

Lactone, 24. Mitt.¹⁾:

"γ-Lactonisierte" Neuroleptika - Synthese, Stereochemie und Affinität am D₂-Rezeptor

Jochen Lehmann^{a)*}, Gert Schulze^{b)} und Anja Radwansky^{a)}

^{a)} Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn, An der Immenburg 4, D-5300 Bonn 1

^{b)} Institut für Neuropsychopharmakologie der Freien Universität Berlin, Ulmenallee 30, D-1000 Berlin 19

Eingegangen am 27. April 1992

"γ-Lactonisierte" Neuroleptika vom Diphenylbutylpiperidin-Typ (**3a,b,d,4a-d**) erhält man durch Addition der Piperidine **15a-d** an die Methylenlactone **8,14a**. **8** ist ringsynthetisch oder - wie auch **14** - aus dem entspr. α-Carboxylacton zugänglich. Aus den ¹H- und ¹³C-NMR-Daten ergibt sich eine equatoriale Stellung der Aminomethylgruppe in allen Derivaten von **3** und **4**. In **4a-d** wird eine bisequatorial-*trans*-ständige Anordnung der Substituenten am Lactonring bevorzugt. Am D₂-Rezeptor des Rattenhirns wurde die ³H-Spiroperidol-Verdrängung durch **3,4** und die "γ-lactonisierten" Butyrophenon-Neuroleptika **1,2a-c** untersucht. Einige Verbindungen zeigen mittlere bis hohe (**3b**) Affinität.

Nach "γ-lactonisierten" Neuroleptika vom Butyrophenon-Typ (**1,2**)¹⁾ wollten wir auch Analoga vom Diphenylbutylpiperidin-Typ (**3,4**) synthetisieren und dann die Affinität aller Strukturtypen **1-4** vergleichend am D₂-Rezeptor untersuchen. **3,4** enthalten die Strukturen von Neuroleptika wie Fluspirilen und Pimozid und darin eingebettet einen Butyrolactonring, der dem Gesamtmolekül pharmakodynamische und pharmakokinetische Besonderheiten verleihen dürfte.

Synthesen

Obwohl z.B. **3a** auch aus **6** durch Umsetzung mit 4-Methylpiperidin und Formaldehyd unter Decarboxylierung zugänglich ist, wählten wir zur Synthese von **3a,b,d** und **4a-d** generell die Methode, die schon bei der Darstellung von **1,2** anderen überlegen war¹⁾, nämlich die Addition der Amine an entsprechende α-Methylenlactone (**15a-d** an **8,14a**). Zu **8** gelangten wir durch Carboxylierung des Lactons **5** und Umformung von **6** durch Mannich-Reaktion, Decarboxylierung und Amineliminierung. Alternativ erhielten wir **8** durch Umsetzung von **7** mit Brommethylacrylester und Zink.

Um **14** zu erhalten, synthetisierten wir zunächst durch Stobbe-Kondensation die Halbestere **9** und reduzierten selektiv die Esterfunktion. Mit Natrium-(diethyldihydroaluminat) wurden hierbei bessere Ausb. erzielt als mit Lithiumborhydrid. Bei der Lactonisierung durch wäßrige Säure entstehen primär **10a,b**, die aber einer H⁺-katalysierten Dop-

Lactones, XXIV: "γ-Lactonized" Neuroleptics - Synthesis, Stereochemistry and Affinity at the D₂ Receptor

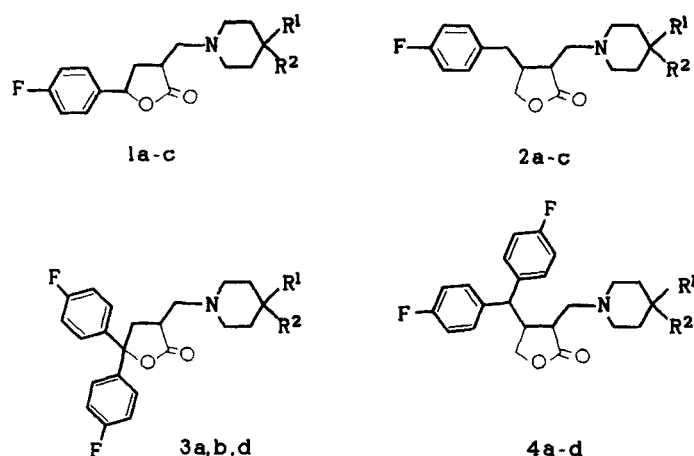
Addition of piperidines **15a-d** to methylene lactones **8,14a** gives the "γ-lactonized" diphenylbutylpiperidine-type neuroleptics **3a,b,d,4a-d**. **8** can be produced by cyclization or - as well as **14** - from the corresponding α-carboxylactone. ¹H- and ¹³C-nmr data give evidence for the equatorial position of the aminomethyl group in all derivatives of **3** and **4** and bisequatorial-*trans*-configuration in **4a-d**. ³H-spiroperidole displacement at the D₂ receptor in rat brain by **3,4** and the "γ-lactonized" butyrophenone neuroleptics **1,2a-c** was investigated. Some compounds show moderate up to high (**3b**) activity.

