2.1	248.0	234.2	252.6
2.2	367.0	269.4	287.4
2.5	374.2	362.0	376.7
Δ Start-BL _{2,5}	260.7	261.9	259.4

Außer den hohen Energiebarrieren wäre eine Konfigurationsänderung bei Drehung um die N3-C2-Bindung aufgrund von sterischen Behinderungen nur schwer vorstellbar.

2. Modell

Betrachtet man das Molekül noch einmal eingehend, so könnte ebenfalls eine Bindungsspaltung zwischen der Bindung N3-C2 auftreten, d. h. der Bindung zwischen dem N3 und dem Kohlenstoffatom, an welchem der Aromat in *trans*-Stellung gebunden ist. Dies sollte nach folgendem Schema ablaufen:

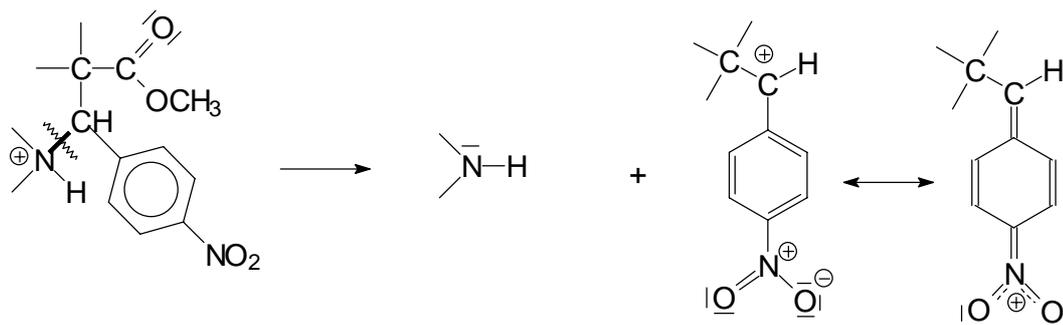


Abbildung 7: N3-C2 Bindungsspaltung

Die Simulation des Mechanismus erfolgt durch Erstellung einer Reaktionskoordinate in PM3. Die Bindungslänge (N3-C2) wird von 1,6 Å auf 3,0 Å verlängert, so daß eine Ladungstrennung auftritt. Man erhält eine deutliche Änderung in der Ladung und die Bindungslängen im aromatischen Teil ändern sich alternierend. Die resultierende Aktivierungsbarriere (156.8 kJ/mol für **11**) ist zwar etwas geringer als im zuvor beschriebenen Mechanismus, aber zu hoch im Vergleich zum experimentellen Wert (siehe Tabelle 8). Weiterhin ist eine Konfigurationsumkehr an C2 für eine *trans/cis* Isomerisierung durch sterische Behinderungen in beiden diskutierten Fällen nicht möglich.

Es mußte nun auch die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß die Methode eine solche Bindungsspaltung nicht richtig beschreibt. Es wurde deshalb eine weitere Berechnungsmethode (AM1) angewandt, um diese Fehlerquelle ausschließen zu können. Jedoch führten auch diese Berechnungen zu keinem anderen Ergebnis.

Tabelle 8: Reaktionskoordinaten zur Verlängerung der N3-C2 Bindung (Energien in kJ/mol).

Bindungslänge (BL in Å)	11	12	3
1.54	166.7	153.3	165.5
1.6	170.1	155.8	168.0
1.8	212.8	195.2	206.9
2.0	267.7	252.2	263.1
2.2	310.1	290.4	301.7
2.4	323.5	299.6	313.4
2.6	341.9	298.3	308.4
3.0	344.4	321.8	303.3
$\Delta BL_{1.54} - BL_{2.4}$	156.8	146.3	137.8

Nachfolgender alternativer Mechanismus wurde nun postuliert:

3. Modell: Abspaltung eines Protons vom C2 (C4)-Atom

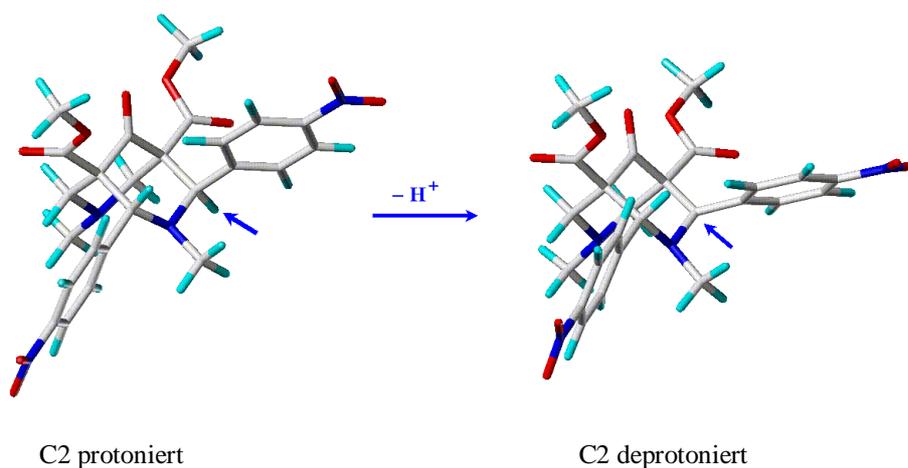
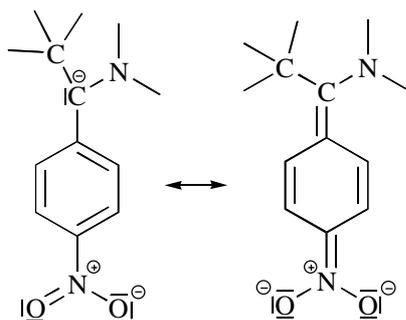


Abbildung 8: Protonenabspaltung an C2(C4) (blauer Pfeil) als Initialschritt einer Isomerisierung.

Folgende mesomere Grenzstrukturen, die eine Deprotonierung insbesondere bei **11** erklären können, sind möglich:



Wie kann man den Mechanismus der Umwandlung des *trans*- in das *cis*-Isomer erklären?

Bei den Betrachtungen wird von der Sessel/Sessel-Konformation ausgegangen, da diese energetisch am günstigsten ist. Die Bildungsenthalpien der N3-protonierten C2-deprotonierten Verbindungen (neutrale Form) als auch die N3 unprotonierten anionischen Formen sind in der Tabelle 6 (Seite 42) aufgeführt.

Betrachtet man die unprotonierten Verbindungen unter Einbeziehung der Enthalpiedifferenzen zwischen den C2/C4 deprotonierten Formen und ihrer entsprechenden neutralen Verbindungen aus der Tabelle 6, und berücksichtigt weiterhin die Bildungsenthalpie eines Protons von 1481,6 kJ/mol (PM3), resultieren sehr hohe Enthalpiedifferenzen von über 1260 kJ/mol. Interpretiert man den Mechanismus in der Weise, daß das Proton an C2/C4 durch ein Wassermolekül abgespalten wird und addiert die Differenzen der Bildungsenthalpien von H_3O^+ und H_2O , würden Aktivierungsbarrieren von mehr als 587 kJ/mol erhalten werden.

Eine weitere Möglichkeit ist die Untersuchung desselben C2-Deprotonierungs-Mechanismus an der N3 protonierten Verbindung als Grundzustand für eine *trans/cis* und *cis/trans* Isomerisierung. Mit der Annahme, daß kein anderer hoher Übergangszustand (bei Übertragung auf das Lösungsmittel) während der Abspaltung des Protons von C2 eingenommen werden kann, können die Enthalpiedifferenzen (Tabelle 6 Seite 42, Abbildung 14) die berechneten Aktivierungsenthalpien widerspiegeln. Die berechneten Enthalpiedifferenzen (90,5 kJ/mol für **15** bis zu 132,8 kJ/mol für **3**) aller untersuchten Verbindungen liegen im Bereich der experimentell ermittelten Aktivierungsbarriere. Diese Aussage ist jedoch nur dann korrekt, wenn angenommen wird, daß die N3-Protonierung und C2/C4-Deprotonierung mit Hilfe eines Lösungsmittels synchron abläuft. Tatsächlich wäre die Aktivierungsbarriere in diesem Fall unabhängig vom Lösungsmittel, solange dieses als Protonenakzeptor bzw. -donator fungiert. Der vollständige Mechanismus für die **11** ist in Abbildung 14 gezeigt.

Die Aktivierungsenthalpie für die **12** ist nur wenig höher. Daraus schlußfolgernd kann gesagt werden, daß eine *trans/cis* bzw. *cis/trans* Isomerisierung durch Abspaltung eines Protons von C2/C4 möglich ist, wobei ein protoniertes N3-Atom essentiell zu sein scheint.

In der C2 deprotonierten und N3 protonierten Form des Liganden nimmt das C2 Atom dabei eine nahezu planare Struktur mit gleichzeitiger C2-C_{Aromat} Bindungsverkürzung (1.50 Å auf 1.39 Å **11**, 1.55 Å auf 1.40 Å **12**, 1.55 Å auf 1.42 Å für **3**) ein, entsprechend der zu erwartenden Mesomeriestabilisierung bzw. induktiver Effekte (Abbildung 9).

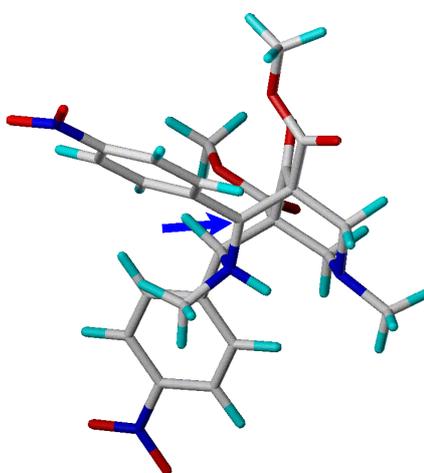


Abbildung 9: Struktur der N3 protonierten- C2 deprotonierten (blauer Pfeil) Form von **11**.

Die C2-deprotonierten Strukturen stellen ein Carbanion dar, an dem ein Proton sowohl in axialer als auch in äquatorialer Position an C2 angreifen kann. Das Proton kann entweder vom N3-Stickstoffatom wieder zum C2-Kohlenstoffatom wandern, woraus in jedem Fall wieder eine *trans*-Konfiguration resultiert, oder es wird von einem Lösungsmittel ein Proton geliefert, welches von der Rückseite angreift. In diesem Falle entsteht eine *cis*-Konfiguration mit N3-protoniertem Stickstoffatom.

Die relativ niedrigen Aktivierungsenthalpien für eine Deprotonierung an C2 im Falle der Verbindungen **11** und **12** können die experimentell beobachtete temperaturabhängige *trans/cis* Isomerisierung sowie die nach Rekristallisation gefundene thermodynamisch stabilere *cis*-Konfiguration erklären.

Alternativ zu dem Vorschlag, daß das Proton an C2/C4 von einem Wassermolekül (oder einem anderen Lösungsmittel) übernommen wird, kann weiterhin diskutiert werden, daß in der neutralen Verbindung das Proton von C2/C4 zu dem N3-Stickstoffatom übergeht, dessen freies Elektronenpaar coplanar zur C2/C4-H Bindung orientiert ist.

Es wurden Reaktionskoordinaten berechnet, welche den Übergang des Protons von C2/C4 zum N3 bzw. den umgekehrten Weg beschreiben sollten. In allen Fällen war die Aktivierungsbarriere höher als 290 kJ/mol.

Daraus folgt, daß ein solcher Mechanismus ausgeschlossen werden kann.

Jedoch mit dem zuvor beschriebenen Mechanismus, bei welchem der Transfer des Protons über ein Wassermolekül erfolgt, wird die beobachtete *trans/cis* Isomerisierung verständlich.

Bei der Verbindung **13** ist im Widerspruch zum Experiment in der asymmetrischen Konformation die *trans*-Konfiguration gegenüber der *cis*-Konfiguration bevorzugt (siehe Thermodynamik). Es wurde für die Isomerisierung von *trans* zu *cis* eine Aktivierungsbarriere von nur 99,3 kJ/mol berechnet. Dieses Ergebnis kann also nicht erklären, warum ausschließlich die energetisch ungünstigere *cis*-Konfiguration gebildet wird.

Um dieses Problem zu lösen, wurde die asymmetrische *trans*-Konformation mit in die Betrachtungen einbezogen (Abbildung 10).

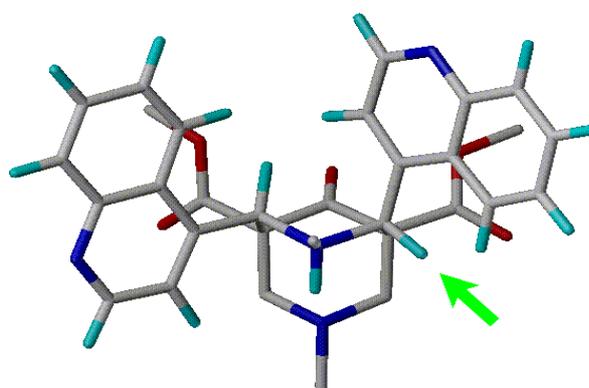


Abbildung 10: Die energetisch stabilste asymmetrische *trans*-Konfiguration von **13**.

Im ersten Schritt der *cis/trans* Isomerisierung wird das Proton vom C2 Atom abgespalten (Abbildung 10, grüner Pfeil). Das resultierende Carbanion ist in Abbildung 11 dargestellt (siehe grüner Pfeil). Hier befindet sich das H_c Atom (roter Pfeil, Abbildung 11) im Chinolytring in einer Position, bei welcher ein solcher Angriff aus sterischen Gründen erschwert ist.

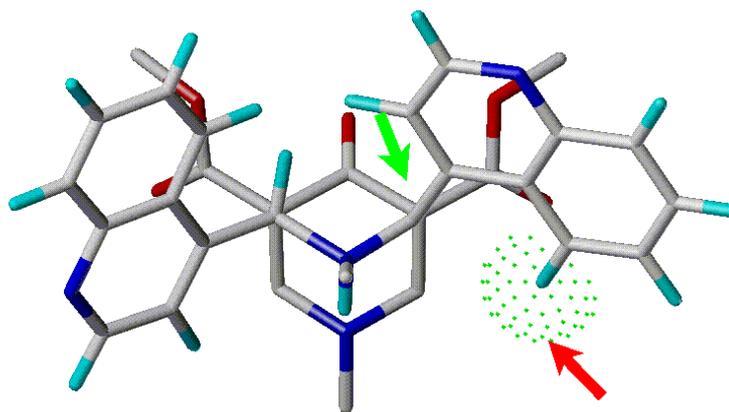


Abbildung 11: Carbanion der Verbindung **13** nach C2(C4) Deprotonierung.

Da das H_b Atom den Angriff des Protons von der Rückseite nicht wesentlich behindern sollte (das Gleiche gilt für **11** und **12**), ist die Bildung einer *cis*-Konfiguration mit einer asymmetrischen Konformation in **13** bevorzugt. Zusammenfassend betrachtet scheint die Bildung der asymmetrischen *cis*-Konfiguration im Gleichgewicht eher durch kinetische Prozesse (räumliche Behinderung) gesteuert zu sein, als aufgrund der thermodynamischen Stabilität.

Im Falle der Verbindung **14** wurde experimentell nur das *trans*-Isomer gefunden, obgleich die symmetrische *cis*-Konfiguration thermodynamisch stabiler ist. Es stellt sich nun die Frage, ob das *cis*-Isomer, welches bei allen anderen Verbindungen gefunden wurde, sich hier aus kinetischen Gründen zum *trans*-Isomer umwandelt.

In der symmetrischen *cis*-Konfiguration wird eines der beiden Protonen in C2 und C4 Position mit einer Aktivierungsbarriere von 132,0 kJ/mol (PM3) abgespalten (Abbildung 12).

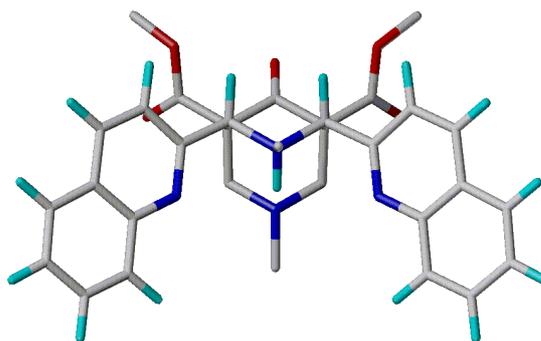


Abbildung 12: Die energetisch stabile symmetrische *cis*-Konfiguration von **14**.

Das resultierende Carbanion ist in Abbildung 13 dargestellt. Es ist zu sehen, daß ein Angriff von der Rückseite (blauer Pfeil, rechts unten), welcher für die Bildung der *trans*-Konfiguration notwendig ist, bevorzugt wird. Die Reprotonierung des C2/C4 Atoms unter Bildung einer *cis*-Konfiguration könnte, im Verhältnis zur freien Zugänglichkeit aus Richtung des Chinolylstickstoffatoms, durch das H_a Atom behindert sein (blauer Pfeil, oben). Dies wird nochmals durch den van der Waals Radius des Protons veranschaulicht. In Analogie zur symmetrischen *cis*-Konfiguration von **13** ist in **14** die *trans*-Konfiguration kinetisch stabilisiert. Diese Ergebnisse erklären anschaulich die Stabilität der *cis*-Konfiguration in **13** und die *trans*-Konfiguration in **14**, trotz der gegensätzlichen thermodynamischen Stabilität.

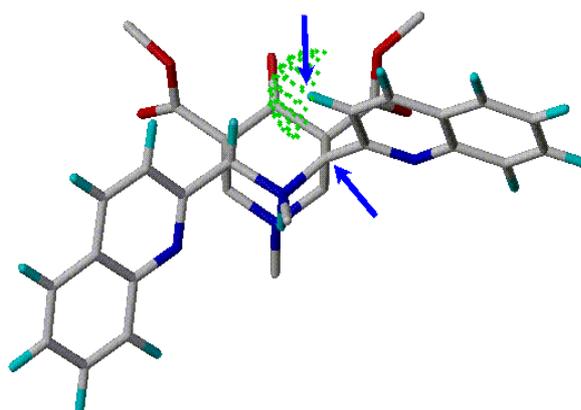


Abbildung 13: Carbanion von **14** nach Deprotonierung an C2(C4).

3.5.4 Zusammenfassung der *cis/trans* Isomerie

Der für eine *trans/cis* und *cis/trans* Isomerisierung verantwortliche angenommene Grundmechanismus ist in Abbildung 14 als Beispiel für die Verbindung **11** mit den Enthalpien bzw. Enthalpiedifferenzen dargestellt.

Die berechneten Reaktionsenthalpien belegen, daß ein Übergang vom *trans*- zum *cis*-Isomer nur in einer N3 protonierten Form möglich ist. Die Deprotonierung des C2(C4) Atoms am Bicyclononanon-Grundgerüst kann nur unter Anwesenheit von Wasser, oder eines anderen Protonendonators, als Lösungsmittel erfolgen.

Aufgrund der berechneten räumlichen Behinderung bei der Bildung der asymmetrischen *trans*-Konfiguration aus dem Carbanion von **13**, ist die Entstehung der *cis*-Konfiguration bevorzugt. Die asymmetrische *cis*-Konfiguration ist zwar thermodynamisch nicht bevorzugt, aber ein Übergang in eine *trans*-Konfiguration ist sterisch behindert. Aus diesem Grund konnte die *cis*-Konfiguration mit beiden Konformationsisomeren (symmetrisch, asymmetrisch) unter experimentellen Bedingungen beobachtet werden. Ähnliche Beobachtungen konnten für **14** gemacht werden. Hier wird aufgrund der kinetischen Stabilität die *trans*-Konfiguration gebildet. Durch die 2-Chinoly-Verknüpfung in **14** kann mittels NMR-Spektroskopie nicht bestimmt werden, ob hier ebenfalls zwei Atropisomere auftreten. Im Vergleich zu **13** befindet sich in unmittelbarer Nachbarschaft zur Knüpfungstelle des Aromaten keine C-H Gruppe sondern ein Stickstoffatom. Somit kann kein NOE-Effekt von diesem Proton zum H2/H4 des Bicyclus detektiert werden.

Der hier postulierte Mechanismus ist ein Versuch, die experimentell beobachteten Ergebnisse zu erklären. Jedoch bedarf es der Untersuchung aller bekannten Bicyclononanon-Derivate hinsichtlich des Phänomens der *cis/trans*-Isomerie sowie weiteren detaillierter NMR-Analysen um den vorgeschlagenen Mechanismus zu bestätigen.

Zusammenfassend betrachtet sind die nach der Rekristallisation erhaltenen Isomere aller Verbindungen für pharmakologische Untersuchungen stabil genug. Deshalb sollte das

komplexe stereochemische Verhalten bei der Analyse von Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser Verbindungen als potentielle κ -selektive Opiode mit berücksichtigt werden.