pelbindungsverschiebung zu **11a,b** unterliegen. So beträgt nach 2 h bei pH1 das Verhältnis **10a** zu **11a** 9:1, nach 7 h 4:6 und nach 18 h 1:9. Ein möglichst geringer Anteil an **11** ist wünschenswert, da bei der nachfolgenden Hydrierung zu **12** ein erheblicher Reaktivitätsunterschied zugunsten von **10** besteht. Die Überführung von **12** in **14** erfolgte wie die von **5** in **8**.

Alternative Wege zur Darstellung von **10a** führten nicht zum Ziel. So gaben Versuche, die exocyclische Carbonylgruppe in β-(4-Fluorbenzoyl)-γ-butyrolacton selektiv mit 4-Fluorphenylmagnesiumbromid oder 4-Fluorphenyllithium in Ether, Ether/Dioxan oder Dioxan umzusetzen und danach durch Dehydratisierung **10a** zu erhalten, schlecht trennbare Gemische. Ebenso wenig gelang die Addition von 4,4'-Difluordiphenylmethan an Crotonlacton unter Tetrabutylammoniumfluorid-Katalyse in Anlehnung an Arbeiten von Tetenbaum²⁾ und Hashimoto³⁾. Crotonlacton polymerisierte dabei und das Methan-Derivat wurde zurückerhalten, genauso wie bei dem Versuch, es in Gegenwart von Butyllithium mit Tetronsäure zu kondensieren.

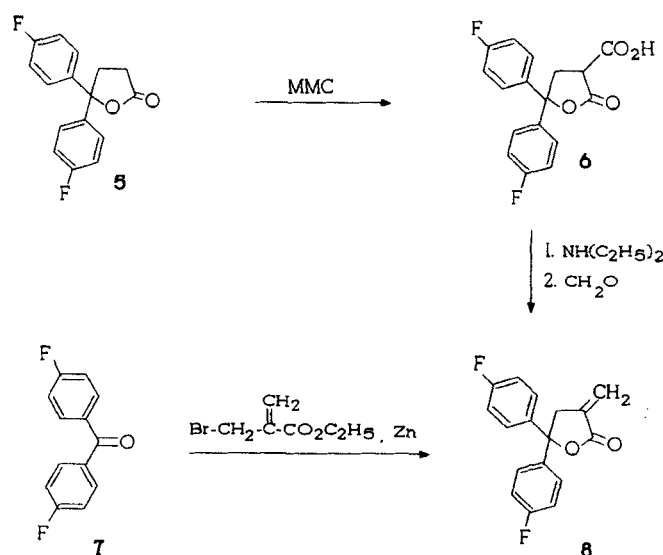
Stereochemie

In den Lactonen **3** und **6** ist der α-ständige Substituent equatorial-ständig. Einheitliche Signalsätze in den NMR-Spektren bestätigen zunächst, daß nur eine Species vorliegt. Für **16** fanden wir im Kristall schon früher die equatoriale Struktur⁴⁾. Die ¹H-NMR-spektroskopische Strukturanalyse in Lösung gelingt am besten bei **6**. Das α-ständige H - leicht identifizierbar durch D₂O-Austausch - koppelt mit den β-H mit J = 8.9 (*cis*) und J = 10.7 Hz (*trans*), was sehr gut den Torsionswinkeln von 35° und 158° entspricht, die