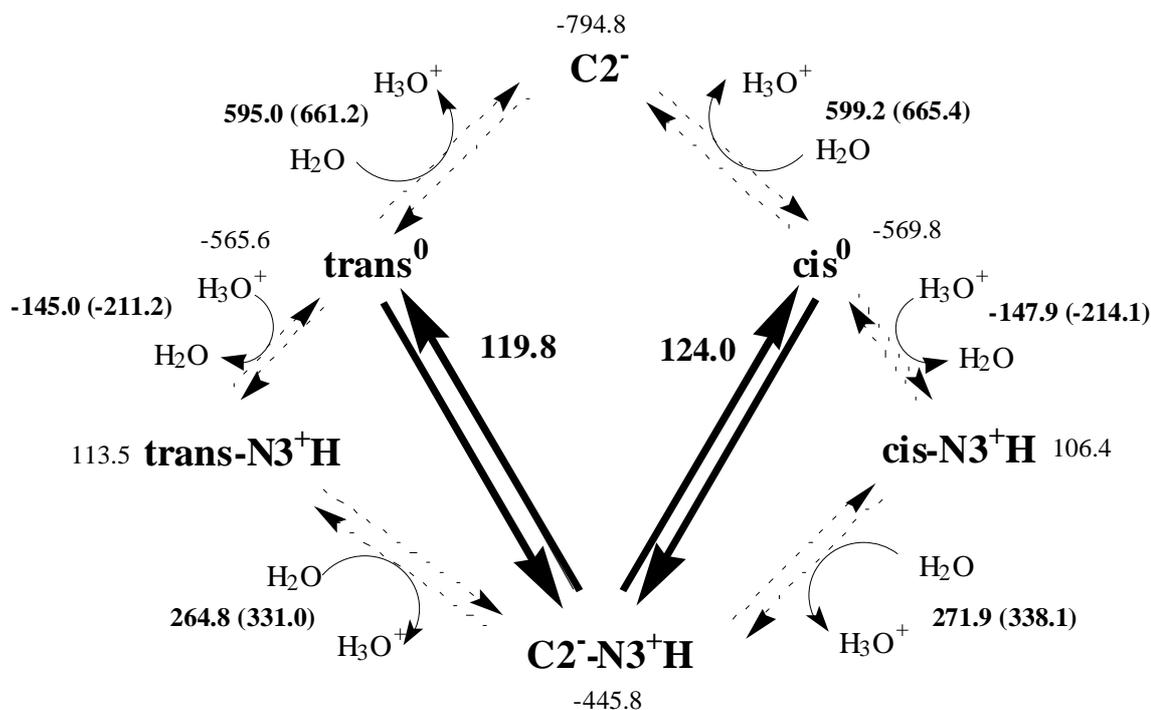


Abbildung 14: Grundmechanismus der *trans/cis* bzw. *cis/trans* Isomerie.

Die starken Pfeile kennzeichnen den Reaktionsweg zwischen der neutralen Verbindung und dem C2 deprotonierten N3 protonierten Carbanion. Dieser Weg ist verbunden mit einem Protonentransfer von einem H₃O⁺ zum N3-Stickstoffatom des Bicyclononans und synchron dazu eine Protonenabspaltung von C2/C4 durch Wasser. Die dargestellten Werte sind Bildungsenthalpien und Reaktionsenthalpien (fett) aus den PM3 Berechnungen der Verbindung **11** in kJ/mol unter Berücksichtigung des experimentellen Wertes der Protonenaffinität von Wasser¹⁰⁵ (in Klammern die PM3 Ergebnisse) $\Delta H(\text{H}_3\text{O}^+) = 582 \text{ kJ/mol}$ (666,6 kJ/mol), $\Delta H(\text{H}_2\text{O}) = -242,2 \text{ kJ/mol}$ (223,7 kJ/mol).

4 Struktur-Wirkungsbeziehungen

Bei der Suche nach spezifisch wirkenden Pharmaka mit einem möglichst geringen Nebenwirkungsspektrum können in Abhängigkeit von dem vorhandenen experimentellen Datenmaterial verschiedene Wege beschritten werden. Ist eine gut aufgelöste Röntgenstruktur des Rezeptors der zu untersuchenden Substanzklasse vorhanden, so kann ausgehend von dieser 3D-Struktur auf die Konformation und die sterischen und elektronischen Eigenschaften der Liganden geschlossen werden.

Bisher sind jedoch nur die Aminosäuresequenzen der Opioidrezeptoren bekannt, nicht aber eine Tertiärstruktur, und somit kann nicht von einer 3D-Struktur des Rezeptors auf potentielle Liganden geschlossen werden. Es müssen also andere Wege beschritten werden. Eine Möglichkeit besteht in der Auswertung einer großen Anzahl von einheitlichen, d. h. unter gleichen experimentellen Bedingungen entstandenen, experimentellen Daten mittels einer QSAR Methode (Quantitative Structure Activity Relationships). Diese Methode war bei der hier untersuchten Substanzklasse, den κ -Opioiden, jedoch nicht anwendbar. Es existieren in der Literatur zwar eine Fülle experimenteller Ergebnisse, jedoch sind diese zu heterogen, um eine sichere QSAR Analyse durchführen zu können.

Eine dritte Methode, der active analogue approach, beruht auf dem Vergleich bekannter aktiver Verbindungen. Durch den Vergleich von sterischen und elektrostatischen Eigenschaften der ermittelten pharmakophoren Konformationen strukturell unterschiedlichster Verbindungen sollte es möglich sein, ein Pharmakophormodell zu erstellen. Dieses Pharmakophormodell soll Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer potenter Analgetika sein.

So wurden bereits von verschiedenen Arbeitsgruppen Pharmakophormodelle für κ -Opioiden publiziert.⁷⁷⁻⁸² Als Templatstruktur diente hier zumeist Ethylketocyclazocin bzw. die Röntgenstruktur des Ketocyclazocins (KCZ), da dieses κ -Opioid ein relativ rigides

Ringsystem hat. Die Modelle beruhen jedoch meistens nur auf dem Vergleich der räumlichen Anordnung der Stickstoffatome und der Carbonylgruppen. Die Stellung des Protons am Stickstoffatom bzw. der ebenfalls essentielle Aromat wurden dabei nicht berücksichtigt. Diese sind aber für die Wechselwirkung mit dem Rezeptor bedeutend. Weiterhin wurden häufig nur strukturell sehr ähnliche Verbindungen miteinander verglichen, womit die Allgemeingültigkeit der Modelle nicht deutlich wird.

Wie in der Einleitung bereits dargestellt, besitzen die Bicyclononanone **1** und **2**, welche eine geringe konformative Flexibilität aufweisen, ebenfalls eine hohe Affinität zum κ -Rezeptor. Aus diesen Gründen kann auch der Diazabicyclus als Templat zur Erstellung eines κ -Pharmakophormodells herangezogen werden. Das Ziel bestand nun darin, aus den strukturell sehr unterschiedlichen κ -affinen Substanzen wie Ketocyclazocin, Arylacetamide, Isochinoline, EMD-Derivate und einer Reihe von κ -opioiden Diazabicyclononanonen (Schema 6, Seite 20) ein allgemeingültiges Pharmakophormodell zu erstellen.

4.1 Konformationsanalyse von Ketocyclazocin (KCZ)

In Kapitel 3 wurde bereits über die umfangreichen Konformationsuntersuchungen an dem Diazabicyclo[3.3.1]-nonanon **2** berichtet.

Um diese Konformationen mit bekannten κ -Opioiden vergleichen zu können, mußten die hinsichtlich ihrer hohen Aktivität ausgewählten Vertreter ebenfalls einer Konformationsanalyse unterzogen werden.

Da für Ketocyclazocin eine Röntgenstruktur¹⁰⁶ vorhanden ist, konnte diese nach einer Minimierung mit dem *TRIPOS*-Kraftfeld als Ausgangspunkt für den Vergleich mit **2** verwendet werden.

Zum Vergleich der Moleküle müssen sowohl sterische Faktoren als auch elektrostatische und lipophile Potentiale übereinstimmen. Die elektrostatischen und lipophilen Potentiale der κ -Opioide sollen in einem späteren Kapitel ausführlicher besprochen werden (siehe Kapitel 4.4.2, Seite 73). Hier sollen zunächst die sterischen Vergleiche durchgeführt werden.

Die in den nachfolgenden Kapiteln verwendete Fitprozedur erfolgte automatisch für ausgewählte Atome, wobei ein RMS-Wert über diese Atome ermittelt wurde (siehe Kapitel 2, Theoretische Methoden).

Als erstes wurde versucht, die an N7 protonierte SW-Konformation von **2** mit der am Stickstoffatom protonierten Röntgenstruktur des KCZ zu fitten. Dafür wurden die Atome der essentiellen N-H und C=O Gruppe sowie die Zentroide der Aromaten beider Verbindungen übereinandergelegt, wobei sowohl die Ketogruppe als auch die Estercarbonylgruppen in die Überlegungen einbezogen wurden. Solch eine Superposition erwies sich jedoch nicht als zufriedenstellend, da sich eine unterschiedliche Orientierung der N-H oder der C=O Gruppe in den beiden Verbindungen ergab, abhängig davon, mit welchem Aromaten von **2** gefittet wurde.

Eine andere Möglichkeit besteht in der Invertierung des N7-Stickstoffatoms der protonierten Verbindung **2**, wobei das Proton sich dann in einer äquatorialen Position befindet. Diese Konformation ist nur 8,4 kJ/mol instabiler als die mit axialer Position des Protons (Tabelle 3, Seite 29). Hier wurden zunächst die N-H und C=O Gruppen superpositioniert (RMS = 0,28 Å, Abbildung 15). Danach wurde versucht den Aromaten einzubeziehen, welches zu einem wesentlich schlechteren RMS-Wert führte (RMS = 0,96 Å (mit Aromat **A** von **2**) bzw. 0,99 Å (mit Aromat **B** von **2**)).

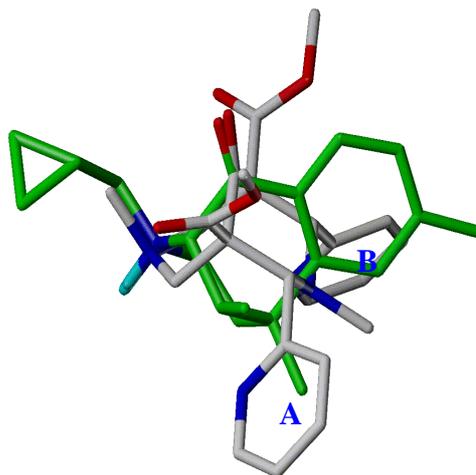


Abbildung 15: Superposition (N-H, C=O) von KCZ (grün) und **2** mit invertiertem N7.

Da eine Superposition mit der Röntgenstruktur von KCZ nicht zufriedenstellend war, wurde nun für KCZ eine systematische Konformationssuche durch schrittweise Drehung der beiden Torsionswinkel ($\Phi_1=1-2-3-4$, $\Phi_2=2-3-4-5$, siehe Schema 6g, Seite 20) in 30° Schritten und anschließender Minimierung durchgeführt. Es wurden sieben Konformationen erhalten (siehe Anhang, Tabelle VI).

In der energetisch stabilsten Konformation wurde das Stickstoffatom invertiert und die Struktur nochmals einer systematischen Konformationssuche unterzogen. Alle Konformationen wurden mit der semiempirischen PM3 Methode minimiert. Vergleicht man nun die stabilste Konformation der invertierten Form (434,1 kJ/mol), so ist diese lediglich um 0,4 kJ/mol energetisch instabiler als die Röntgenkristallstruktur (433,7 kJ/mol). Zur Superposition (N-H, C=O, Zentroid des Aromaten) wurde wieder die Ausgangskonformation von **2** verwendet (Abbildung 16). Jetzt konnte für die für eine Bindung an den Rezeptor wahrscheinlichen Gruppen (N-H, C=O) ein zufriedenstellender Fit zwischen beiden Molekülen erhalten werden. Außerdem befinden sich nicht nur diese Gruppen in einer relativ ähnlichen Lage, sondern ebenfalls die Zentroide eines Pyridinringes von **2** und des Phenolringes von KCZ, wodurch ein befriedigender Fit erhalten wird (RMS = 0,89 Å).

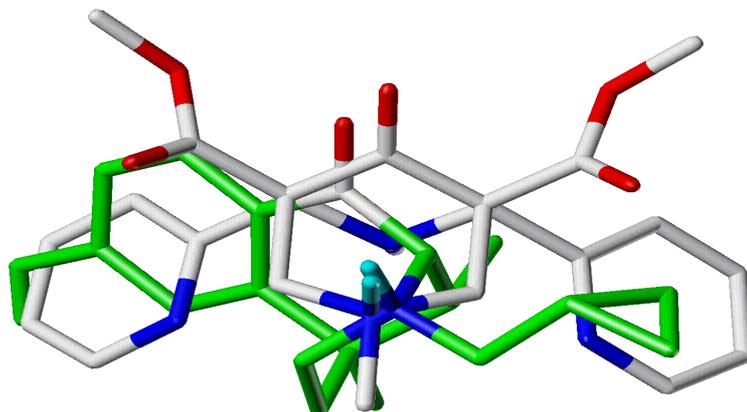


Abbildung 16: Superposition (N-H, C=O, Zentroid des Aromaten) von KCZ mit invertiertem Stickstoffatom (grün) und **2**.

Weiterhin wurde in einem zweiten Versuch die protonierte N3-H Gruppe als möglicher Wechselwirkungspartner für den Rezeptor betrachtet. In diesem Fall konnte die Carbonyl- und N-H Gruppe von **2** mit KCZ ohne vorherige Veränderungen (d. h. ohne Inversion des Stickstoffatoms im KCZ) gefittet werden. Dabei waren die aromatischen Ringe ebenfalls in Übereinstimmung. Das bedeutet, daß aufgrund dieser Untersuchungen weder das N3 noch das N7-Stickstoffatom- (RMS = 1,33 Å und 0,89 Å) eindeutig für eine Wechselwirkung mit dem Rezeptor definiert werden kann.

Außerdem kann aus der Superposition von KCZ und der Verbindung **2** nicht endgültig entschieden werden, welche der Carbonylgruppen, die Ketofunktion (RMS = 0,89 Å) oder eine der Estercarbonylgruppen (RMS = 0,68 Å), besser in das Pharmakophormodell paßt. Bei der Superposition nur eines Aromaten, wie im Fall von KCZ, ist die Carboxylgruppe geeigneter, jedoch sollen in das Pharmakophormodell wenn möglich zwei Aromaten einbezogen werden.

Auf die Frage, welche der Carbonylgruppen eine wichtige Bindungsstelle darstellt, soll im Kapitel 4 (Seite 84) näher eingegangen werden.

4.2 Zugänglichkeits-Berechnungen der Stickstoffatome des Grundgerüsts

Aus den bisher bekannten und hinsichtlich ihrer Aktivität untersuchten peptidischen und nichtpeptidischen Opioiden geht hervor, daß ein protoniertes Stickstoffatom für eine Bindung an den Rezeptor essentiell ist.^{58,69} Die Entfernung dieser wichtigen N-H Gruppe führt immer zu einem Aktivitätsverlust. Dies bedeutet, daß das am Stickstoffatom gebundene Proton für eine Wechselwirkung mit dem Rezeptor zugänglich sein muß. Die Berechnung der sterischen Zugänglichkeit der Stickstoffatome im Bicyclononanon-Grundgerüst sollte demzufolge Hinweise auf die entsprechende Protonierungsstelle (N3 oder N7) liefern.

Die Bicyclononanone **1** bis **5** und **7** (siehe Schema 5, Seite 15) besitzen zwei Stickstoffatome im Grundgerüst, von denen nicht bekannt ist, welches mit der anionischen Bindungsstelle am Rezeptor in Ion-Ion-Wechselwirkung tritt.⁵⁰ Ein Hinweis kann der Unterschied in der Zugänglichkeit der beiden Aminofunktionen für den Rezeptor sein. Aus diesem Grund wurde mit Hilfe des Programms HAMOG⁹⁹ die sterische Zugänglichkeit beider Stickstoffatome und der dazugehörigen Protonen in SS- und SW- Konformationen für **1** bis **4** berechnet. Es wurden hierfür die van der Waals Radien eines Protons z.B. als Bestandteil von H₂O (1,2 Å) bzw. eines Sauerstoffatoms als Bestandteil von H₂O (2,0 Å) als Wechselwirkungspartner verwendet (Lavery und Pullman¹⁰⁷). Die Ergebnisse der Berechnungen sind in Tabelle 9 zusammengefaßt.

Man kann erkennen, daß die Stickstoffatome in einer SS-Konformation sowohl für ein Proton als auch für ein Sauerstoffatom eines Wassermoleküls nahezu unzugänglich sind. Vergleicht man die Werte untereinander, so ist im Fall von protoniertem **2** die sterische Zugänglichkeit für das Proton an N3 in einer SW-Konformation relativ gering (0,76%), dagegen ist das Proton an N7 recht gut für ein Wassermolekül zugänglich (7,96%). Ähnliches gilt auch für die Verbindungen **3** und **4**. Bei der Verbindung **1** wurden für beide Konformationen die höchsten Zugänglichkeiten gefunden.

Tabelle 9: Sterische Zugänglichkeit der Stickstoffatome N3 und N7 bzw. der daran gebundenen H-Atome der Verbindungen **1** bis **4** im neutralen und N7- und N3-protonierten Zustand.

Konformation		unters. Atom	H (1,2 Å) in %				H ₂ O (2,0 Å) in %			
Verbindung			1*	2	3	4	1*	2	3	4
unprotoniert	SS	N ₃	7,16	0	0	0	3,64	0	0	0
	SS	N ₇	0	0	0	0	0	0	0	0
	SW	N ₃	3,68	0	0	0	0,84	0	0	0
	SW	N ₇	6,88	4,28	4,16	3,12	3,12	0,84	0,92	0,76
protoniert	SS	H an N ₃	1,48/ 15,28	1,64	1,68	0,4	0,12/9,0	0,20	0,12	0
	SS	H an N ₇	2,16	1,84	1,48	0,24	0,28	0,16	0,12	0
	SW	H an N ₃	2,72/14,92	3,24	1,72	0,08	0,48/ 9,6	0,76	0,20	0
	SW	H an N ₇	14,2	13,32	14,08	14,8	8,56	7,96	8,88	9,44

*an N3 befindet sich in neutraler Form ein Proton

Aus diesen Berechnungen kann geschlußfolgert werden, daß die Diazabicyclo[3.3.1]nonan-9-one wahrscheinlich in der N7-protonierten Form an den Rezeptor binden. Jedoch kann die N3-protonierte Form als Wechselwirkungspartner für den Rezeptor nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Der sterische und elektrostatische Vergleich der unterschiedlich protonierten Konformationen von **2** mit den flexiblen Arylacetamiden und anderen κ -Opioiden sollte weiteren Aufschluß über die pharmakophoren Eigenschaften geben.

4.3 Konformationsanalyse verschiedener Arylacetamide

In der Literatur sind Konformationsuntersuchungen^{81,82} verschiedener Arylacetamide bereits beschrieben. Um zu gewährleisten, daß die Ergebnisse aller in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen auf einem einheitlichen Parametersatz beruhen und somit miteinander vergleichbar sind, wurde auch für diese bereits untersuchten Verbindungen eine Konformationsanalyse durchgeführt.

Um möglichst den gesamten Konformationsraum zu erfassen und damit alle lokalen Minima der jeweiligen Verbindung aufzufinden, wurde eine systematische Konformationssuche durchgeführt. Hierbei wurden die frei drehbaren Torsionswinkel in 10° Schritten systematisch variiert und jede erhaltene Konformation einer Geometrieoptimierung unterzogen (ausführliche Beschreibung siehe Kapitel 2, Theoretische Methoden). Mit steigender Anzahl von Torsionsfreiheitsgraden erhöht sich auch die Anzahl der möglichen Konformationen des Moleküls, d.h. wenn man fünf Torsionswinkel in 10° Schritten ändert, werden theoretisch 36⁵ Konformationen erhalten. Durch van der Waals Kontakte zwischen Atomen bei bestimmten Torsionswinkel-Einstellungen verringert sich jedoch die Anzahl der Konformationen für die jeweilige Verbindung.

Als Beispiel für die Klasse der Arylacetamide ist in der folgenden Tabelle die vollständige Konformationsbeschreibung von U-50488 dargestellt. Es konnten aus den 95 Konformationen, welche in einem Energiebereich von 19.5 kJ/mol liegen, sechs Konformationsfamilien ermittelt werden. Zu einer Familie gehören alle Konformationen, welche sich in τ_4 bzw. τ_5 nicht mehr als um 20° unterscheiden. Die Konformationsfamilien sind durch ein Energiemaximum getrennt. Für jede Konformationsfamilie sind die fünf energetisch stabilsten Strukturen mit ihren relativen Energien aufgeführt.

Tabelle 10: Vollständige Konformationsbeschreibung von U-50488 (Winkel in °).

Energie (kJ/mol)	relative Energie	τ_1	τ_2	τ_3	τ_4	τ_5
$\tau_4 = -g$ $\tau_5 = -g$						
65.3	0.0	56.8	64.4	-175.7	-68.6	-56.6
66.2	0.9	59.2	80.9	-171.5	-68.3	-55.4
67.5	2.2	-120.4	79.3	-170.8	-68.9	-54.9
68.0	2.7	-119.2	68.9	-172.5	-68.7	-54.3
70.3	5.0	-110.9	90.4	-169.0	-70.0	-59.1
$\tau_4 = +ac$ $\tau_5 = -g$						
67.4	2.1	-57.6	-80.1	176.1	118.2	-63.2
69.0	3.7	119.0	-81.8	173.2	117.5	-63.8
73.2	7.9	94.9	-106.4	170.0	114.1	-69.0
78.2	12.9	66.2	-156.7	178.3	113.1	-68.2
79.1	13.8	-110.7	-162.9	179.2	112.9	-68.1
$\tau_4 = -g$ $\tau_5 = +g$						
65.6	0.3	61.9	86.6	176.0	-65.5	43.2
66.1	0.8	61.5	86.3	177.1	-70.7	55.2
66.9	1.6	-113.9	89.7	178.1	-66.6	44.0
67.8	2.5	-115.6	88.3	178.0	-71.2	55.1
70.1	4.8	-45.6	-57.3	172.4	-64.9	45.9
$\tau_4 = +ac$ $\tau_5 = +g$						
67.5	2.2	-60.9	-87.9	-174.6	119.5	46.3
67.6	2.3	-56.8	-81.2	-179.6	108.4	54.8
68.5	3.2	116.2	-90.1	-175.7	119.8	45.2
73.3	8.0	45.4	59.6	-174.7	109.8	58.3
73.7	8.4	-132.5	60.0	-175.3	109.8	58.3
$\tau_4 = -g$ $\tau_5 = trans$						
70.8	5.5	59.5	84.2	177.0	-68.0	165.4
72.4	7.1	-116.9	87.1	178.2	-68.0	165.6
76.3	11.0	-45.1	-56.5	172.8	-67.0	171.0
79.6	14.3	-85.9	154.8	-177.9	-73.6	166.6
80.3	15.0	92.8	157.3	-178.2	-73.1	166.0
$\tau_4 = +ac$ $\tau_5 = trans$						
68.4	3.1	44.7	55.2	-174.1	123.8	163.2
69.1	3.8	-58.5	-85.4	-177.6	116.4	167.7
70.7	5.4	122.3	-84.6	-179.5	114.7	165.6
77.1	11.8	-133.2	55.6	-174.5	123.8	163.1
78.1	12.8	97.2	-108.6	-175.8	121.5	166.2

$\tau_1 = 1-2-3-4$, $\tau_2 = 2-3-4-5$, $\tau_3 = 3-4-5-6$, $\tau_4 = 4-5-6-7$, $\tau_5 = 9-8-10-11$ (siehe Schema 6a, Seite 20)

Die Torsionswinkel für die einzelnen Konformationsfamilien sind grau unterlegt. Es wurden dabei alle ermittelten stabilsten Konformationen jeder Konformationsfamilie in Betracht gezogen.

Die Konformationsanalyse zeigt, daß die Verbindung U-50488 sehr flexibel ist. Da sich alle Konformationen in einem sehr kleinen Energiebereich von 19.5 kJ/mol befinden, kann keine Vorzugskonformation abgeleitet werden. Aus diesem Grund müssen alle Konformationen der Verbindung in die nachfolgenden Betrachtungen einbezogen werden.

Analoge Untersuchungen wurden für alle in Schema 6 (Seite 20) aufgeführten Verbindungen durchgeführt, jedoch wurden hier die Torsionswinkel in 30° Schritten systematisch variiert. Es konnten ähnliche Ergebnisse im Vergleich mit U-50488 hinsichtlich der Flexibilität und eines sehr engen Energiebereiches erhalten werden. So wurden für die Arylacetamide U-62066 und U-69593 (Schema 6, Seite 20) 18 und 12 Konformationen und für das Tetrahydroisochinolin-Derivat 45 Konformationen gefunden. Für das sehr rigide Ketocyclazocin (zwei frei drehbare Torsionswinkel) wurden sieben Konformationen erhalten. Die Konformationen mit den rotierbaren Torsionswinkeln sind für diese Verbindungen im Anhang (Tabelle VIII-XI) aufgelistet.

Die höchste Flexibilität weist das EMD-61753 auf, hier konnten 130 Konformationen in einem Energiebereich von 51 kJ/mol ermittelt werden. Die Verbindung CI-977 wurde keiner zusätzlichen Konformationsanalyse unterzogen, da sich das Molekül strukturell nur im substituierten Ringsystem (anstelle thienyl- furanyl-Ring) gegenüber U-62066 unterscheidet.

4.4 Erstellung des κ -Pharmakophormodells

Um ein möglichst allgemeingültiges Modell für κ -Opioide aufzustellen, wurden aus strukturell sehr unterschiedlichen Substanzklassen hoch affine Verbindungen zum κ -Rezeptor ausgesucht. So sind von *Scopes et al.*⁵⁸ verschiedene Isochinolinderivate mit unterschiedlicher Affinität zum κ -Rezeptor bekannt. Für die hier vorgestellten Untersuchungen wurde das Isochinolinderivat mit der höchsten Aktivität ausgewählt und wie bereits beschrieben, einer Konformationsanalyse unterzogen.

Alle so erhaltenen Konformationen wurden nun auf die aus der Konformationsanalyse von **2** hervorgegangenen Konformationen gefittet. Es mußten beide Möglichkeiten der Protonierungsstelle (N3 und N7) an **2** bei der Superpositionierung berücksichtigt werden, da bisher noch nicht eindeutig geklärt werden konnte, welches Stickstoffatom für eine Wechselwirkung mit dem Rezeptor verantwortlich ist. Welche der Carbonylgruppen (Keto- oder Estergruppe) bei der Superpositionierung verwendet wurde, hatte keinen Einfluß auf die Unterschiede in den RMS-Werten zwischen N3 und N7.

In der Abbildung 17 wurden als Fitpunkte die in allen Verbindungen vorkommenden essentiellen Gruppen (N-H und Ketogruppe) sowie der Zentroid mindestens eines Aromaten verwendet.

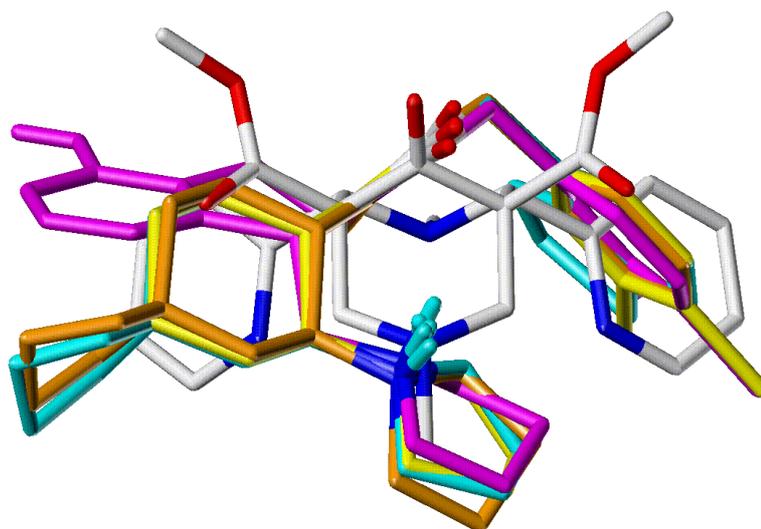


Abbildung 17: Superposition der Opiode **2** (N7 protoniert, atomfarben), U-50488 (gelb), U-62066 Derivat (cyan), U-69593 (orange), Isochinolinderivat (magenta).

Nachdem alle Konformationen jeder Verbindung mit der N3- und N7- protonierten Konformation von **2** gefittet wurden, konnte für jede Struktur jeweils der Fit mit dem niedrigsten RMS-Wert zu **2** herausgesucht werden. Anschließend wurden alle Verbindungen noch untereinander superpositioniert.

In Tabelle 11 sind die RMS-Werte aus der Superposition eines Aromaten, sowie in diesem Fall der Carboxylgruppe und der N3-H bzw. N7-H Gruppe dargestellt. Die RMS-Werte, welche die Qualität der Superposition der ausgewählten Atome widerspiegeln, sind dann besonders niedrig, wenn das Targetmolekül **2** in einer N7-protonierten SW-Konformation vorliegt. Außerdem besitzen die in diesem Fall gefundenen Konformationen eine niedrigere Energie als jene Konformationen, welche sich bei der Superposition auf das N3-protonierte **2** ergeben.

Diese Ergebnisse sind ein Hinweis darauf, daß eine N7-Protonierung für eine Rezeptorwechselwirkung günstiger ist als eine N3-Protonierung und somit die pharmakophore Konformation von **2** an N7 protoniert sein sollte.

Aus der Superposition der vier einfachprotonierten Verbindungen (Abbildung 17) ist eine sehr gute Übereinstimmung der essentiellen C=O und N-H Gruppen zu erkennen. In dem Modell befinden sich das protonierte Stickstoffatom und die Ketogruppe in einer parallelen Anordnung. Die Güte des Modells wird dadurch unterstrichen, daß die Pyridinringe der Verbindung **2** sehr gut mit den entsprechenden Aromaten der Arylacetamide bzw. im Fall des Isochinolinderivates mit beiden aromatischen Ringen übereinstimmen.

Die anhand dieses Modells ermittelten pharmakophoren Konformationen aller untersuchten Verbindungen sind in Abbildung 18 aufgeführt.

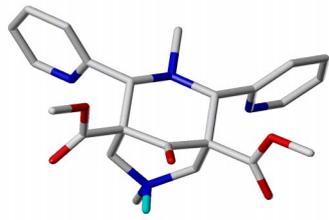
Tabelle 11: RMS-Werte (in Å) der Fits aller untersuchten Moleküle.

	2	KCZ	EMD-61753	Isochinolinder.	ICI-199441	CI-977	U-50488	U-62066 Der.	U-69593
2	-	0,68	0,46	0,49	0,46	0,74	0,75	0,75	0,79
KCZ	1,33	-	0,75	0,79	0,75	0,48*	0,45*	0,48*	0,62*
EMD-61753	1,20	0,83	-	0,07	0,03	0,32	0,25	0,32	0,45
Isochinolinder.	1,06	1,07	0,25	-	0,20	0,33	0,27	0,32	0,46
ICI-199441	1,20	0,75	0,04	1,37	-	0,34	0,28	0,34	0,47
CI-977	1,21	0,54	1,41	0,87	0,93	-	0,09	0,02	0,18
U-50488	1,18	0,53	1,46	0,81	0,94	0,08	-	0,08	0,23
U-62066 Der.	1,21	0,54	1,42	0,83	0,94	0,02	0,06	-	0,17
U-69593	1,25	0,54	0,92	0,85	0,94	0,05	0,11	0,06	-

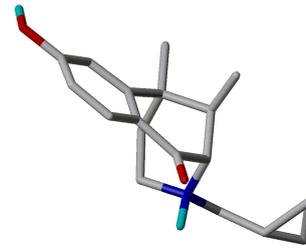
Fitpunkte : N-H Gruppe, Carboxylgruppe, Zentroid eines Aromaten

* hier konnte der Aromat nicht einbezogen werden.

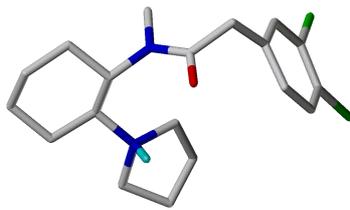
Die Superposition auf N7 protonierte Verbindung **2** mit SW-Konformation ist weiß unterlegt,
die Superposition auf die entsprechende N3 protonierte Konformation ist grau unterlegt.



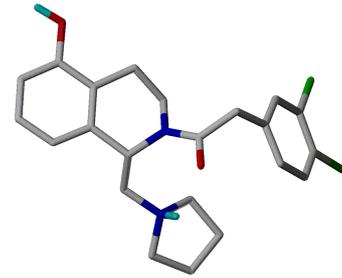
2



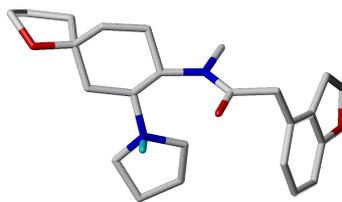
KCZ-invertiert



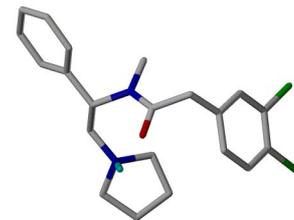
U-50488



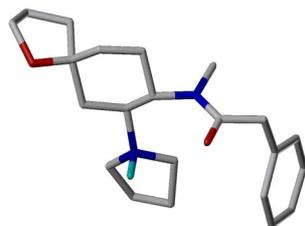
Isochinolin-Derivat



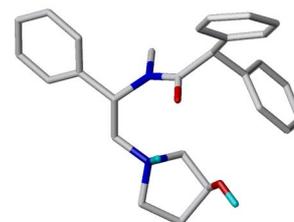
CI-977



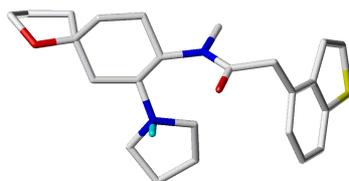
ICI-199441



U-69593



(S,S) EMD-61753



U-62066-Derivat

Abbildung 18: Pharmakophore Konformationen ausgewählter κ -Opiode

4.4.1 Struktur-Wirkungsbeziehungen von EMD-61753

EMD-6175 (Schema 6e, Seite 20) ist ein potentieller, selektiver und oral verfügbarer κ -Opioidrezeptor-Agonist. Von *Gottschlich et al.*^{64,65,108} wurden die Bindungsaffinitäten der vier Stereoisomeren des EMD-61753 (Tabelle 12) publiziert. Diese Verbindungen wurden jedoch bisher noch nicht in Hinsicht auf ihre Struktur(Konformations)-Aktivitäts-Beziehungen untersucht. Das EMD-61753 besitzt gegenüber den bereits untersuchten Arylacetamiden und dem Isochinolinderivat drei Aromaten. Aufgrund dieser strukturellen Gegebenheit ist die Verbindung sehr gut für die Überprüfung der Allgemeingültigkeit des aufgestellten Pharmakophormodells geeignet, da die bisher betrachteten Verbindungen nur einen oder zwei Aromaten besitzen.

Tabelle 12: Konfiguration und κ -opioide Rezeptorbindungsaffinität der vier Stereoisomeren von EMD-61753

Verbindung	κ -Opioidbindung*
(S,S) EMD	5,6 \pm 1,4
(S,R) EMD	190,0 \pm 35,0
(R,S) EMD	267,0 \pm 49,0
(R,R) EMD	> 10000

*IC₅₀ in nmol/l, mean \pm SD, n=3, (x,y) EMD siehe Schema 6e, Seite 20,
x = Konfiguration von C4, y = Konfiguration der Hydroxylgruppe

Die vier Stereoisomeren wurden wie die bisher untersuchten Verbindungen einer systematischen Konformationsanalyse unterzogen und die pharmakophoren Konformationen anhand des Modells ermittelt (Abbildung 19).

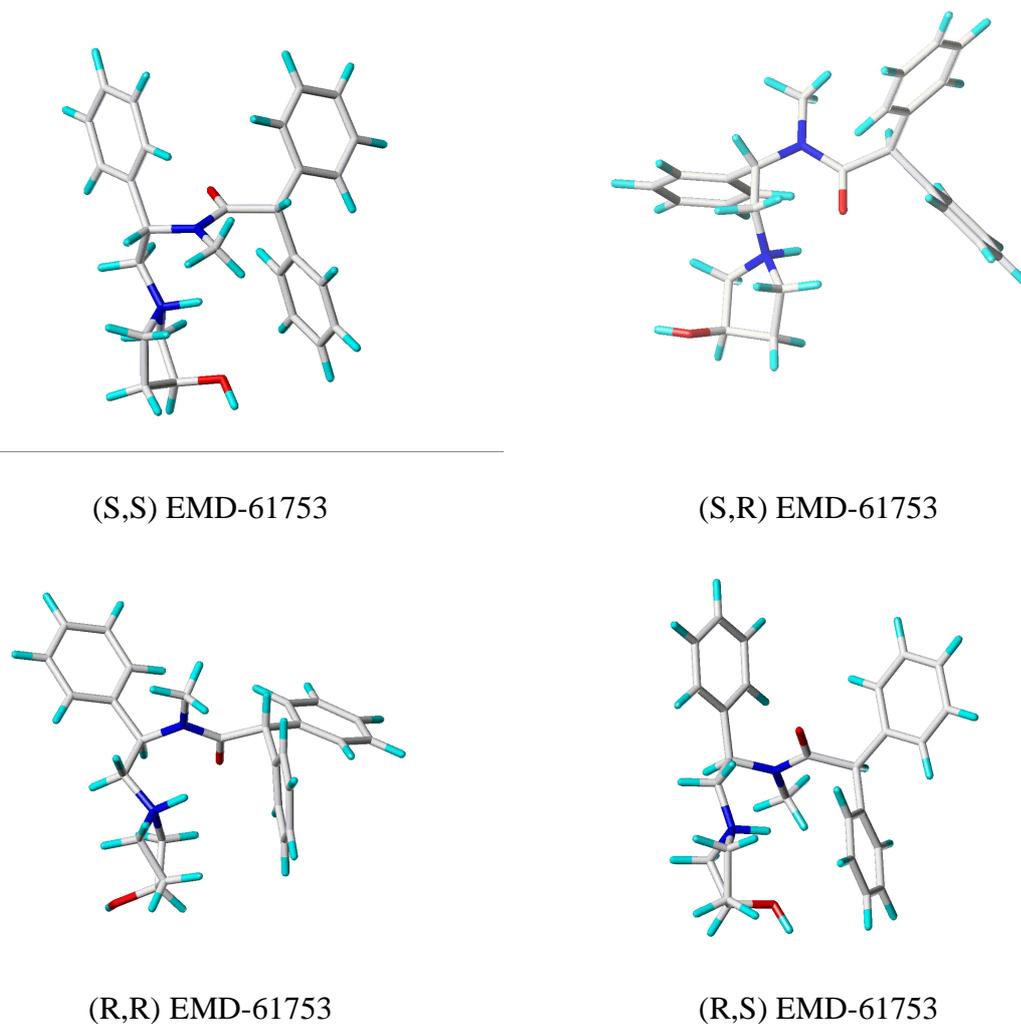


Abbildung 19: Pharmakophore Konformationen aller vier Stereoisomeren des EMD-61753

Auf der Grundlage des bisher erstellten Pharmakophormodells sollten die vier Stereoisomeren des EMD-61753 nun mit den bereits untersuchten κ -Opioiden verglichen werden, um somit die Ursache für die unterschiedliche Rezeptoraffinität der vier Stereoisomeren aufzuklären und das Modell zu überprüfen. Das EMD-61753 besitzt drei aromatische Ringe, welche alle für eine Wechselwirkung mit dem Rezeptor in Frage kommen. Zuerst wurden die EMD-Isomere mit dem Isochinolinderivat verglichen, da hier zwei aromatische Gruppen vorhanden sind. Es wurden alle möglichen Fitkombinationen der Aromatenzentren sowie der funktionellen N-H und C=O Gruppen mit den entsprechenden Gruppen des Isochinolinderivates (in seiner bereits ermittelten pharmakophoren Konformation) berechnet. In Abbildung 20 sind nur die (S,S) und (R,R) Enantiomere dargestellt, da das zweite

Chiralitätszentrum nur die Stellung der Hydroxylgruppe beschreibt, auf welche hier nicht näher eingegangen wird. Auf diesem Wege wurde für das (S,S)- und (S,R)- Diastereomer eine Superposition gefunden, bei der der phenolische Ring des Isochinolinderivates auf dem am chiralen Kohlenstoffatom gebundenen Benzenring **A** (siehe Abbildung 20) liegt. Im Fall der (R,S)- und (R,R)- Diastereomeren dagegen ist der andere Benzenring (**B**) mit der phenolischen Gruppe des Isochinolinderivates superpositioniert (siehe Abbildung 20). Betrachtet man die Lage der aromatischen Ringe, so befindet sich beim (S,S)-Isomer der Ring **A** des EMD-61753 in coplanarer Stellung und bei den weniger affinen (R,R)- und (R,S)- Isomeren der Ring **B** des EMD-61753 in nahezu senkrechter Stellung zu dem phenolischen Benzenring des Isochinolinderivates. Für die beste Superposition der (S,S)- und (S,R)- Diastereomeren mit dem Isochinolinderivat wurde ein RMS-Wert von 0,16 Å ermittelt, dagegen für die beiden jeweils anderen Diastereomeren nur ein Wert von 0,48 Å. Weiterhin nehmen die Pyrrolidinringe der schwach affinen Diastereomeren im Gegensatz zu den stark affinen Diastereomeren eine andere Position im Raum ein als der Pyrrolidinring im Isochinolinderivat (siehe Abbildung 20).

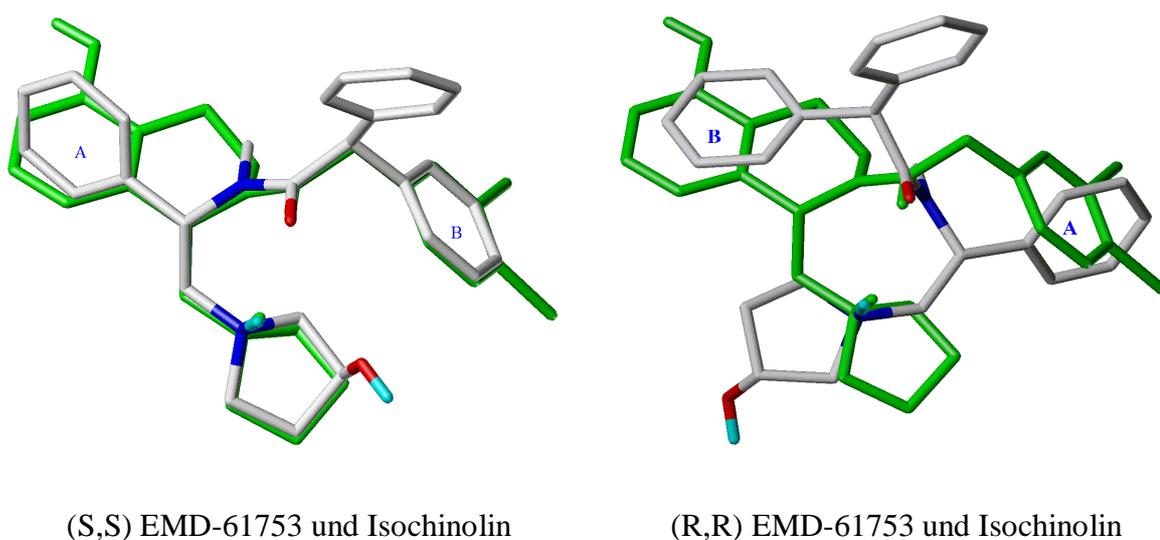


Abbildung 20: Superposition verschiedener EMD-Enantiomere auf ein Isochinolin-Derivat (grün), die Bezeichnungen **A** und **B** beziehen sich auf das EMD-61753.