1-4, 15	a	b	c	d
R¹	H	H	OH	
R²	CH ₃			

Schema 1



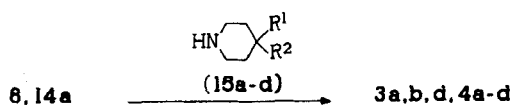
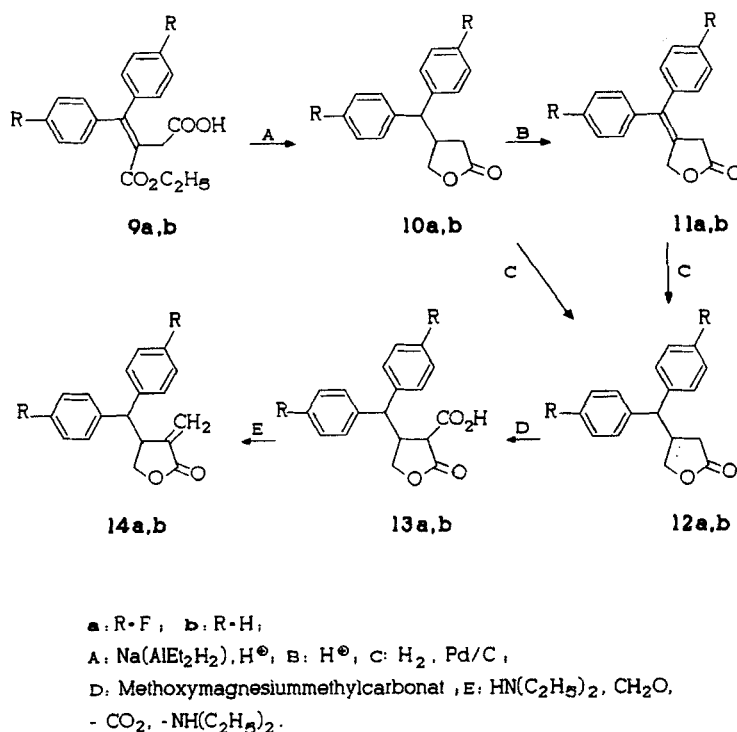
MMC = Methoxymagnesiummethylcarbonat

Schema 2

nach Minimisierung der equatorialen Struktur im Computer (Alchemy, PC-Model) gefunden wurden. Die axiale Verbindung beinhaltet demnach einen Torsionswinkel von ca. 92°; die entspr. kleine Kopplung (0-1 Hz) wird nicht beobachtet.

Von den denkbaren 4 Stereoisomeren der 3,4-disubstituierten Lactone **4** und **13** liegt laut ¹H- und ¹³C-Spektren - im

Gegensatz zur Reihe **2** - jeweils ebenfalls nur eine Species vor, und zwar die *trans*-bisequatoriale Verbindung. Die bei **13a** gefundenen Kopplungen $H^3_{ax}/H^4_{ax} = 8.5$ Hz, $H^4_{ax}/H^5_{eq} = 7.1$ Hz und $H^4_{ax}/H^5_{ax} = 8.3$ Hz stehen im Einklang mit den durch Minimierung gefundenen Torsionswinkeln von 154°; 32° und 155°. In der bisaxialen *trans*- und der 4-ax/3-eq-*cis*-Variante von **13** müßten zwei



Schema 3

bzw. eine Kopplung zwischen 0 und 2 Hz auftreten, bei der ebenso unwahrscheinlichen *cis*-Verbindung mit axialer Carboxylgruppe eine Kopplung > 10 Hz (berechneter Torsionswinkel: 163°).

Die diaxiale Kopplung von H³ und H⁴ hatte bei den *trans*-bisequatorialen Strukturen **2** noch einen Wert von > 10 Hz¹⁾. Rechnerische Minimisierung bestätigt, daß hier aber auch der Torsionswinkel mit 160° entsprechend größer war.

Pharmakologie, Struktur-Wirkungsbeziehungen

Mit den Zielverbindungen **1-4** wurden Bindungsstudien am Dopamin D₂-Rezeptor durchgeführt.

Eine Membranquelle aus dem *corpus striatum* des Rattenhirns diente als Quelle für Dopamin-D₂-Rezeptoren. Als Ligand wurde ³H-markiertes Spiroperidol verwendet. Die konzentrationsabhängige Gesamtbindung wurde im Bereich von 0.1 bis 10 x K_D gemessen.

Die dabei miterfaßte unspezifische nicht-sättigbare Bindung des Liganden wurde bestimmt durch parallele Inkubationsansätze, welche die 10³-fache Konzentration von nichtmarkiertem Haloperidol zur Sättigung der D₂-Rezeptoren und von nicht-markiertem Ketanserin zur Sättigung der 5-HT₂-Rezeptoren enthält. Die spezifische Rezeptorbindung ergab sich als Differenz von Gesamt- und unspezifischer Bindung.

Bei einer ³H-Spiroperidol-Konzentration von etwa K_D wurden die Testsubstanzen im Konzentrationsbereich von 5 x 10⁻⁶ bis 1 x 10⁻⁹ mol/l den Ansätzen zugesetzt und die Verminderungen der spezifischen Bindung bestimmt. Die Affinität der Testsubstanzen wurde mit der Inhibitionskonstante K_i quantifiziert (s. auch Exp. Teil).