Beim Vergleich der EMD-Struktur mit KCZ ist zu erkennen, daß die Cyclopropylmethylengruppe des KCZ eine äquivalente Lage zu dem Pyrrolidinring des (S,S)-EMD einnimmt (siehe Abbildung 22, Seite 77).

Gewöhnlich wechselwirken die Verbindungen, welche eine Cyclopropylmethylengruppe am Stickstoff besitzen, als Antagonisten mit dem μ - oder δ -Rezeptor. Dagegen bindet KCZ als Agonist an den κ -Rezeptor in der oben beschriebenen invertierten Form. Die Cyclopropylmethylengruppe kann sich bei der Anlagerung des KCZ an den Rezeptor entweder außerhalb der Bindungstasche befinden, stellt also keine sterische Hinderung dar, oder kann eine hydrophobe Wechselwirkung mit dem Rezeptor eingehen. Dies kann ein Hinweis auf die κ -agonistische Wirkung von KCZ sein.

Bei der Bestimmung der pharmakophoren Konformation des EMD-Derivates wurde ebenfalls die Hydroxylgruppe am Pyrrolidinring mit in die Betrachtungen einbezogen. Fügt man das EMD-61753 in das Pharmakophormodell ein und betrachtet die Lage der Hydroxylgruppe gegenüber den Hydroxylgruppen des KCZ oder Isochinolinderivates, so ist die OH-Gruppe separiert, d. h. nicht in der räumlichen Nähe der anderen Hydroxylgruppen. Daraus folgt, daß diese Hydroxylgruppe eine zusätzliche Bindungsstelle für das EMD-61753 darstellen könnte. Weiterhin kann die unterschiedliche räumliche Lage der Hydroxylgruppe im EMD-61753 eine zusätzliche Erklärung für die abnehmende Affinität vom S,S zum S,R-Enantiomer sein. Nimmt man an, daß im Bereich der Cyclopropylmethylengruppe des KCZ eine hydrophobe Bindungsstelle existiert, dann befindet sich im Fall des S,R-Enantiomeren die hydrophile Hydroxylgruppe in einer ähnlichen räumlichen Position wie die hydrophobe Cyclopropylgruppe des KCZ, was zu einem Affinitätsverlust führt.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß eine sehr gute Superposition für die N-H und C=O Gruppe sowie für beide Aromaten der (S,S)- und (S,R)- Isomeren mit den Verbindungen aus dem Pharmakophormodell erhalten wird. Dagegen wird bei den entsprechenden (R,R)- und

(R,S)- Isomeren nur eine gute Superposition für die N-H und C=O Gruppe gefunden, aber nicht für die Aromaten.

Mit Hilfe des Pharmakophormodells konnten Anhaltspunkte für die hohe Affinität der (S,S)- und (S,R)-Isomeren zum κ -Rezeptor und umgekehrt für die geringe Affinität der jeweils enantiomeren Derivate erhalten werden.

4.4.2 Vergleich der Oberflächenpotentiale

Da bei der Superposition aller Verbindungen aufgrund der niedrigen RMS-Werte gute räumliche Übereinstimmungen zwischen den Strukturen gefunden werden konnten, war es weiterhin von Interesse, neben räumlichen Analogien der Moleküle auch nach gemeinsamen elektronischen Eigenschaften zu suchen. Die biologische Aktivität einer Verbindung wird nicht nur durch sterische Wechselwirkungen sondern auch durch elektrostatische und lipophile Eigenschaften beeinflusst.

Aus diesem Grund wurden im folgenden Schritt die molekularen elektrostatischen, lipophilen und Wasserstoffbrückenbindungs-Potentiale für alle Verbindungen in ihrer oben ermittelten pharmakophoren Konformation mit dem Programm MOLCAD, welches in SYBYL implementiert ist, berechnet (siehe Kapitel 2, Seite 21). Die Verteilung der Potentiale auf der Moleküloberfläche sind für vier Beispielmoleküle in der Abbildung 21 gezeigt. Obgleich die chemischen Strukturen der hier untersuchten Verbindungen sich deutlich unterscheiden, sind alle drei Potentiale auf den Molekülen ähnlich verteilt. So sind bei allen vier Molekülen das positive elektrostatische Potential (protoniertes Stickstoffatom) und das negative elektrostatische Potential (Ketogruppe) in einer ähnlichen Position.

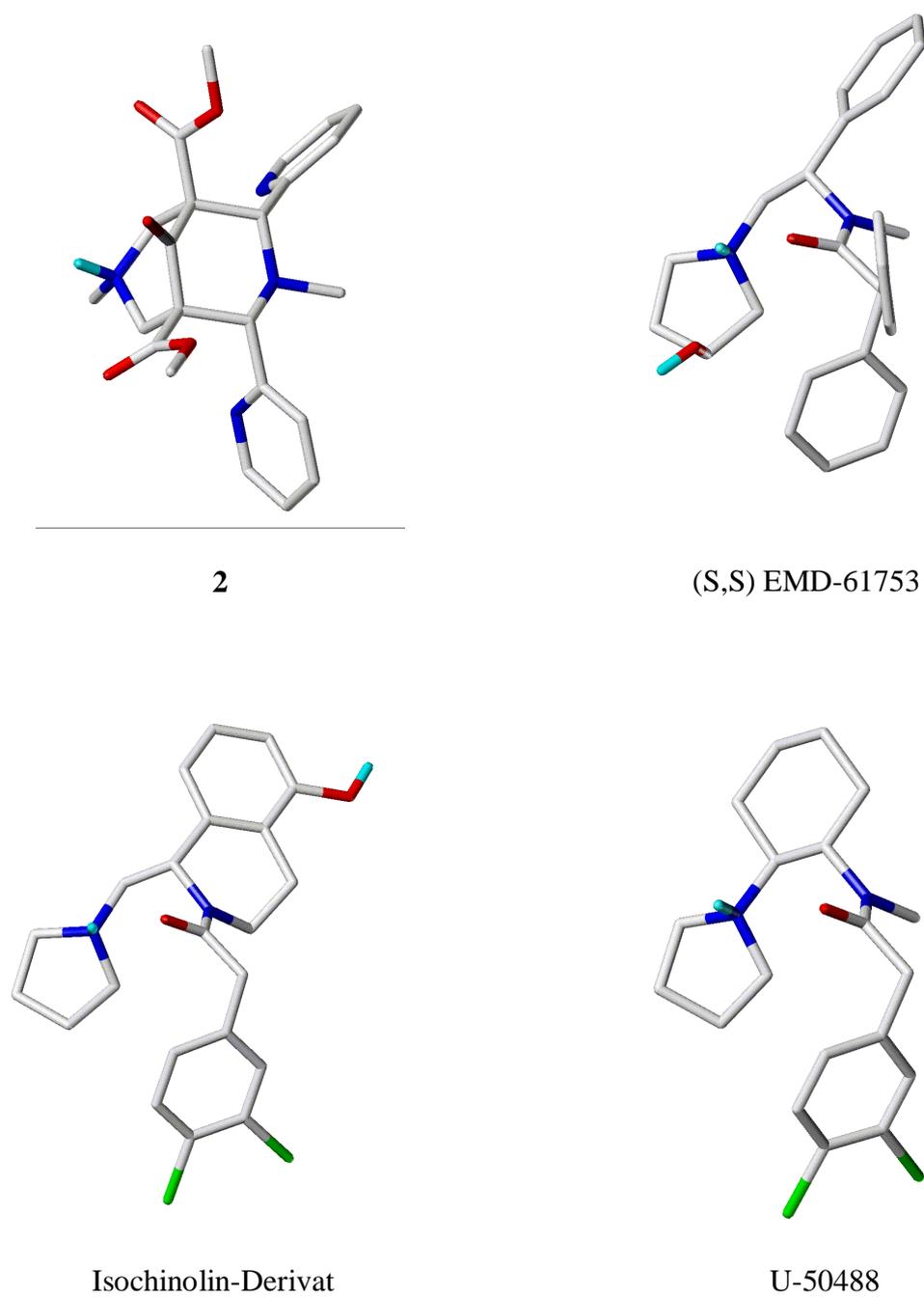
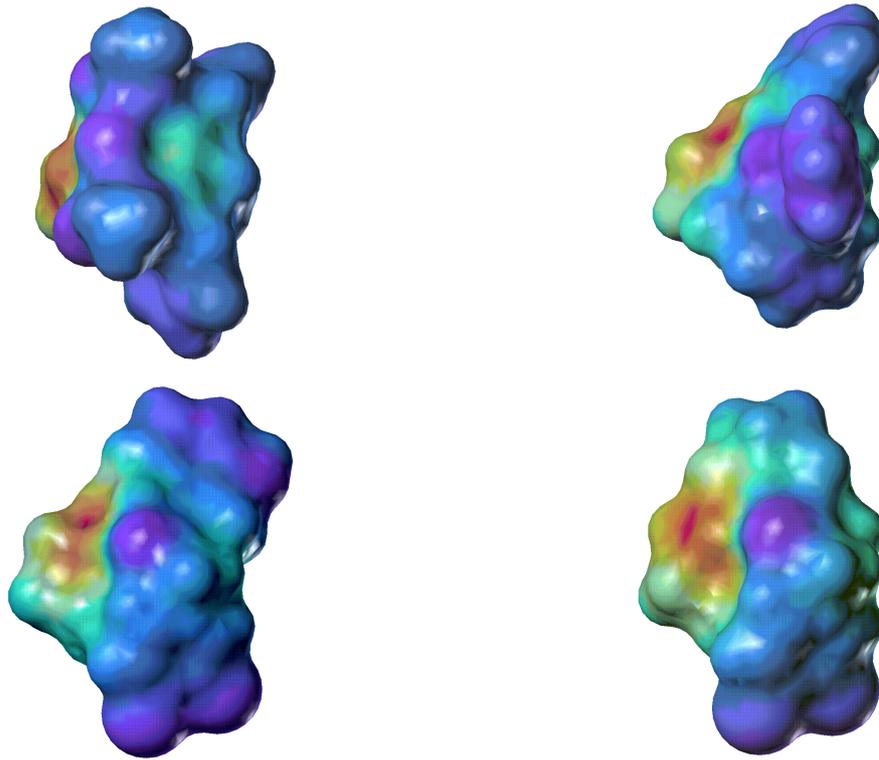
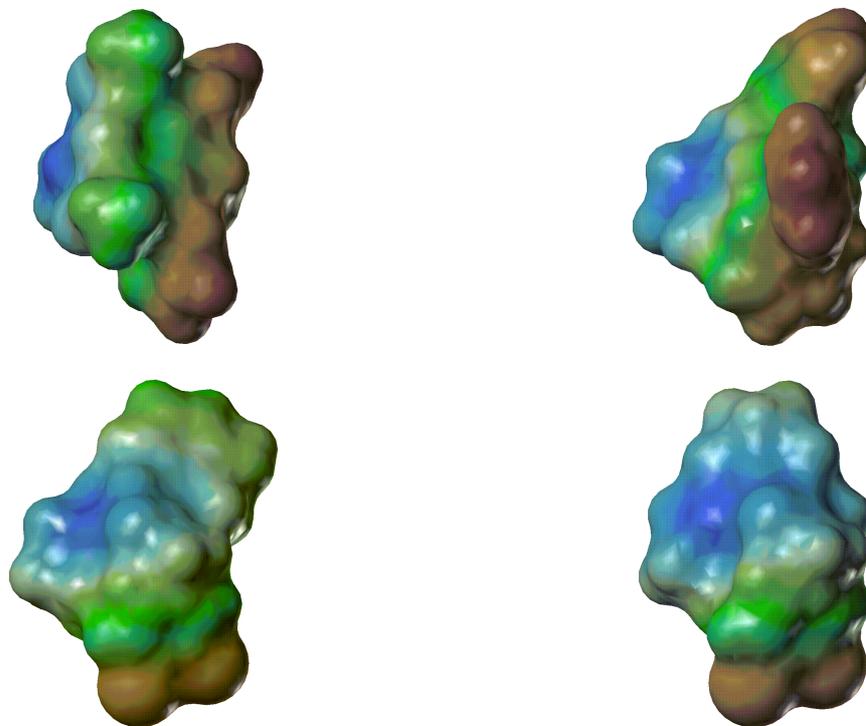


Abbildung 21a: Orientierung der Verbindungen **2**, EMD-61753, Isochinolin-Derivat und U-50488 sowie dazugehöriges molekulares elektrostatisches, lipophiles und Wasserstoffbrücken-Potential.



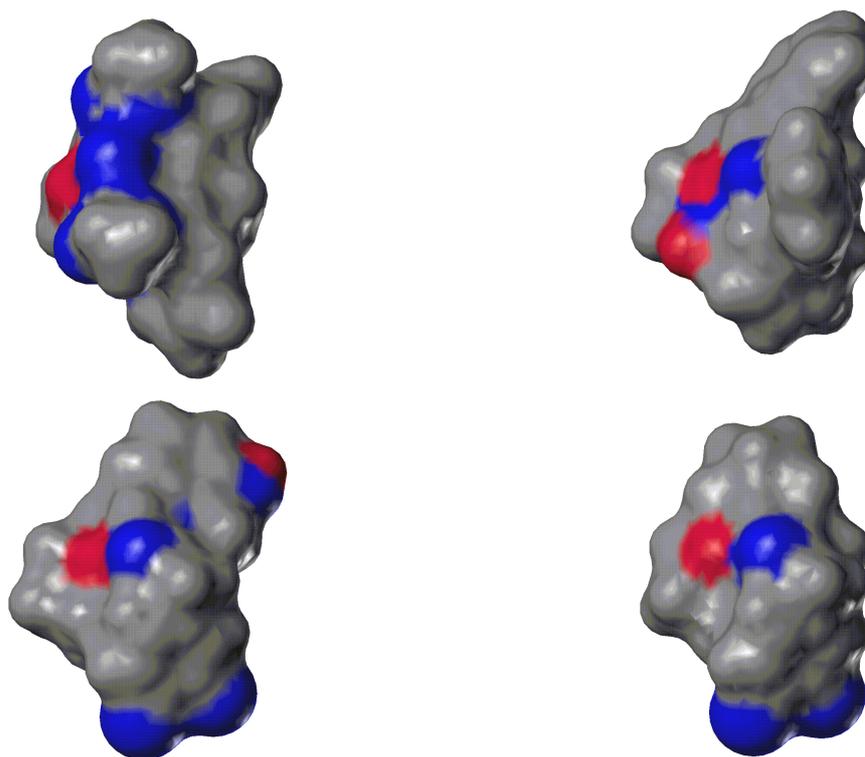
21b: Molekulare elektrostatische Potentiale (MEP)

(rot = positives MEP; blau = negatives MEP)



21c: Lipophiles Wechselwirkungs-Potential

(blau = hydrophil; braun = lipophil (hydrophob))



21d: Wasserstoffbrücken-Potential

(rot = Protonen-Donor-Bereich; blau = Protonen-Akzeptor-Bereich)

4.4.3 Zusammenfassung des κ -Pharmakophormodells

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die N7-Protonierung für die Wechselwirkung mit dem Rezeptor günstiger zu sein scheint als die N3-Protonierung des als Templatstruktur verwendeten Bicyclononanons **2** in der SW-Konformation. Die großen Ähnlichkeiten aller Potentiale, die sehr niedrigen Konformationsenergien der ermittelten pharmakophoren Konformationen sowie die sehr guten Superpositionen strukturell unterschiedlicher κ -Opioide mit den nahezu rigiden Verbindungen KCZ und Diazabicyclononanon **2** sind gute Hinweise dafür, daß eine N7-protonierte SW-Konformation in den Diazabicyclononanonen bei der Bindung der pharmakophoren Struktur an den Rezeptor vorliegt. Die Torsionswinkel, welche die Konformationen der pharmakophoren Strukturen aller hier untersuchten Verbindungen beschreiben, sowie die dazugehörigen relativen Energien sind in Tabelle 13 aufgeführt.

In Abbildung 22 ist das Pharmakophormodell ausgewählter Verbindungen dargestellt, wobei die wichtigsten funktionellen Gruppen farbig hervorgehoben sind.

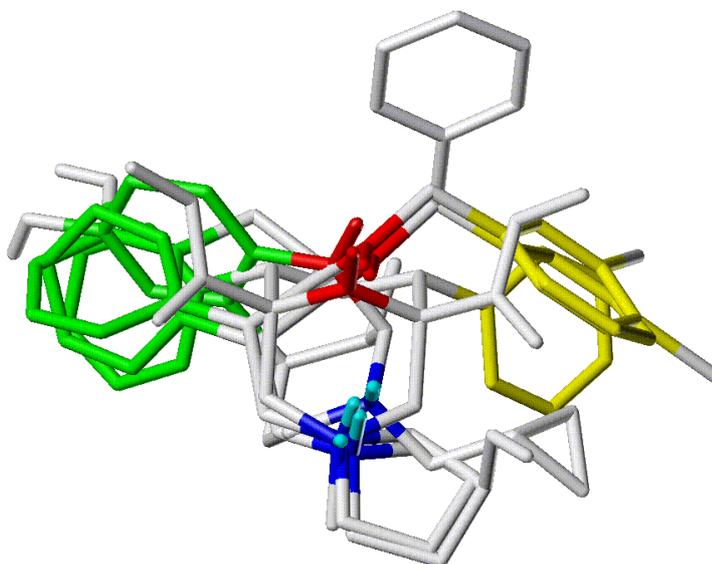


Abbildung 22: κ -Pharmakophormodell (EMD-61753, **2**, KCZ, Isochinolin-Derivat) mit N-H Gruppe (blau), C=O Gruppe (rot), Aromaten (gelb und grün)

Tabelle 13: Torsionswinkel (in $^{\circ}$) und relative Energien (in kJ/mol) der pharmakophoren Strukturen κ -selektiver Verbindungen

Torsionswinkel	KCZ	Isochinolin Deriv.	EMD-61753	ICI-199441	CI-977	U-62066 Deriv.	U-69593	U-50488	6b
τ_1	-173	-86	-88	-90	-67	-67	-60	-70	-76
τ_2	-168	50	57	56	61	61	61	58	61
τ_3		-101	-101	-99	-116	-117	-126	-114	-128
τ_4		-171	-173	-174	-175	-175	-179	-176	174
τ_5		-85	-95	-92	-87	-87	-82	-90	-76
τ_6		120	115	116	119	119	122	116	123
τ_7		-73	125	126					
τ_8			143						
relative Energie	2.1	6.7	5.4	n. b.	n. b.	5.4	0.4	7.1	23.9

Zur Torsionswinkeldefinition siehe Schema 6, Seite 20

τ_1) 1–2–3–4, τ_2) 2–3–4–5, τ_3) 3–4–5–6, τ_4) 4–5–6–7, τ_5) 5–6–7–8, τ_6) 6–7–8–9, τ_7) 5–4–10–11, τ_8) 6–7–12–13

n. b. = nicht berechnet

6b ist Konformation von U-50488 nach⁸¹

4.5 Vergleich des hier erstellten Modells mit Modellen aus der Literatur

*Froimowitz et al.*⁸¹ entwickelte ein Struktur-Wirkungsmodell basierend auf Kraftfeld-Rechnungen (MM2) und NMR-spektroskopischen Untersuchungen an U-50488. Er führte ebenfalls umfangreiche Konformationsanalysen durch und superpositionierte die energetisch günstigen Konformationen mit KCZ. Das hier vorgestellte Pharmakophormodell wurde unabhängig von den bekannten Modellen erstellt. Es unterscheidet sich zu denen von *Froimowitz* und *Ijzermann* durch eine größere Allgemeingültigkeit, da außer den bekannten Arylacetamiden und KCZ eine neue Substanzklasse, die Bicyclononanone sowie das EMD-61753 in das Modell mit einbezogen wurde. Weiterhin wird die Güte des Modells durch Verwendung von mindestens fünf Fitpunkten (im Falle eines Aromaten) unterstrichen.

Die von *Froimowitz* erhaltenen Konformationen bzw. Torsionswinkel sind denen im Rahmen dieser Arbeit berechneten Konformationen sehr ähnlich (siehe Tabelle 13, Verbindung 6b). Darüber hinausgehend besitzen die von uns ermittelten Konformationen gegenüber den Daten von *Froimowitz* größere Ähnlichkeiten zu KCZ (durch Invertierung des Stickstoffatoms) und einer Reihe anderer κ -selektiver Opioide.

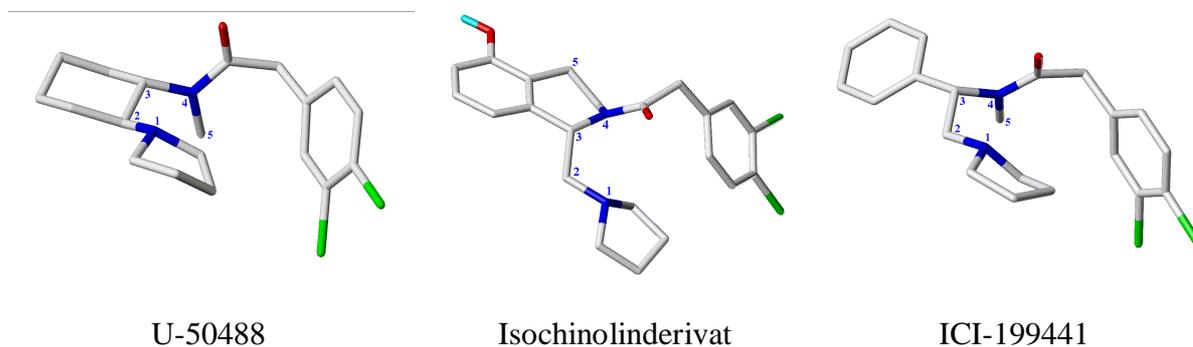
Ijzerman entwickelte für U-50488, ICI-199411 und andere Arylacetamide⁸² jeweils eine pharmakophore Struktur mit Hilfe von semiempirischen PM3-Berechnungen. Dabei werden allerdings nur zwei Torsionswinkel, welche die Rotation des Pyrrolidinringes beschreiben, variiert. In Tabelle 14 sind diese Torsionswinkel der von *Ijzerman* ermittelten pharmakophoren Konformationen (in Klammern) sowie der in dieser Arbeit erstellten Konformationen aufgeführt. Auch hier zeigt sich eine gute Übereinstimmung der Torsionswinkel.

Somit konnte das erweiterte Pharmakophormodell durch den Vergleich mit den Literaturdaten validiert werden.

Tabelle 14: Vergleich der Torsionswinkel der hier vorgeschlagenen pharmakophoren Konformationen einiger Moleküle mit einem Modell von *Ijzerman*⁸² (in Klammern).

Struktur	τ_1 (in °)	τ_2 (in °)
U-50488 (Modell)	58 (55)	70 (91)
Isochinolinder. (Modell)	47 (67)	98 (99)
ICI-199441 (Modell)	56 (62)	82 (89)

Schema zur Torsionswinkeldefinition: $\tau_1 = 1-2-3-4$, $\tau_2 = 2-3-4-5$



4.6 Struktur- Wirkungsbeziehungen bei Bicyclononanonen

Bei den Konformationsuntersuchungen an verschiedenen Bicyclononanonen wurde bisher noch nicht auf die Frage eingegangen, warum die pyridylsubstituierten Bicyclononanone **1** und **2** eine hohe κ -Affinität und Selektivität aufweisen, aber die phenylsubstituierten Verbindungen **3** und **7** sowie die Oxaaza-analoge Verbindung **6** nur eine schwache oder keine Affinität zum Rezeptor besitzen.

Diese experimentellen Ergebnisse sollen mit Hilfe des Pharmakophormodells erklärt werden. Aufbauend auf den pharmakologischen Erkenntnissen wurden die Reaktions- und Protonierungsenthalpien verschiedener Bicyclononanone verglichen, um somit Ursachen für die Affinitätsunterschiede zu finden.

Wie bereits beschrieben, ist die Voraussetzung für eine κ -Affinität der Bicyclononanone die Fähigkeit, eine SW-Konformation im Ringgerüst einzunehmen sowie die Protonierung an N7. Die Reaktionsenthalpien für eine N7-Protonierung in einer SW-Konformation entsprechen -897.0 kJ/mol für Verbindung **1** und -904.6 kJ/mol für Verbindung **2**. Im Fall der Verbindungen **3** und **6** sind die Protonierungsenthalpien dagegen kleiner (-844.3 kJ/mol bzw. -859.0 kJ/mol). Dies bedeutet, daß für **3** und **6** eine N7-Protonierung unter physiologischem pH unwahrscheinlich bzw. nur zu einem sehr geringen Prozentsatz möglich ist. Da aber – wie oben beschrieben – diese Protonierung für die Bindung an den Rezeptor wichtig ist, erklärt sich, daß diese beiden Derivate eine relativ geringe κ -Affinität besitzen. Weiterhin ist für die Verbindung **3** eine SW-Konformation in N7-protonierter Form im Vergleich zur stabilsten SS-Konformation um rund 60 kJ/mol ungünstiger. Die größere Energiedifferenz bei **3** läßt sich mit repulsiven Wechselwirkungen zwischen den ortho-Wasserstoffatomen der Benzenringe und den C6/C8-Wasserstoffatomen in der SW-Konformation erklären (Abbildung 23).

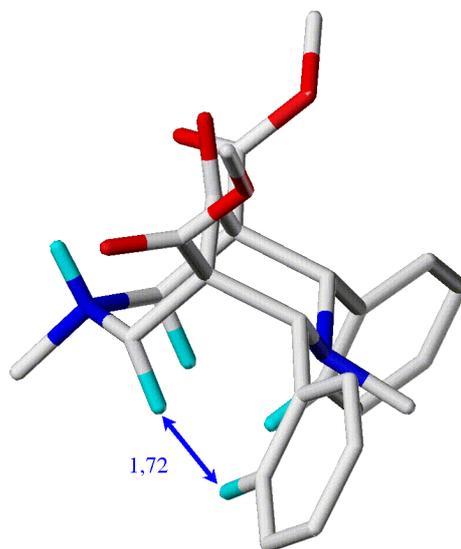


Abbildung 23: Darstellung der repulsiven Wechselwirkungen bei Verbindung **3**.

Es wird hier nur ein Abstand von $1,72$ Å zwischen dem Wasserstoffatom des Phenylrings und den C6/C8-Wasserstoffatomen des Grundgerüsts gemessen. Analoges wurde auch für das m-chlorphenyl-substituierte Derivat **7** mit einem Abstand von $1,74$ Å erhalten. Die abstoßenden

Wechselwirkungen treten in den pyridylsubstituierten Verbindungen **1** und **2** nicht auf. Diese Ergebnisse können die gefundene geringere Rezeptoraffinität von **3** gegenüber **1** und **2** erklären.

Das Diazaadamantan-Derivat **5** kommt nur in einer SS-Konformation vor, da es aufgrund seiner rigiden Struktur nicht in der Lage ist, eine SW-Konformation einzunehmen. Die Tatsache, daß **5** inaktiv ist, ist ein wichtiger Hinweis darauf, daß die SW-Konformation in den aktiven Bicyclononanonen für eine Wechselwirkung mit dem κ -Rezeptor notwendig ist.

Die Verbindung **4** besitzt eine geringe Affinität zum κ -Rezeptor, obwohl sie nur eine zusätzliche Cyclopropylmethylengruppe am N7-Stickstoffatom im Vergleich zu **2** aufweist.

Der Austausch der Methylgruppe am Stickstoffatom N7 gegen eine Cyclopropylmethylengruppe (**4**) wie z. B. bei μ -Liganden (Vergleich Morphin mit Naloxon) sollte zu einem Wechsel vom agonistischen zum antagonistischen Verhalten führen. Es konnte jedoch nur ein Verlust der Affinität beobachtet werden, dies wurde auch bereits für andere κ -Liganden berichtet.⁸¹

Die Konformationsanalyse über die bevorzugte Stellung der Cyclopropylmethylengruppe ergab, daß keine Konformation gefunden wurde, bei der diese Gruppe mit der entsprechenden Gruppe im KCZ fittet, wenn alle essentiellen pharmakophoren Strukturelemente fixiert sind. Dies weist auf mögliche Ursachen für die Inaktivität von **4** hin. Die Annahme wird durch ein weiteres Resultat bestätigt. Die Cyclopropylmethylengruppe von **4** nimmt nahezu dieselbe Position wie der Pyrrolidinring in dem inaktiven (R,R) EMD-61753 Enantiomer ein (Abbildung 24, blauer Pfeil). Anhand dieser Analogie kann vermutet werden, daß die Wechselwirkung mit dem Rezeptor aus sterischen Gründen erschwert ist, wenn in Position N7 ein großvolumiger Rest gebunden ist.

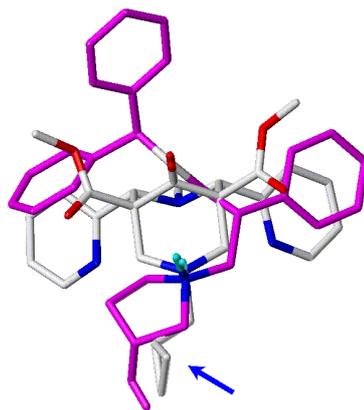


Abbildung 24: Fit von (R,R) EMD-61753 (magenta) und **4**.

Bei Bindungsstudien an der 2-Chinolyl-substituierten Verbindung **14**, über welche bereits in Kapitel 3.5 ausführlich berichtet wurde, konnte eine gute κ -Affinität gefunden werden ($K_i = 0,19$ nM).⁸⁵ Die Verbindung **14** tritt ausschließlich in der *trans*-Konfiguration auf. Vergleicht man dieses Molekül mit dem κ -Pharmakophormodell, so kann eine gute Superposition mit der N-H sowie C=O Gruppe und eines Aromaten erhalten werden (RMS = 0,08 Å). Der *trans*-ständige Aromat der Verbindung **14** befindet sich jedoch nicht in der Position des zweiten Aromaten von **2** oder des Isochinolinderivates. Vergleicht man aber **14** mit dem EMD-61753, so befindet sich der *trans*-ständige Aromat mit dem dritten Aromaten (Ring C) des EMD-61753 in Superposition (RMS = 0,99 Å, Abbildung 25). Dieser Aromat scheint also eine weitere Bindungsstelle für den κ -Rezeptor darzustellen.

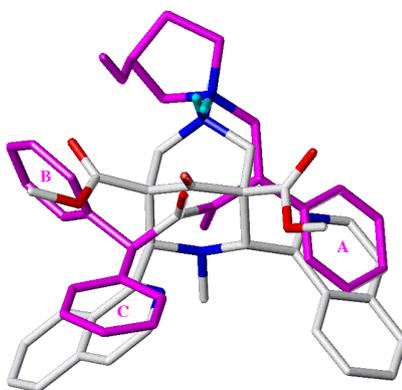


Abbildung 25: Superposition (N-H, C=O, Zentroide beider Aromaten) der *trans*-konfigurierten Verbindung **14** (atomfarben) mit dem EMD-61753 (magenta).

Auf der Suche nach weiteren noch aktiveren Bicyclononanonen wurde in der Arbeitsgruppe von *Holzgrabe*¹⁰⁹ das bereits bekannte aktive Bicyclononanon **2** in Position 7 in der Weise substituiert, daß man die Methylgruppe gegen einen Benzylring austauschte (Abbildung 26).

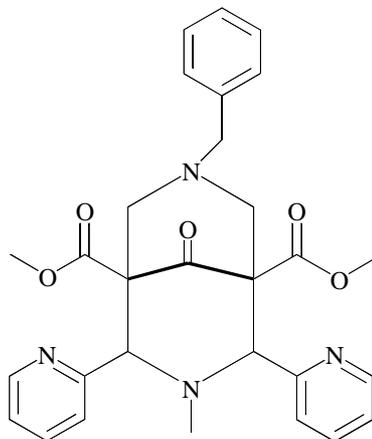


Abbildung 26: Verbindung **8**

Dabei stützte man sich auf das hier vorgestellte κ -Pharmakophormodell, in welchem unter anderem das aktive Opioid EMD-61753 als Vergleichsstruktur verwendet wurde. Diese Verbindung enthält drei Aromaten, jedoch ist aus dem Modell nicht ersichtlich, ob der dritte Aromat als zusätzliche Bindungsstelle bei der Rezeptorbindung fungiert. Aus diesem Grunde war von großem Interesse, welche Auswirkungen die Einführung eines dritten Aromaten in die Verbindung **2** auf die Rezeptoraffinität haben würde.

Parallel zur Synthese wurden PM3-Berechnungen durchgeführt, um eine mögliche pharmakophore Konformation zu ermitteln. Hierbei wurden die verschiedenen Stellungen des Benzylrings mit in die Betrachtungen einbezogen. Die erhaltene SW-Konformation mit Protonierung an N7 konnte dann mit den Strukturen des Pharmakophormodells, insbesondere mit EMD-61753 verglichen werden. Trotz des im Vergleich mit Verbindung **2** geringen Energieunterschiedes, konnten keine zufriedenstellenden Fit-Ergebnisse mit dem EMD-61753 erhalten werden (RMS = 1,25 Å). Die Verbindung **8** fügt sich zwar gut in das Pharmakophormodell ein, jedoch liegt der dritte Aromat (Ring C) des substituierten Bicyclononanons nicht in der Nähe des dritten Phenylrings (Ring C) von EMD-61753, sondern im Bereich des

Pyrrolidinringes. Weiterhin besitzt das Proton am Stickstoff eine entgegengesetzte Lage gegenüber dem entsprechenden Proton des EMD-61753 (Abbildung 27).

Anschließende Bindungsstudien ergaben, daß die Verbindung mit einem zusätzlichen Benzylring an N7 nicht wirksam ist und die Bindungsaffinität gegenüber μ , κ und δ sich nicht verändert hat. Dies bestätigt unsere Ergebnisse, daß der dritte Aromat im Bicyclononanon **8** keine zusätzliche Bindungsstelle darzustellen scheint. Die Unwirksamkeit kann, wie bereits bei Verbindung **4** erörtert, unter anderem auf die andere Lage des Protons an N7, sowie auf das große Volumen des Substituenten zurückgeführt werden.

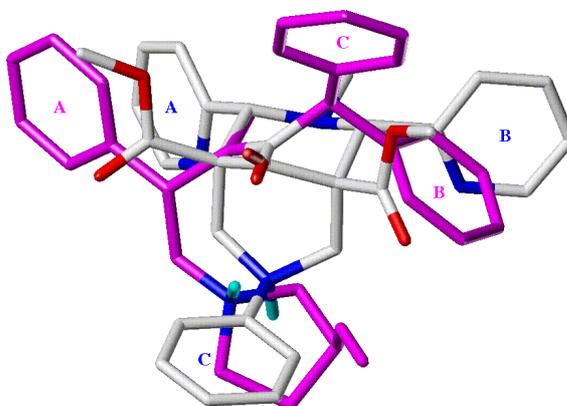


Abbildung 27: Fit (N-H, C=O, Ringe A und B) von EMD-61753 (magenta) und **8**.

Ein Problem, welches es nun noch zu lösen galt, war die eindeutige Belegung der bisher postulierten Annahme, daß die Carbonylfunktion in Position 9 als essentielle Gruppe im Pharmakophormodell fungiert. Die Fitversuche mit einer Reihe von bekannten aktiven κ -Opioiden zeigten, daß bei der Superposition unter Einbeziehung nur eines Aromaten und der Carbonylgruppe des Esters die RMS-Werte wesentlich kleiner waren als mit der Ketogruppe. Da jedoch wenn möglich zwei Aromaten als funktionelle Gruppen in dem Pharmakophormodell betrachtet werden sollten, wurde nochmals eine Superposition mit beiden Aromatenzentren, der N-H Gruppe sowie jeweils mit Carboxylgruppe und Ketogruppe durchgeführt. Hier waren die RMS-Werte mit der Ketogruppe kleiner.

Jedoch kann durch die RMS-Werte nicht eindeutig bewiesen werden, daß die Ketofunktion und nicht eine der Carboxylgruppen für die Bindung an den Rezeptor notwendig ist. Nur

aufgrund der erzeugten elektrostatischen bzw. lipophilen Potentiale wurde eine Entscheidung hinsichtlich der Ketogruppe getroffen (Kapitel 4.4.2). Um diese Annahme zu bestätigen, mußte aus dem Bicyclononanon **1**, welches eine relativ hohe Aktivität besitzt, entweder die Carboxylgruppen entfernt, oder die Ketogruppe in Position 9 substituiert werden. Diese Substitution sollte entscheidenden Einfluß auf die Affinität der Verbindung haben. Da der erste Vorschlag sich aufgrund des schwierigen Syntheseweges vorerst nicht durchführen ließ, wurde die Ketogruppe in Position 9 gegen eine Hydroxylgruppe ausgetauscht (Abbildung 28).

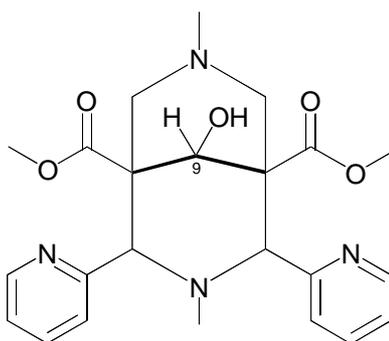


Abbildung 28: Verbindung **9**

Neueste Bindungsstudien (von der Grünenthal GmbH angefertigt) konnten unser postuliertes Modell bestätigen. Wird die Ketogruppe im Bicyclononanon durch eine Hydroxylgruppe modifiziert, so verringert sich die Affinität zum κ -Rezeptor und nimmt hinsichtlich des μ -Rezeptors zu. Das heißt, die Ketogruppe fungiert als essentielle Gruppe bei der Bindung an den κ -Rezeptor. Diese Ergebnisse zeigen außerdem, wie durch geringfügige Veränderungen im Molekül die Affinität zu spezifischen Rezeptorsubtypen beeinflusst werden kann.

Die nächste untersuchte Verbindung ist ein weiteres Beispiel für Umwandlungen von Moleküleigenschaften durch Substitutionen im Molekül.

In die Verbindung **3** wurde jeweils in den Phenylringen in meta-Stellung eine Hydroxylgruppe eingeführt (Abbildung 29).

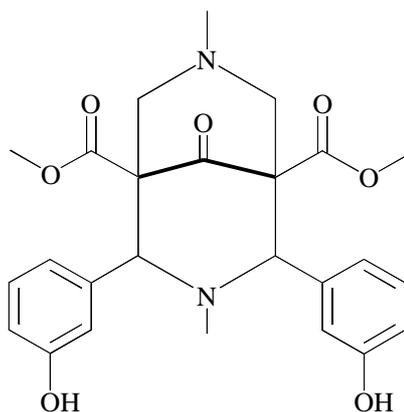


Abbildung 29: Verbindung **10**

Vergleicht man die Protonenaffinitäten der Verbindung **10** mit den anderen Bicyclononanonen (Tabelle 15), so ordnet sich diese Verbindung gleich hinter den sehr aktiven Verbindungen **2** und **1** ein. Dies läßt vermuten, daß **10** eine ähnlich gute Aktivität aufweist.

Tabelle 15: Protonenaffinitäten (mit PM3 berechnet in kJ/mol) für verschiedene Bicyclononanone.

Verbindung	2	1	10	7	3
$\Delta_R H$ (kJ/mol)	-905.9	-894.1	-887.0	-874.4	-845.5

Bindungsstudien ergaben jedoch, daß die m-Hydroxy-substituierte Verbindung ein antagonistisches Verhalten gegenüber den bisher betrachteten agonistischen Bicyclononanonen aufweist. Eine Ursache hierfür kann nur in den neu eingeführten Hydroxylgruppen gesucht werden. Die Hydroxylgruppen können als zusätzliche Bindungspartner fungieren und somit einen Wechsel vom Agonist zum Antagonist hervorrufen. Aus diesem Grunde wurde die Verbindung **10** mit dem bereits bekannten κ -Antagonisten nor-BNI (Schema 4, Seite 9) verglichen. Die Fitpunkte bildeten die Zentroide beider Aromaten sowie die N-H Gruppe. Die Carbonylfunktionen konnten nicht mit einbezogen werden, da im nor-BNI keine vorhanden sind. Es wurde ein sehr guter Fit (RMS-Wert = 0,25 Å) mit nur einem Aromaten und ein guter Fit (RMS-Wert = 1,6 Å) mit beiden Aromaten erhalten. Die Hydroxylgruppen beider

Verbindungen liegen jeweils in derselben Position, welches unsere Annahme, daß die Hydroxylgruppe eine zusätzliche Bindungsstelle darstellt, unterstützt.

Weiterhin wurde eine genauere Betrachtung des Einflusses einer Methylgruppe an N3 auf die Aktivität in allen Bicyclononanonen vorgenommen. Ein direkter Vergleich ist bei den Verbindungen **1** und **2** möglich, da sich diese ausschließlich in der Methylierung an N3 unterscheiden. Beide Verbindungen besitzen eine ähnlich hohe Protonenaffinität und ebenso eine sehr hohe κ -Aktivität im Vergleich zu anderen Bicyclononanon-Derivaten. Daraus läßt sich schließen, daß eine Methylierung in Position 3 keinen großen Einfluß auf die Aktivität der Bicyclononanone besitzt.

5 Vorschläge zur Synthese neuer Opioid-Liganden

5.1 Vergleich der pharmakophoren Konformation von κ -selektiven mit μ - und δ -selektiven Opioiden

Bereits in der Einleitung wurde ausführlich über die Liganden der verschiedenen Opioidrezeptor-Subtypen berichtet. Mit den seit mehreren Jahren durchgeführten Molecular Modelling Untersuchungen in der Arbeitsgruppe von *Brandt* wurden neben den hier dargestellten Aspekten der pharmakophoren Konformationen κ -selektiver Opioiden auch Pharmakophormodelle für μ - und δ -selektive Opioiden aufgestellt.⁶⁹

Die unterschiedlich wirkenden Opioiden werden nicht nur durch ihre pharmakophoren Gruppen charakterisiert, sondern auch durch deren spezifische Geometrie und Lage zueinander. Da es von großem Interesse ist, die Rezeptorspezifität der Opioidliganden entsprechend spezieller Zielstellungen steuern zu können, wurden die Konformationen der drei Opioidrezeptorklassen miteinander verglichen. Wesentliche pharmakophore Gruppen für alle drei Rezeptortypen sind aromatische Ringsysteme und ein protoniertes Stickstoffatom.

Die in Tabelle 16 aufgeführten durchschnittlichen Abstände zwischen den funktionellen Gruppen sind wesentliche Merkmale zur Charakterisierung der pharmakophoren Konformationen von μ -, δ - und κ -selektiven Opioiden.

Tabelle 16: Vergleich von charakteristischen Abständen (in Å) bei μ -, δ - und κ -Opioiden

	μ	δ	κ
d₁	5,2	5,2	5,0
d₂	7,3	6,5	5,0
d₃	11,0	5,1	8,0

d₁ = Abstand des protonierten Stickstoffatoms zum Aromat 1

d₂ = Abstand des protonierten Stickstoffatoms zum Aromat 2

d₃ = Abstand zwischen den Zentroiden von zwei aromatischen Ringsystemen

Betrachtet man peptidische Opioide (β -Casomorphine, Enkephaline usw.), so findet man sowohl bei den μ - als auch δ -pharmakophoren Konformationen einen Abstand zwischen dem Stickstoffatom und dem Zentroiden eines Aromaten von rund 5,2 Å. Auch bei allen betrachteten κ -selektiven Verbindungen herrschen ähnliche Verhältnisse. Signifikant größer (6 Å) ist dieser Abstand jedoch bei Fentanylen und vergleichbaren Verbindungen, welche in einer anderen Orientierung mit dem μ -Opioidrezeptor in Wechselwirkung treten.⁶⁹

Unterschiede zwischen den verschiedenen Rezeptorliganden werden deutlich, wenn man die Abstände des Stickstoffatoms zum Zentroiden eines zweiten Aromaten vergleicht. Dieser ist in μ -pharmakophoren Konformationen mit rund 7,3 Å am größten. Etwas kleiner ist dieser Abstand bei δ -Liganden (6,5 Å). Wenn bei κ -selektiven Verbindungen ein zweiter Aromat vorhanden ist, so befindet sich dieser nahezu im gleichen Abstand (5 Å) zum Stickstoffatom, wie der erste Aromat. Dieser Abstand ist bei κ -Liganden gegenüber den Abständen bei μ - und δ -Liganden am kleinsten. Im Falle der Bicyclononanone sind diese Abstände aufgrund der Symmetrie der Moleküle exakt gleich.

Am signifikantesten unterscheiden sich die Abstände zwischen den Zentroiden der zwei Aromaten. Mit rund 11 Å weisen die Zentroide der Aromaten in μ -pharmakophoren Konformationen etwa den doppelten Abstand zueinander auf wie in δ -affinen Strukturen (5,1 Å). Bei κ -selektiven Verbindungen mit zwei aromatischen Ringsystemen findet man zwischen diesen einen mittleren Abstand von 7 Å bis 8 Å.

Aus diesen Vergleichen kann geschlußfolgert werden, daß es, neben der Berücksichtigung der anderen pharmakophoren Elemente in den Opioiden, durch Fixierung der Distanzen zwischen zwei Aromaten möglich sein sollte, die Opioidrezeptor-Selektivität zu steuern.

5.2 Vorschläge zur Synthese neuer κ - und δ -selektiver Liganden

Im vorangegangenen Abschnitt wurden die Merkmale der verschiedenen Opioidklassen miteinander verglichen. Um nun diese Erkenntnisse in Synthesevorschläge umwandeln zu können, wurde das bisher aktivste bekannte Diazabicyclononanon **2** mit tHpp-JOM-13, einem von Mosberg *et al.*^{110,111} entwickelten δ -selektiven, rigidisierten Opioidpeptid, verglichen.

Der Fit der wahrscheinlichen pharmakophoren Konformation von **2** (SW, N7 protoniert) mit tHpp-JOM-13 ergab eine gute Übereinstimmung der N-H Gruppen. Die Aromaten der beiden Verbindungen haben zwar jeweils unterschiedliche Abstände zueinander, befinden sich aber in ähnlichen Regionen.

δ -pharmakophore Verbindungen besitzen als funktionelle Gruppe außer den Aromaten und des protonierten Stickstoffatoms, eine negativ geladene Seitenkette. Ist diese Ladung nicht vorhanden, so erhöht sich die μ -Affinität der Verbindung. Um nun die κ -Affinität von Opioiden spezifisch in Richtung δ -Selektivität zu verändern, muß ein negativ geladener Substituent in das Molekül eingeführt werden.

Mit einer Substitution der N3-Methylgruppe im Bicyclononanon durch eine langkettige Aminosäure sollte es gelingen, in den Bereich der funktionellen Carboxylgruppe des tHpp-Jom-13 zu gelangen, und damit die Voraussetzung für eine δ -pharmakophore Struktur zu erfüllen.

Als erstes wurde die Glutaminsäure als Substituent getestet. Um eine energetisch günstige Konformation des Substituenten zu finden, wurde eine systematische Rotation um die fünf Bindungen der Glutaminsäure durchgeführt. Jedoch erwies sich dieser Substituent nicht als ideal, da die Kette zu kurz ist, um in den Bereich der Carboxylgruppe des δ -Liganden zu ragen. Außerdem drehte sich die Kette bei der Minimierung des Moleküls zum protonierten Stickstoffatom in Position 7. Ein weiterer Nachteil dieser Aminosäure ist die zweite

Carboxylgruppe, welche sich negativ bei der Substitution an N3 durch enge Nachbarschaft zu den Aromaten auswirkt.

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde nun Capronsäure als Substituent verwendet. Wie in Abbildung 30 gezeigt und durch Moleküldynamiksimulationen bestätigt, kann in diesem Fall die Carboxylgruppe der Capronsäure eine ähnliche räumliche Position wie die C-terminale Carboxylgruppe im tHpp-JOM-13 einnehmen. Ähnliches gilt auch für Valeriansäure als Substituent.

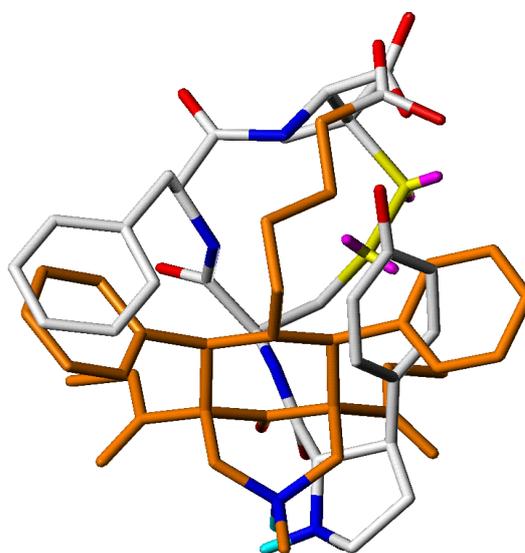


Abbildung 30: Vergleich von tHpp-JOM-13 (atomfarben) mit an N3 Capronsäure-substituierter Verbindung **2** (orange).

Es wäre nun zu untersuchen, inwieweit ein Austausch der Pyridinringe gegen Phenylringe oder eine unsymmetrische Substituierung der C2/4 Position die δ -Affinität der Verbindungen noch erhöhen kann.

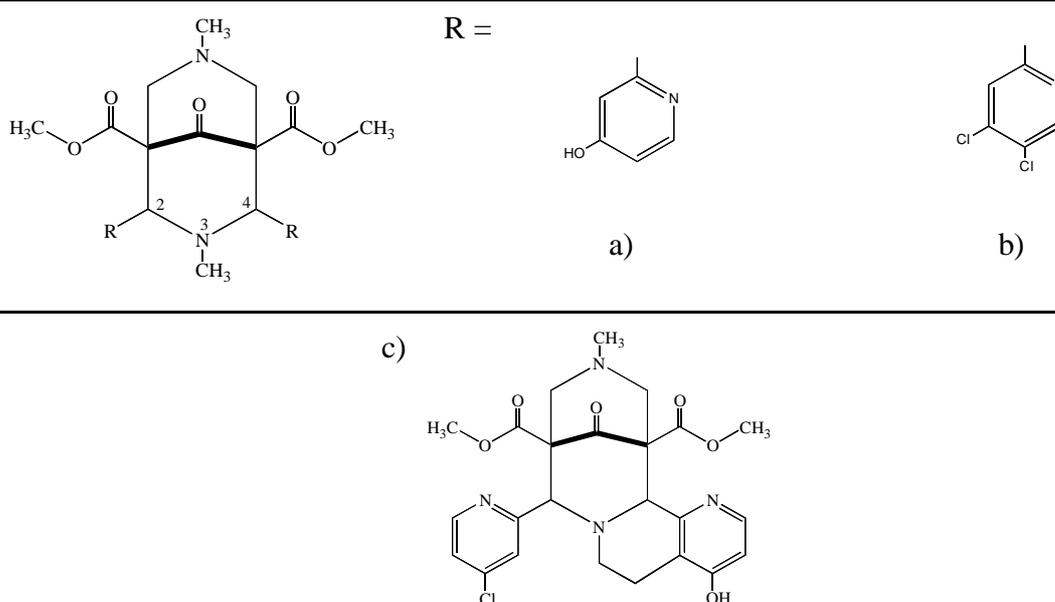
Eine weitere Möglichkeit, hochpotente Opioid-Liganden mit einem möglichst geringen Nebenwirkungsspektrum zu generieren, ist die Optimierung bereits bekannter sehr aktiver κ -Liganden, wie z. B. das Diazabicyclononanon **2**. Aufgrund des Pharmakophormodells wurde eine Reihe interessanter Merkmale κ -selektiver Liganden ermittelt. Vergleicht man die Verbindung **2** mit dem Isochinolin-Derivat oder mit U-50488, so ist die Einführung eines oder

mehrerer Chloratome oder einer Hydroxylgruppe (Abbildung 31a und b) als Substituent an den Aromaten ein Mittel, die Spezifität des Liganden zu erhöhen.

Betrachtet man diesen Vergleich noch einmal eingehender, so erscheint eine unsymmetrische Substitution in Position C2/4 eine Möglichkeit zu sein, das Bicyclononanon noch spezifischer für den κ -Rezeptor zu gestalten. Es müßte also an einem Aromaten ein Chloratom und am anderen Aromaten eine Hydroxylgruppe eingeführt werden (Abbildung 31a und b). Ein Problem bei diesem Vorschlag ist jedoch die äußerst komplizierte Synthese. Auf dem bisherigen Syntheseweg⁹¹ wäre die Darstellung nicht mehr möglich, es müßte also ein völlig neuer Weg beschritten werden.

Je flexibler ein Molekül gebaut ist, desto einfacher kann es sich in die Bindungstaschen ähnlicher Rezeptorsubtypen einpassen. Dieser Effekt erniedrigt jedoch die Rezeptorspezifität, welche für ein geringes Nebenwirkungsspektrum unerlässlich ist. Um die Flexibilität zu erniedrigen, müßte das Bicyclononanon **2** ähnlich dem Isochinolin-Derivat rigidisiert werden (Abbildung 31c).

Abbildung 31: Vorschläge für verschiedene Substituenten des Bicyclononanons **2**.



Der Vergleich des EMD-61753 mit dem 2-Chinoly-substituierten Bicyclononanon **14** ergab eine gute Übereinstimmung der funktionellen Gruppen (siehe Seite 82). Jedoch wird der Bereich des zweiten Aromaten (Abbildung 25, Ring B) als funktionelle Gruppe des Pharmakophormodells von der 2-Chinoly-Verbindung nicht eingenommen. Würde man die Verbindung in der Position C2 durch eine Methylphenyl-Gruppe substituieren, befindet sich dieser zusätzliche dritte Aromat im Bereich des zweiten Aromaten (Ring B) vom Isochinolinderivat bzw. EMD-61753 und **2** (Abbildung 32). Es wäre dann zu prüfen, ob diese zusätzliche Bindungsstelle eine Affinitätssteigerung des Bicyclononanons bewirkt.

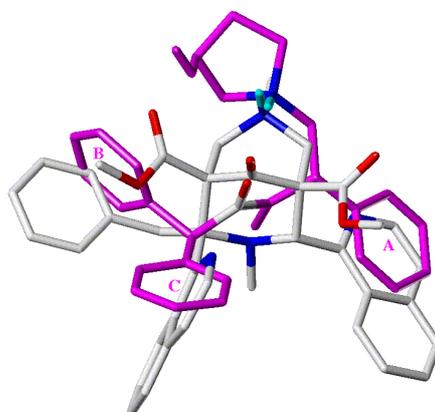


Abbildung 32: Superposition von (S,S) EMD-61753 (magenta) und der an C2 methylenphenyl-substituierten Verbindung **14** (atomfarben).

Ziel der spezifischen Veränderung bereits bekannter κ -affiner Substanzen ist unter anderem die Erhöhung der Protonenaffinität dieser Moleküle und damit die Verbesserung der Affinität und die Erhöhung der Wirkdauer solcher Substanzen.

Experimentelle Untersuchungen verschieden substituierter Bicyclononanone ergaben, daß das pyridin-substituierte Derivat die höchste Affinität zum κ -Rezeptor aufweist. Die Pyridinringe haben also einen entscheidenden Einfluß auf die Rezeptoraffinität des Moleküls. Weiterhin wurde durch pK_a -Messungen an den Verbindungen **1** und **2** festgestellt, daß neben einer Protonierung an N3 und N7 auch eine Protonierung der Pyridinringe möglich ist. Die

Protonenaffinität des Bicyclononanons sollte also durch Einführung von stickstoffhaltigen Substituenten mit einem niedrigeren pK_a -Wert als dem von Pyridin erhöht werden können.

Von diesen Erkenntnissen ausgehend wurden die Protonenaffinitäten verschiedener Stickstoffheterozyklen ermittelt, und die Wechselwirkungsenergien (WW-Energie) mit einem Essigsäureanion (fungiert hier als Modell für geladene Aminosäure im Rezeptor) berechnet, wobei das Bicyclononanon jeweils an N7 und an einem substituierten Ringsystem protoniert ist (Zweifachprotonierung) (Tabelle 17). Diese Wechselwirkungsenergien konnten dann mit den experimentellen pK_a -Werten der Heterozyklen, soweit vorhanden, verglichen werden (Tabelle 17).

Tabelle 17: Wechselwirkungsenergien (kJ/mol, PM3-Berechnung) und pK_a -Werte¹¹² einiger Stickstoffheterocyclen

Substituent	Pyridin	Pyrazin	Imidazol	Pyrazol	Triazol
WW-Energie	-765,1	-812,4	-364,1	-789,8	-778,9
pK_a	5,25	0,65	6,95	-	-

Demnach sollte ein Imidazol-substituiertes Bicyclononanon eine geringere Protonenaffinität als die Pyridin-substituierte Verbindung **2** besitzen. Die höchste Wechselwirkungsenergie weist die Pyrazin-substituierte Verbindung auf (Abbildung 33). Außerdem ist der Pyrazinring ebenfalls wie das Pyridin aromatisch und damit bleiben die pharmakophoren Eigenschaften bezüglich der zwei aromatischen Ringsysteme des Bicyclononanons erhalten.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Synthese und pharmakologische Testung dieser Pyrazin-substituierten Verbindung dringend empfohlen werden kann.

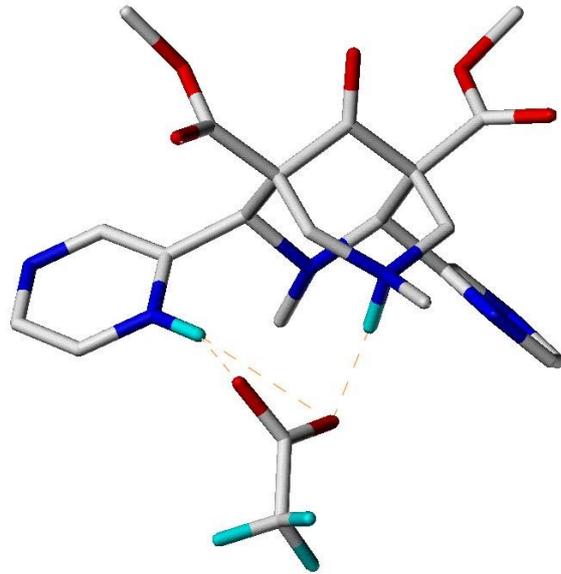


Abbildung 33: Komplex der zweifachprotonierten Pyrazin-substituierten Verbindung **2** mit einem Essigsäureanion; Wasserstoffbrücken sind als gelbe Linien gekennzeichnet.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Auf der Basis pharmakologischer Studien, NMR-Messungen sowie theoretischer Konformationsanalysen konnte ein neues Modell für κ -Opioidliganden vorgeschlagen werden.

Auf der Grundlage von umfangreichen Konformationsanalysen wurden die ermittelten Konformationen bekannter aktiver κ -Opiode mit dem Bicyclononanon **2** verglichen und die essentiellen Eigenschaften für eine κ -Rezeptor-Affinität herausgearbeitet. Das Modell (Abbildung 34) zeichnet sich durch eine große Allgemeingültigkeit aus, da strukturell sehr verschiedene Substanzklassen in die Betrachtungen einbezogen wurden und als Bezugspunkte mindestens fünf Atome (N-H Gruppe, C=O Gruppe und Zentroid eines Aromaten) dienen.¹¹³

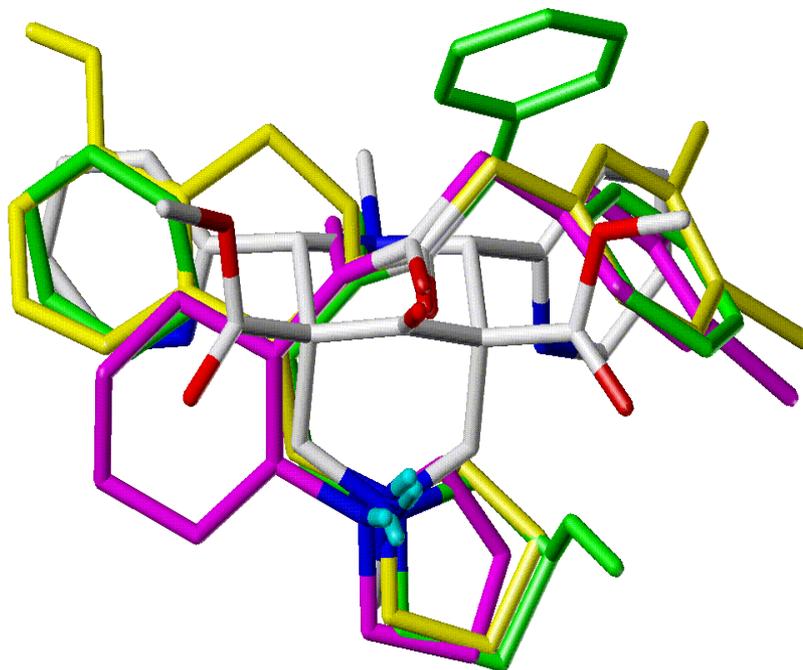


Abbildung 34: Räumliche Überlagerung der Verbindung **2**, EMD-61753 (grün), U-50488 (magenta) und des Isochinolin-Derivates (gelb).

Die hier vorgeschlagene κ -pharmakophore Struktur von Ketocyclazocin unterscheidet sich von der Röntgenstruktur durch die Invertierung des Stickstoffatoms. Dieser Vorschlag könnte die Tatsache erklären, warum KCZ als Agonist mit dem κ -Rezeptor und als Antagonist mit dem μ - oder δ -Rezeptor wechselwirkt.

Anhand des erstellten Pharmakophormodells wurde die pharmakophore Konformation des aktivsten Diazabicyclononanons **2** ermittelt. Sie wird durch eine Sessel/Wanne-Konformation mit protoniertem Stickstoff in Position 7 charakterisiert. Durch das Modell sowie die Berechnung von Oberflächenpotentialen konnte die Ketogruppe in den Bicyclononanonen als essentielle Gruppe ermittelt werden. Nachfolgende Synthesen (Austausch der Ketogruppe gegen eine Hydroxylgruppe) sowie Bindungsstudien konnten diese Annahme bestätigen.

Bei der Strukturanalyse der Diazabicyclononanone konnte weder durch NMR-Messungen noch durch Molecular-Modelling Berechnungen eindeutig geklärt werden, ob die Verbindungen einfach oder zweifach protoniert vorliegen. Jedoch wird angenommen, daß die Verbindungen an N7 protoniert sein müssen, um mit dem Rezeptor wechselwirken zu können. Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Erklärung der durch NMR-Messungen gefundenen *cis/trans* Isomerie bei einigen Bicyclononanon-Derivaten. Die Ergebnisse zeigen, daß eine Isomerisierung auch nach der vollständigen Synthese der Verbindungen stattfindet, d. h. das *cis/trans* Verhältnis wird nicht notwendigerweise durch den Syntheseweg bestimmt. Als Abschluß der Untersuchungen konnte ein Mechanismus für die Isomerisierung postuliert werden.¹¹⁴

Es ist gelungen, die Aktivitätsabstufungen der verschiedenen Bicyclononanon-Derivate aufgrund unterschiedlicher Konformationen und Protonenaffinitäten zu begründen.

Damit war es möglich, Vorschläge für neue hoch affine κ -Liganden zu entwickeln, bzw. die Rezeptorspezifität durch strukturelle Veränderungen in Richtung δ -Rezeptor zu lenken.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- ¹ Schmidbauer, W.; Scheidt, J. v.; *Handbuch der Rauschdrogen; Nymphenburger*; München **1988**
- ² Kurzweil, P.; Pittrow, L.; Vom Schlafmohn zu den synthetischen Opiaten, *Shaker Verlag, Aachen* **1995**
- ³ Sertürner, F. W.; *Trommsdorf's Journal der Pharmazie* XIV 1. Teil 234, 47, **1805**
- ⁴ Freye, E.; Leopold, C.; *DAZ* 131, 1517 und 2605, **1991**
- ⁵ Freye, E.; *Opioide in der Medizin*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg **1991**
- ⁶ Simon, E.J.; Hiller, J.M.; Edelman, I.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70, 1947, **1973**
- ⁷ Pert, C.B.; Snyder, S.H.; *Science* 179, 1011, **1973**
- ⁸ Terenius, L.; *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)* 32, 317, **1973**
- ⁹ Gilbert, P.E.; Martin, W.R.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 198, 66, **1976**
- ¹⁰ Martin, W.R.; Eades, C.G.; Thompson, J.A.; Huppler, R.E.; Gilbert, P.E.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 197, 517, **1976**
- ¹¹ Lord, J.A.H.; Waterfield, A.A.; Hughes, J.; Kosterlitz, H.W.; *Nature* 267, 495, **1977**
- ¹² Chavkin, C.; Goldstein, A.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 6543, **1981**
- ¹³ Mansour, A.; Khachaturian, H.; Lewis, M.E.; Akil, H.; Watson, S.J.; *Trends Neurosci.* 11, 308, **1988**
- ¹⁴ Di Chiara, G.; Imperato, A.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 244, 1067, **1988**
- ¹⁵ Chneiweiss, H.; Glowinski, J.; Premont, J.; *J. Neurosci.* 8, 3376, **1988**
- ¹⁶ Matsumoto, R.R.; Brinsfield, K.H.; Patrick, R.L.; Walker, J.M.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 246, 196, **1988**
- ¹⁷ Wüster, M.; Schulz, R.; Herz, A.; *Neurosci. Lett.* 15, 193, **1978**
- ¹⁸ Schulz, R.; Wüster, M.; Rubini, P.; Herz, A.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 219, 547, **1981**
- ¹⁹ Su, T.-P.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 223, 284, **1982**
- ²⁰ Grevel, J.; Sadee, W.; *Science* 221, 1198, **1983**
- ²¹ Oka, T.; *Br. J. Pharmacol.* 68, 195, **1980**
- ²² Zagon, I.S.; Goodman, S.R.; McLaughlin, P.J.; *Brain Res.* 482, 297, **1989**
- ²³ Wolozin, B.L.; Pasternak, G.W.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 6181, **1981**
- ²⁴ Nishimura, S.L.; Recht, L.D.; Pasternak, G.W.; *Mol. Pharmacol.* 25, 29, **1984**
- ²⁵ Goodman, R.R.; Pasternak, G.W.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 6667, **1985**
- ²⁶ Pasternak, G.W.; Wood, P.L.; *Life Sci.* 38, 1889, **1986**
- ²⁷ Pleuvry, B.J.; *Brit. J. Anaest.* 66, 370, **1991**
- ²⁸ Suzuki, T.; Funada, M.; Narita, M.; Misawa, M.; Nagase, H.; *Brain Res.* 602, 45, **1993**

- ²⁹ Lahti, R.A.; Mickelson, M.M.; McCall, J.M.; Voightlander, P. v.; *Eur. J. Pharmacol.* 109, 281, **1985**
- ³⁰ Romer, D.; Buscher, H.H.; Hill, R.C.; Maurer, R.; Petcher, T.J.; Welle, H.B.A.; Bakel, C.C.K.; Akkerman, A.M.; *Life Sci.* 27, 971, **1980**
- ³¹ Benyhe, S.; Szucs, M.; Borsodi, A.; Wollemann, M.; *Life Sci.* 51, 1647, **1992**
- ³² Wollemann, M.; Benyhe, S.; Simon, J.; *Life Sci.* 52(7), 599, **1993**
- ³³ Kong, H.; Raynor, K.; Yasuda, K.; Moe, S.T.; Portoghese, P.S.; Bell, G.I.; Reisine, T.; *J. Biol. Chem.* 268, 23055, **1993**
- ³⁴ Fukuda, K.; Terasako, K.; Kato, S.; Mori, K.; *FEBS Lett.* 373, 177, **1995**
- ³⁵ Meng, F.; Hoversten, M.T.; Thompson, R.C.; Taylor, L.; Watson, S.J.; Akil, H.; *J. Biol. Chem.* 270 (21), 12730, **1995**
- ³⁶ Befort, K.; Tabbara, L.; Kling, D.; Maignret, B.; Kieffer, B.L.; *J. Biol. Chem.* 271 (17), 10161, **1996**
- ³⁷ Li, X.; Varga, E.V.; Stropova, D.; Zalewska, T.; Malatynska, E.; Knapp, R.J.; Roeske, W.R.; Yamamura, H.I.; *Eur. J. Pharmacol.* 300, R1-R2, **1996**
- ³⁸ Strader, C.D.; Fong, T.M.; Tota, M.R.; Underwood, D.; Dixon, R.A.F.; *Annu. Rev. Biochem.* 63, 101, **1994**
- ³⁹ Findlay, J.; Eliopoulos, E.; *TIPS* 11, 492, **1990**
- ⁴⁰ Probst, W.C.; Snyder, L.A.; Schuster, D.I.; Brosius, J.; Sealfon, S.C.; *DNA and CELL BIOLOGY* 11 (1), 1, **1992**
- ⁴¹ Trumpp-Kallmeyer, S.; Hoflack, J.; Bruinvels, A.; Hibert, M.; *J. Med. Chem.* 35, 3448, **1992**
- ⁴² Oliveira, L.; Paiva, A.C.M.; Vriend, G.; *J. Comp.-Aided Mol. Design* 7, 649, **1993**
- ⁴³ Hoflack, J.; Hibert, M.F.; Trumpp-Kallmeyer, S.; *Drug Design Disc.* 10, 157, **1993**
- ⁴⁴ Strader, C.D.; Fong, T.M.; Tota, M.R.; Underwood, D.; *Annu. Rev. Biochem.* 63, 101, **1994**
- ⁴⁵ Berlose, J.-P.; Convert, O.; Brunissen, A.; Chassaing, G.; Lavielle, S.; *Eur. J. Biochem.* 225, 827, **1994**
- ⁴⁶ Hibert, M.; Hoflack, J.; Trumpp-Kallmeyer, S.; Paquet, J-L.; Leppik, R.; Barberis, C.; Barberis, M.B.; Chini, B.; Jard, S.; *Eur. J. Med. Chem.* 30, 189, **1995**
- ⁴⁷ Knapp, R.J.; Malatynska, E.; Collins, N.; Fang, L.; Wang, J.Y.; Hrubby, V.J.; Roeske W.R.; Yamamura, H.I.; *FASEB J.* 9, 516, **1995**
- ⁴⁸ Alkorta, I.; Loew, G.H.; *Protein Eng.* 9 (7), 573, **1996**
- ⁴⁹ Zaki, P.A.; Bilsky, E.J.; Vanderah, T.W.; Lai, J.; Evans, C.J.; Porreca, F.; *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 36, 379, **1996**
- ⁵⁰ Oliveira, L.; Paiva, A.C.M.; Sander, C.; Vriend, G.; *7TM*, Volume 2, **1994**
- ⁵¹ Holzgrabe, U.; Nachtsheim, C.; Siener, T.; Drosihn, S.; Brandt, W.; Review, *Pharmazie* 52(1), 4, **1997**

- ⁵² Meunier, J.C.; Mollereau, C.; Tool, L.; Suaudeau, C.; Moisand, C.; Alvinerie, P. Butour, J.L.; Guillemot, J.C.; Ferrara, P.; Monsarrat, B.; Mazarguil, H.; Vassart, G.; Parmentier, M.; Costentin, J.; *Nature* 377, 532, **1995**
- ⁵³ Zadina, J.E.; Hackler, L.; Ge, L.J.; Kastin, A.J.; *Nature* 386, 499, **1997**
- ⁵⁴ Corbett, A.D.; Paterson, S.J.; Kosterlitz, H.W.; in: Herz, A. (Ed.), Opioids I, 645, *Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York*, **1993**
- ⁵⁵ Calderon, S.N.; Rothman, R.B.; Porreca, F.; Flippen-Anderson, J.L.; McNutt, R.W.; Xu, H.; Smith, L.E.; Bilsky, E.J.; Davis, P.; Rice, K.C.; *J. Med. Chem.* 37, 2125, **1994**
- ⁵⁶ Comer, S.D.; Mc Nutt, R.W.; Chang, K.-J.; De Costa, B.R.; Mosberg, H.I.; Woods, J.H.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 267 (2), 866, **1993**
- ⁵⁷ Portoghese, P.S.; Sultana, M.; Moe, S.T.; Takemori, A.E.; *J. Med. Chem.* 37, 579, **1994**
- ⁵⁸ Scopes, D.I.C.; *Drug Fut.* 18(10), 933, **1993**
- ⁵⁹ Scopes, D.I.C.; *Exp. Opin. Invest. Drugs* 3(4), 369, **1994**
- ⁶⁰ VonVoigtlander, P.F.; Lahti, R.A.; Ludens, J.H.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 224(1), 7, **1983**
- ⁶¹ VonVoigtlander, P.F.; Lewis, R.A.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 246(1), 259, **1988**
- ⁶² Lahti, R.A.; Mickelson, M.M.; McCall, J.M.; Voigtlander, P. v.; *Eur. J. Pharmacol.* 109, 281, **1985**
- ⁶³ Hunter, J.C.; Leighton, G.E.; Meecham, K.G.; Boyle, S.J.; Horwell, D.C.; Rees, D.C.; Hughes, J.; *Br. J. Pharmacol.* 101, 183, **1990**
- ⁶⁴ Gottschlich, R.; Ackermann, K.A.; Barber, A.; Bartoszyk, G.D.; Greiner, H.E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 4(5), 677, **1994**
- ⁶⁵ Gottschlich, R.; Krug, M.; Barber, A.; Devant, R.M.; *Chirality* 6, 685, **1994**
- ⁶⁶ Urbanczyk-Lipowska, Z.; Etter, M.C.; *J. Mol. Struct.* 159, 287, **1987**
- ⁶⁷ Beckett, A.H.; Casy, A.F.; *J. Pharm. Pharmacol.* 6, 986, **1954**
- ⁶⁸ Kamei, J.; Iwamoto, Y.; Kawashima, N.; Suzuki, T.; Nagase, H.; Misawa, M.; Kasuya, Y.; *Neurosci. Lett.* 149, 169, **1993**
- ⁶⁹ Brandt, W.; Habilitationsschrift, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät (mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich), *Logos-Verlag, Berlin* **1997**
- ⁷⁰ Kong, H.; Raynor, K.; Yano, H.; Takeda, J.; Bell, C.I.; Reisine T.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 8042, **1994**
- ⁷¹ Portoghese, P.S.; *J. Med. Chem.* 8, 609, **1965**
- ⁷² Portoghese, P.S.; *J. Pharm. Sci.* 55, 865, **1966**
- ⁷³ Brandt, W.; Mrestani-Klaus, C.; Schinke, H.; Neubert, K.; Barth, A.; Höltje, H.-D.; Schmidt, R.; Schiller, P. W.; *Quant. Struct.-Act. Relat.* 5, 417, **1995**
- ⁷⁴ Brandt, W.; Barth, A.; Höltje, H.D.; *Drug Des. Discovery* **10**, 257, **1993**
- ⁷⁵ Brandt, W.; Stoldt, M.; Schinke, H.; *J. Comp.-Aided. Mol. Des.* 10, 201, **1996**
- ⁷⁶ Schwyzer, R.; *Biochemistry* 25, 6335, **1986**

- ⁷⁷ Higginbottom, M.; Nolan, W.; O'Toole, J.; Ratcliffe, G.S.; Rees, D.C.; Roberts, E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 3(5), 841, **1993**
- ⁷⁸ Halfpenny, P.R.; Hill, R.G.; Horwell, D.C.; Hughes, J.; Hunter, J.C.; Johnson, S.; Rees, D.C.; *J. Med. Chem.* 32, 1620-, **1989**
- ⁷⁹ Rees, D.C.; 10th Camerino-Noordwijkerhout Symposium, Sept. **1995**
- ⁸⁰ Chang, A.-C.; Takemori, A.E.; Ojala, W.H.; Gleason, W.B.; Portoghese, P.S.; *J. Med. Chem.* 37, 4490, **1994**
- ⁸¹ Froimowitz, M.; DiMeglio, C.M.; Makriyannis, A.; *J. Med. Chem.* 35 (17), 3085, **1992**
- ⁸² Ijzermann, A.P.; *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 112, 169, **1993**
- ⁸³ Samhammer, A.; Holzgrabe, U.; Haller, R.; *Arch. Pharm. (Weinheim)* 322, 551, **1989**
- ⁸⁴ Borsodi, A.; Benyhe, S.; Holzgrabe, U.; Marki, A.; Nachtsheim, C.; *Reg. Pep.* 54, 27, **1994**
- ⁸⁵ Haurand, M.; Privatmitteilung, (Grünenthal GmbH, Aachen-Eilendorf, Deutschland), **1995**
- ⁸⁶ Woods, NIH, Privatmitteilung
- ⁸⁷ Kögel, B.; Christoph, T.; Friderichs, E.; Hennies, H.-H.; Matthiesen, T.; Schneider, J.; Holzgrabe, U.; *CNS Drug Reviews* 4(1), 54, **1998**
- ⁸⁸ Holzgrabe, U.; Erciyas, E.; *Arch. Pharm. (Weinheim)* 325, 657, **1992**
- ⁸⁹ Caujolle, R.; Lattes, A.; Jaud, J.; Galy, J.; *Ztschr. Kristallogr.* 166, 81, **1984**
- ⁹⁰ Ashauer-Holzgrabe, U.; Busch, T.; *Z. Naturforsch.* 43b, 873, **1988**
- ⁹¹ Siener, T.; Dissertationsschrift, Rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität Bonn, Mathematisch-Naturwissenschaftliche-Fakultät, Bonn **1997**
- ⁹² Tripos Associates Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO 63144
- ⁹³ Cambridge Structural Database, Union Road 12, Cambridge, CB2 1EZ, UK; <http://www.ccdc.cam.uk/prods/csd.html>
- ⁹⁴ Clark, M.; Cramer III, R.D.; Van Opdenbosch, N.; *J. Comp. Chem.* 10, **1989**
- ⁹⁵ Powell, M.J.D.; *Math. Programming* 21, 241, **1977**
- ⁹⁶ Gasteiger, J.; Marsili, M.; *Tetrahedron* 36, 3219, **1980**
- ⁹⁷ Schmidt, R.; Vogel, D.; Mrestani-Klaus, C.; Brandt, W.; Neubert, K.; Chung, N.N.; Lemieux, C.; Schiller, P.W.; *J. Med. Chem.* 37(8), 1136, **1994**
- ⁹⁸ Stewart, J.J.P.; *J. Comput. Chem.* 10, 209, **1989**
- ⁹⁹ Brandt, W.; Wahab, M.; Schinke, H.; Thondorf, I.; Barth, A.; *J. Mol. Graphics*, 9, 122, **1991**
- ¹⁰⁰ Nyberg, S.C.; *Acta Cryst.* B30, 251, **1974**
- ¹⁰¹ Küppers, H.; Hesse, K.-F.; Ashauer-Holzgrabe, U.; Haller, R.; Boese, R.; *Z. Naturforsch.* 42b, 221, **1987**
- ¹⁰² Smeyers, N.J.; Melendez, F.J.; Smeyers, Y.G.; *J. Comp. Chem.* 19 (14), 1567, **1998**
- ¹⁰³ Aue, D.; Webb, H.; Bowers, M.; *J. Am. Chem. Soc.* 98 (2), 311, **1976**
- ¹⁰⁴ Dewar, D.; *J. Am. Chem. Soc.* 108, 8075, **1986**

- ¹⁰⁵ Chase, M.W.; Davies, C.A.; Downey, J.R.; Frurip, D.R.; Mc Donald, R.A.; Syverud, A.N.; JANAF Thermochemical Tables, Third Edition, *J. Phys. Chem. Ref. Data* 14, Suppl. 1, **1985**
- ¹⁰⁶ Verlinde, C.L.; De Ranter, C.J.; *Acta Cryst.* C39, 1703, **1983**
- ¹⁰⁷ Lavery, R.; Pullman, A.; *Int. J. Quantum Chem.* XX, 49, **1981**
- ¹⁰⁸ Barber, A.; Bartoszyk, G.D.; Bender, H.M.; Gottschlich, R.; Greiner, H.E.; Harting, J.; Mauler, F.; Minck, K.-O.; Murray, R.D.; Simon, M.; Seyfried, C.A.; *Br. J. Pharmacol.* 113, 1317, **1994**
- ¹⁰⁹ Holzgrabe, U.; persönliche Mitteilung
- ¹¹⁰ Mosberg, H.I.; Lomize, A.L.; Wang, C.; Kroona H., Heyl, D.L.; Sobczyk-Kojiro, K.; Ma, W.; Mousigian, C.; Porreca, F.; *J. Med. Chem.* 37, 4371, **1994**
- ¹¹¹ Mosberg, H.I., Omnaas, J.R.; Lomize, A.L.; Wang, C.; Heyl, D.L.; Nordan, I.; Mousigian, C.; Davis, P.; Porreca, F.; *J. Med. Chem.* 37, 4384, **1994**
- ¹¹² CRC Handbook of Chemistry and Physics, ed. D.R. Lide, 76th edition, **1995-96**
- ¹¹³ Brandt, W.; Drosihn, S.; Haurand, M.; Holzgrabe, U.; Nachtsheim, C.; *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 329 (6), 311, **1996**
- ¹¹⁴ Siener, T.; Holzgrabe, U.; Drosihn, S.; Brandt, W.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1827-1834, 1999

8 ANHANG

Tabelle I: ^{13}C -NMR chemische Verschiebung des Oxa-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-1,5-diesters und des korrespondierenden Diazabicyclononanons⁸⁸

X	Aryl	Konformation	C2/4	C1/5	C6/8	C=O (Keto)	C=O (Ester)	O-R	N-R
O	C ₆ H ₅	SS	82.6	62.9	59.2	203.0	167.4	61.6/14.0	44.7
O	C ₆ H ₅	WS	82.8	65.6	65.8	200.6	167.8	60.7/13.2	44.2
O	C ₆ H ₅	SW	82.1	64.3	49.1	202.7	168.1	61.6/14.2	55.2 (adam)
NH	2-pyridyl	SS	66.1	61.2	59.9	204.7	168.9	60.8/13.7	44.5
NCH ₃	2-pyridyl	SS	73.0	61.8	60.1	203.1	167.6	51.9	42.4/43.9
NCH ₃	C ₆ H ₅	SS	72.7	63.1	60.1	204.4	168.2	52.2	43.2/44.4
NCH ₃	C ₆ H ₄ Cl	SS	72.2	63.1	60.0	203.6	168.0	52.4	43.2/44.3

SS=Sessel-Sessel, SW= Sessel-Wanne, WS=Wanne-Sessel(N7)

Tabelle II: ^1H -NMR chemische Verschiebungsdaten der Verbindungen **1-3**⁸⁸

Verb.	Lsgm	H2/4	N3-CH ₃	H6/8	N7-CH ₃	OCH ₃	o-aryl	m-aryl	p-aryl
1	DMSO-d ₆	5.02	4.74 (NH)	2.91/3.31	2.09	3.63	7.55	7.31/8.53	7.82
2	DMSO-d ₆	4.57	1.90	2.45/2.92	2.18	3.66	7.33	7.9	8.42
3	CDCl ₃	4.48	2.36	2.60/3.20	1.86	3.72	8.17/7.1	7.25-7.33; 7.46	

Tabelle III: pK_a-Werte der Verbindungen **1-3** sowie der Vergleichssubstanz Morphin und % ionisierte Substanz bei pH = 7,4⁹¹

Verbindung	Arylrest	N3-	pK _{a1} % ionisiert	pK _{a2} % ionisiert	pK _{a3} % ionisiert	pK _{a4} % ionisiert
Morphin-HCl	-	-	9,65±0,06* 1	8,39±0,07 80	-	-
1	2-Pyridyl-	-H	10,99±0,10 100	8,74±0,28 95	6,14±0,05 5	5,16±0,28 1
2	2-Pyridyl-	-CH ₃	10,90±0,01 100	8,05±0,06 80	3,47±0,07 0	2,03±0,01 0
3	Phenyl-	-CH ₃	8,85±0,22 97	1,45±0,25 0	-	-

* pK_a-Wert der phenolischen Hydroxylgruppe (Säure)

Kraftfeld-Terme des TRIPOS-KraftfeldesGl.1: Term für Bindungslänge

$$V_{\text{Bindungslänge}} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} k_i^d (d_i - d_i^0)^2$$

d_i = Länge der i^{ten} Bindung (Å)

d_i^0 = durchschnittliche Länge für i^{te} Bindung (Å)

k_i^d = Kraftkonstante (kcal/mol Å)

Gl. 2: Term für Bindungswinkel

$$V_{\text{Bindungswinkel}} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} k_i^\Theta (\Theta_i - \Theta_i^0)^2$$

Θ_i = Winkel zwischen zwei benachbarten Bindungen

Θ_i^0 = Durchschnittswert für i^{ten} Winkel

k_i^Θ = Kraftkonstante (kcal/mol Å)

Gl.3: Term für Torsionswinkel

$$V_{\text{Torsionswinkel}} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} V_i^\omega [1 + S_i \cos(|n_i| \cdot \omega_i)]$$

V_i^ω = Torsionsbarriere (kcal/mol)

$S_i = +1$ Minimumenergie bei gestaffelter Anordnung
 - 1 Minimumenergie bei ekliptischer Anordnung

n_i = Periodizität

ω_i = Torsionswinkel

Gl. 4: Term für Planarität (out of plane)

$$V_{\text{out of plane}} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} k_i^{\text{out of plane}} d_i^2$$

d_i = Abstand zwischen dem Atom im Zentrum und der Fläche seines Substituenten (Å)

$k_i^{\text{out of plane}}$ = Kraftkonstante (kcal/mol Å)

Gl. 5: Term für VAN-DER-WAALS Wechselwirkung (Lennard-Jones-Potential)

$$V_{\text{vdWAALS}} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1} E_{ij} \left[\frac{1.0}{a_{ij}^{12}} - \frac{2.0}{a_{ij}^6} \right]$$

E_{ij} = van der Waals Konstante (kcal/mol) = $\sqrt{E_i E_j}$

$$a_{ij} = \frac{r_{ij}}{R_i R_j}$$

r_{ij} = Abstand zwischen Atom i und Atom j (Å)

R_i = van der Waals Radius des i^{ten} Atoms (Å)

Gl. 6: Term für COLOUMB-Potential

$$V_{\text{COLOUMB}} = \frac{1}{\epsilon} \frac{Q_1 Q_2}{r}$$

ϵ = Dielektrizitätskonstante

Q_1, Q_2 = Ladungen der Atome

r = Abstand zwischen den Atomen

Terme für die Berechnung von Oberflächen-Potentialen mit MOLCADGl. 7: Lipophiles Potential:

$$LP_{AC} = \sum_{i=1}^N \frac{f_i}{1+d_i}$$

d_i = Abstand eines bestimmten Punktes im Raum vom Atom i.

Gl. 8: Elektrostatisches Potential:

$$EP(i) = \sum_{j=1}^N \frac{q_j}{r_{ij}}$$

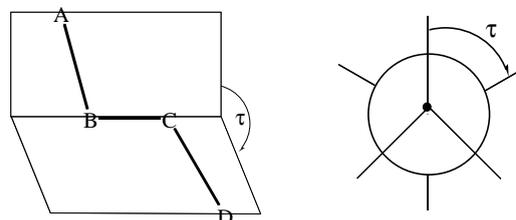
EP (i) = Potential auf der Oberfläche des Punktes i

q_i = Partialladung des Atoms j

r_{ij} = Abstand zwischen Punkt i und Atom j.

Torsionswinkeldefinition:

Eine Drehung des Atoms D um die B-C Achse im Uhrzeigersinn entspricht definitionsgemäß einem positiven Wert von τ .



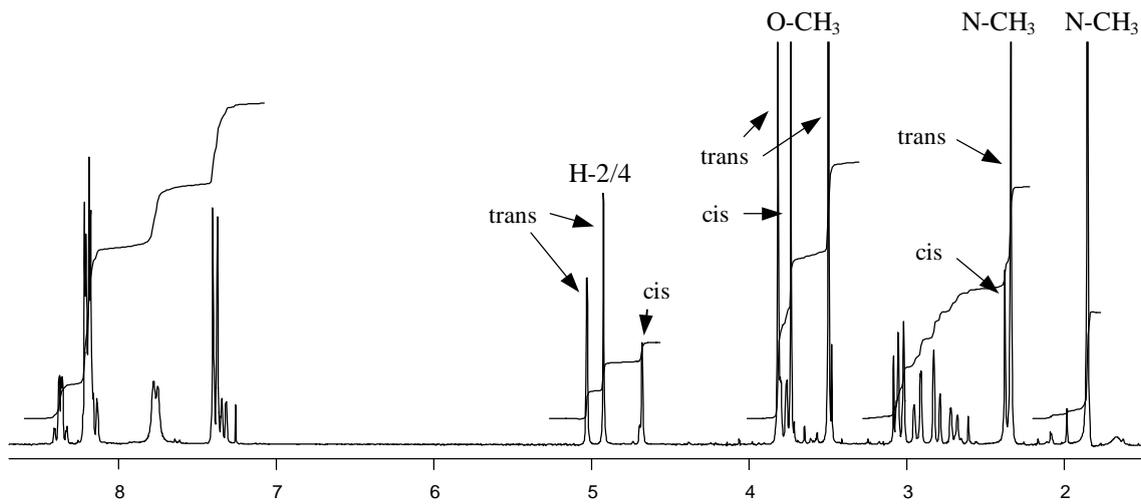


Abbildung I: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum der Verbindung 11¹¹³

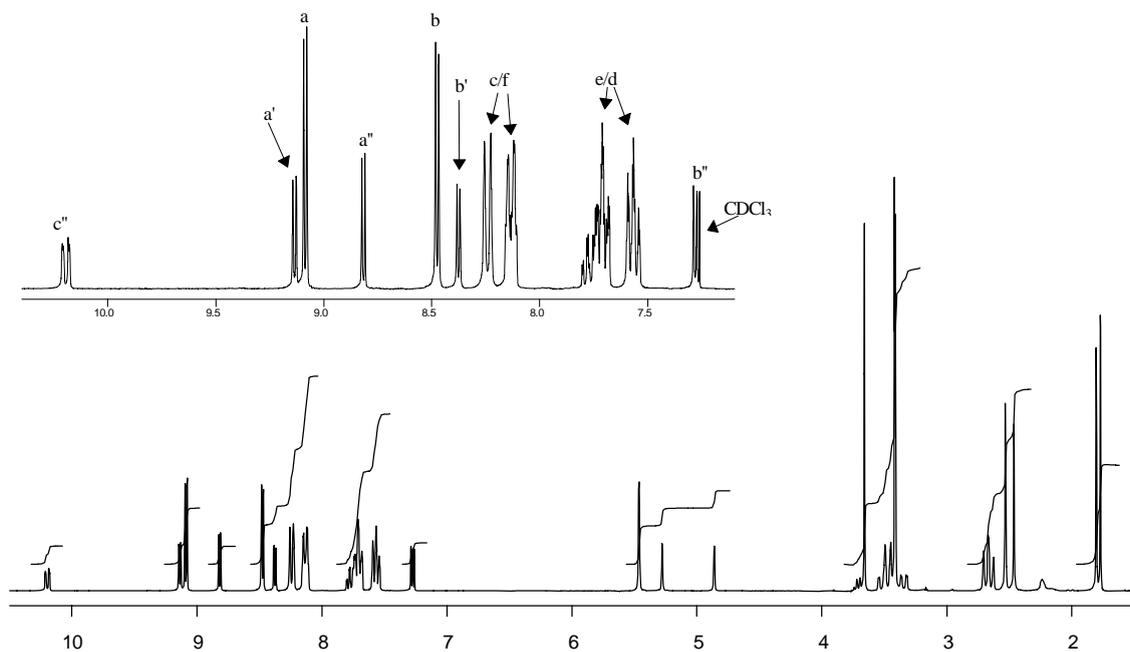


Abbildung II: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum der Verbindung 13¹¹³

Tabelle IV: $^1\text{H-NMR}$ chemische Verschiebungsdaten verschiedener Bicyclononanon-Derivate¹¹³

Verbindung	H2/4	H6/8	-N ³ CH ₃	-N ⁷ CH ₃	-OCH ₃
11 (<i>trans</i>)	4.92/5.03 s s	2.71-2.75/3.14-3.19 m m	1.85 s	2.33 s	3.49/3.81 s s
(<i>cis</i>)	4.68 s	2.69/3.04 d, 12.6/d, 12.6	1.85 s	2.37 s	3.72 s
12 (<i>trans</i>)	4.95/5.05 s s	2.62-3.09 m	1.88 s	2.36/2.43/2.51 s s s	3.51/3.90 s s
(<i>cis</i>)	4.69 s	2.65-2.78/2.99-3.13 m m	1.88 s	2.36/2.43/2.51 s s s	3.72/3.79 s s
13	4.86/5.28/5.47 s s s	2.63-2.71/3.45-3.50 m m	1.77/1.81 s s	2.47/2.54 s s	3.42/3.66 s s
14	5.04/5.33 s s	2.80/3.12/3.17/3.75 d, 12.0/d, 12.0/d, 10.8/d, 10.8	2.12 s	2.29 s	3.49/3.99 s s
15	4.86/5.29/5.47 s s s	2.61-2.68/3.46-3.68 m m	1.80/1.85 s s	2.49/2.55 s s	3.44 s

s = Singulett, d = Dublett, m = Multiplett

Tabelle V: ^{13}C -NMR chemische Verschiebungsdaten verschiedener Bicyclononanone¹¹³

Verbindung	C1/5	C2/4	C6/8	C9	C=O	-OCH ₃	-NCH ₃
11 (<i>trans</i>)	61.52/63.60	68.44/74.14	60.44/66.36	202.03	167.68/168.13	52.42/52.96	40.53/44.13
(<i>cis</i>)	62.73	71.83	59.72	202.34	167.37	52.73	43.31/44.56
12 (<i>trans</i>)	63.64/66.21	68.46/74.24	60.56/61.82	201.99	167.67/168.11	52.44/53.02	40.69/43.32/44.03
(<i>cis</i>)	62.91	71.56/72.03	59.76	202.37	167.47	52.67	43.32/44.15/44.34
13	62.44/64.14	65.72/66.25/76.47	60.53/61.09/61.40	202.17/202.53	167.03/167.34	52.38	43.18/43.90/44.59
14	62.25/62.64	70.52/73.17	61.97/66.22	200.86	169.46	52.30	40.75/44.30
15	62.83/63.28/64.94	66.41/66.90/77.68	60.95/61.40	203.76/204.28	167.85/168.13	52.07	42.66/42.83/43.82/44.59

Tabelle VI: Bildungsenthalpien (PM3, kJ/mol) der Verbindungen **3**, **11-15** in der SW-Konformation für alle Protonierungsstufen in der *cis* und *trans*- Konfiguration

Konformation	<i>cis</i>	<i>trans</i>	C2_deprotoniert
3			
N3+N7 protoniert	1104.2	497.0	254.3
N3 protoniert	150.6	165.5	-375.4
N7 protoniert	154.2	170.1	-203.6
unprotoniert	-503.7	-498.2	610.9
11			
N3+N7 protoniert	1145.5	1173.6	233.8
N3 protoniert	153.3	166.8	-453.8
N7 protoniert	134.1	148.7	-362.8
unprotoniert	-569.0	-562.3	-796.1
12			
N3+N7 protoniert	1120.0	1148.9	217.0
N3 protoniert	138.3	153.3	-100.9
N7 protoniert	111.4	132.4	-301.3
unprotoniert	-570.2	-564.8	-745.4
13			
N3+N7 protoniert	1353.8	1374.7	545.1
N3 protoniert	391.8	401.8	-145.8
N7 protoniert	391.3	396.8	-15.7
unprotoniert	-283.2	-282.0	-406.8
14			
N3+N7 protoniert	1252.0	1284.6	457.5
N3 protoniert	353.6	364.1	-139.9
N7 protoniert	337.7	350.3	-29.7
unprotoniert	-268.2	-273.2	-387.6
15			
N3+N7 protoniert	1245.3	1272.5	-
N3 protoniert	302.9	313.4	-
N7 protoniert	315.1	321.8	-
unprotoniert	-341.9	-340.6	-

Tabelle VII: Bildungsenthalpien (PM3, kJ/mol) der Verbindungen **3**, **11** und **12** in der WS- und WW-Konformation für alle Protonierungsstufen in der *cis* und *trans*-Konfiguration

WW				WS			
Konf.	<i>cis</i>	<i>trans</i>	C2_deprot.	Konf.	<i>cis</i>	<i>trans</i>	C2_deprot.
3				3			
N3+N7 prot.	1152.2	1146.0	261.4	N3+N7 prot.	1164.4	1152.7	241.3
N3 prot.	211.6	179.3	-370.8	N3 prot.	191.5	167.2	-374.2
N7 prot.	206.1	212.8	-233.0	N7 prot.	196.3	192.7	-481.0
unprot.	-455.9	-477.7	-611.7	unprot.	-475.1	-481.4	-602.5
11				11			
N3+N7 prot.	1193.3	1184.5	230.4	N3+N7 prot.	1205.0	1193.7	217.9
N3 prot.	214.1	181.4	-453.8	N3 prot.	185.6	163.8	-460.9
N7 prot.	190.2	189.8	-364.9	N7 prot.	180.2	176.4	-552.2
unprot.	-517.9	-534.6	-799.9	unprot.	-544.78	-552.2	-795.3
12				12			
N3+N7 prot.	1203.8	1141.3	234.6	N3+N7 prot.	1198.7	1177.0	218.7
N3 prot.	207.0	167.6	-431.1	N3 prot.	181.0	155.9	-445.8
N7 prot.	190.2	154.2	-337.7	N7 prot.	181.0	167.6	-550.6
unprot.	-517.9	-544.7	-742.0	unprot.	-537.6	-550.6	-751.3

Tabelle VIII: Konformationen von KCZ mit Torsionswinkeln (in °)
und Energien (TRIPOS-Kraftfeld)

Konf.	Energie in kJ/mol	Φ_1	Φ_2
23	472,5	-172.8	-167.9
16	473,8	-62.0	101.3
4	477,1	-178.7	74.8
28	477,5	-67.9	-147.8
27	487,8	-64.7	-80.8
26	496,1	-91.8	26.3
47	498,3	-141.2	-92.3

Tabelle IX: Konformationen des U-62066 Derivates mit Torsionswinkeln (in °)
und Energien (TRIPOS-Kraftfeld), 18 Konformationen

Konf.	Energie in kJ/mol	Φ_1	Φ_2	Φ_3	Φ_4	Φ_5
29	126,71	67.2	-69.7	-178.0	58.9	61.0
3	128,8	60.7	-68.1	-178.0	60.9	60.5
31	128,8	166.5	-66.6	177.4	81.8	64.6
7	131,44	60.3	112.4	177.9	-65.1	-62.9
24	134,42	60.3	-67.8	-173.3	78.2	-123.3
9	135,17	62.2	117.2	174.8	-76.3	122.3
36	136,55	53.1	-84.2	-178.4	143.5	-77.7
17	136,59	86.5	101.5	-4.6	77.6	-131.4
19	137,05	59.1	-68.4	173.0	-53.5	-50.7
35	137,43	55.9	112.7	179.3	-152.6	73.8
30	137,98	70.5	130.8	-170.7	48.1	46.7
10	140,53	58.0	-68.6	175.6	-160.5	60.8
1	140,91	52.0	95.5	-2.6	76.0	59.9
15	140,95	58.3	-69.0	175.5	-59.6	132.2
37	142,04	62.0	120.5	-176.8	58.3	-131.6
33	142,71	60.9	118.9	-177.5	161.7	-63.2
2	150,09	56.8	101.9	-4.5	-164.9	64.9
4	150,67	58.2	102.3	-2.6	-173.4	-70.9

Tabelle X: Konformationen von U-69593 mit Torsionswinkeln (in °) und Energien (TRIPOS Kraftfeld), 12 Konformationen

Konf.	Energie in kJ/mol	$\Phi 1$	$\Phi 2$	$\Phi 3$	$\Phi 4$	$\Phi 5$
8	112,8	60.2	59.5	-174.1	78.5	54.2
13	112,8	60.2	59.5	-174.1	78.5	-125.6
3	113,3	66.0	-116.7	177.3	-74.8	128.5
4	113,3	66.0	-116.7	177.3	-74.8	-51.4
17	116,1	70.2	-107.1	179.2	-82.1	125.2
10	118,5	58.2	58.0	175.5	-59.6	-46.5
12	119,1	70.2	-104.2	-174.0	53.9	-133.6
2	119,1	70.2	-104.2	-174.0	53.9	46.1
16	121,6	58.9	54.3	-177.5	157.7	113.5
6	121,6	58.9	54.3	-177.5	157.7	-66.3
19	123,9	69.8	-104.7	-175.8	162.7	105.9
18	123,9	69.8	-104.6	-175.9	163.5	-78.9

Tabelle XI: Konformationen vom Tetrahydroisochinolin-Derivat mit Torsionswinkeln (in °) und Energien (TRIPOS-Kraftfeld), 45 Konformationen

Konf.	Energie in kJ/mol	$\Phi 1$	$\Phi 2$	$\Phi 3$	$\Phi 4$	$\Phi 5$
27	15.4262	173.2	-57.6	172.8	-57.1	129.6
34	16.7780	68.3	53.7	-177.2	-73.9	129.9
46	17.0827	178.0	166.0	-2.8	-57.4	139.3
36	17.1658	68.7	53.3	-179.3	-73.4	-51.6
24	17.2730	175.8	66.1	-3.4	-57.5	135.8
42	17.8272	175.8	65.9	-5.3	-58.4	-47.9
41	17.9945	77.0	-74.3	175.5	-71.8	-61.1
28	18.0429	-59.0	165.8	-2.7	-57.4	139.0
50	18.0461	178.3	165.0	-2.8	-57.5	138.6
14	18.5174	173.8	-63.0	-175.8	63.1	-141.5
17	18.6425	173.8	-63.1	-175.6	63.5	41.1
23	18.6645	172.5	-56.7	169.6	-157.0	-117.8
6	19.0280	150.7	51.8	-175.2	176.2	-93.9
22	19.4190	-179.0	167.1	1.2	66.8	-154.8
25	19.5224	-69.6	59.9	-176.9	65.0	-131.5
5	19.5224	60.7	59.9	-176.9	65.0	-131.5

26	19.6099	-69.6	59.8	-176.8	65.4	50.0
9	19.6099	60.7	59.8	-176.8	65.4	49.9
11	19.6778	80.0	-68.8	-175.8	63.0	-138.2
12	19.7881	80.0	-68.7	-175.5	63.4	44.0
44	19.8835	-179.1	161.6	-174.7	59.5	-136.3
38	19.8836	-56.8	161.6	-174.7	59.5	-136.2
18	19.9223	77.7	-70.8	172.5	-162.1	-114.1
39	20.0083	-56.7	161.6	-174.5	60.0	45.8
45	20.0083	-179.1	161.6	-174.5	60.0	45.8
43	20.2004	-179.3	161.8	173.9	-64.6	135.4
19	20.2005	-57.3	161.8	173.9	-64.6	135.3
49	20.4701	-179.4	162.0	175.2	-65.5	-44.8
40	20.4703	-57.4	162.1	175.3	-65.4	-44.7
37	20.6876	-58.3	164.0	-0.4	-68.4	-39.4
32	20.6876	179.0	164.0	-0.4	-68.4	-39.4
10	21.0178	60.6	59.7	-178.8	177.1	101.7
31	21.0986	176.1	-65.2	-6.6	-69.9	-40.8
1	21.8655	-179.2	161.7	178.8	-179.7	-103.1
15	21.8662	-57.0	161.8	178.9	179.9	-102.5
16	21.9065	-57.0	161.7	179.4	178.2	86.4
21	22.2436	82.1	-64.5	-6.4	-68.7	144.2
20	22.3498	82.2	-64.4	-5.9	-70.3	-40.9
8	22.4078	176.2	-65.3	-4.4	164.2	109.7
2	22.5285	81.1	-70.4	-5.4	-112.9	-126.1
3	22.6249	80.6	-70.8	-5.0	-117.6	60.5
48	22.7002	177.7	166.0	0.0	167.1	107.6
33	22.7002	-59.9	166.0	0.0	167.1	107.6
35	22.7415	-59.9	166.0	0.0	167.7	-75.6
4	22.7416	177.7	166.0	0.0	167.6	-74.7

Abkürzungsverzeichnis

AG	Agonist
AT	Antagonist
EKC	Ethylketocyclazocin
G-Protein	Guanin-bindendes Protein
GDP	Guanosindiphosphat
GTP	Guanosintriphosphat
HAMOG	Hallesches Molekül-Grafik-Programm
$\Delta_B H$	Bildungsenthalpie
$\Delta_R H$	Reaktionsenthalpie
IC ₅₀	halbmaximale Hemmkonzentration
KCZ	Ketocyclazocin
K _i	Dissoziationskonstante des Enzym-Inhibitor-Komplexes
PDB	Brookhaven Protein Datenbank
PEOE	partial equilibration of orbital electronegativities
RKS	Röntgenkristallstruktur
RMS	root mean square
SS	Sessel-Sessel
SW	Sessel-Wanne
WS	Wanne-Sessel
WW	Wanne-Wanne

Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Halle (Saale), den 12.11.99

Susanne Drosihn

Lebenslauf

Vor- und Zuname Susanne Drosihn

Anschrift Landrain 147, 06118 Halle

Geburtsdatum 06.08.1970

Geburtsort Köthen

Familienstand ledig

Schulbildung 1977-1987 Polytechnische Oberschule „Amilcar Cabral“ in Halle
1987-1989 Erweiterte Oberschule „Thomas Müntzer“ in Halle

Studium 1989-1994 Chemiestudium an der Martin-Luther-Universität
Halle/Wittenberg
1994-1996 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachbereich
Biochemie der Martin-Luther-Universität in der
Arbeitsgruppe „Molecular Modelling“
seit 1997 wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für
Pflanzenbiochemie Halle, Abteilung Naturstoffchemie

Halle (Saale), den 12.11.99

Susanne Drosihn