Tab. 1: Affinität am D₂-Rezeptor -K_i-Werte der ³H-Spiroperidol-Verdrängung in 10⁻⁹ mol/l.

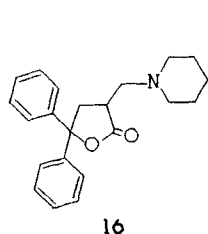
Verb.	1	2	3	4
a	>1000*	313	1100	>1000*
b	536	188	17	>1000*
c	98	104	**	>1000*
d	**	**	2200	966

*) Exakter Wert nicht bestimmt. **) Nicht untersucht.

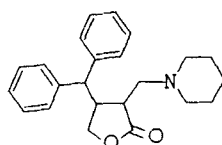
Tab. 1 zeigt, daß der zusätzliche Lactonring die Pharmakodynamik der neuroleptischen Grundstruktur stark selektiviert. Bei gleicher Aminkomponente und variierter Stellung am Lactonring (Reihe **1-4b**) findet man sehr hohe bis sehr geringe Affinität, ebenso im umgekehrten Fall (Reihe **3a,b,d**). Bemerkenswert ist die hohe Affinität von **3b**, des "lactonisierten" Pimocids. **3b** ist nur geringfügig weniger affin als Pimocid selbst, aber affiner als z.B. das chlorierte Pimocid-Analogon Clopimozid oder andere Neuroleptika⁵).

Die Vorstellung, durch konformativ beweglichere Anordnung der aromatischen Ringe die Anpassung und damit die Affinität am Rezeptor steigern zu können, erfüllt sich vielleicht bei Reihe **2** im Vergleich zu **1**, nicht jedoch bei Reihe **4**.

Daß bei den "lactonisierten" Diphenylalkylaminen das 3,4- ungünstiger als das 3,5-Substitutionsmuster ist, gilt offenbar auch für den H₁-Rezeptor. Addition von Piperidin an **14b** (Synthese s. Schema 3) gibt **17**, dessen Affinität am H₁-Rezeptor deutlich geringer als die der schon früher untersuchten Verbindung **16** ist. Darüberhinaus ist **17** mit pA₂ = 4.91 ein ebenfalls recht schwacher M₃-Antagonist.

**16**

¹H-Antagonist, pA₂ = 6.66

**17**

¹H-Antagonist, pA₂ = 4.91

Schema 4

Wir danken Herrn Prof. Dr. Dr. W. Schunack und Frau M. Ewald-Feldt, Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin, für die Prüfung der Affinität am H₁- und M₃-Rezeptor.

Experimenteller Teil

Allgem. Angaben, Geräte, s.¹⁾. Weitere Angaben, insbesondere spektroskopische Daten, s.⁶⁾. - J-Werte in Hz.

Allgemeine Vorschriften zur Darstellung der Lactongemische **10/11**.

a) Zu 0.032 mol **9**^{7,8)} in 500 ml absol. Ether gibt man bei 0°C unter N₂ 28.4 ml (0.064 mol) einer handelsüblichen 25%igen Lösung von Natrium-(diethyldihydroaluminat) in Toluol. Nach 2 h Rühren bei -5 - 0°C wird mit 20 ml Ethanol/Ether 1:1 versetzt, i. Vak. eingedampft, mit 300 ml 2N-HCl aufgenommen, nach 2 h erschöpfend mit Dichlormethan extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet, wieder eingedampft und umkristallisiert.

b) Zu 4.4 g (0.2 mol) LiBH₄ in 100 ml absol. Ether tropft man unter N₂ und Rühren 0.1 mol **9** in 400 ml Ether/THF 3:1, erhitzt 2 h zum Sieden, versetzt nach Erkalten vorsichtig mit 15 ml Ethanol und dampft i. Vak. zur Trockne ein. Lactonisierung mit HCl und Aufarbeitung wie unter a).

4-(Bis-(4-fluorphenyl)methylen)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**10a**) + ca. 10% 4-(Bis-(4-fluorphenyl)methyl-2(5H)-furanon (**11a**)

Nach a) aus Diisopropylether farblose Kristalle, Ausb. 10.6 g (37%), Schmp. 130°C.- C₁₇H₁₂F₂O₂ (287.1) Ber. C 71.1 H 4.21 F 13.2 Gef. 71.1

H 4.31 F 12.9.- IR (KBr): 1775 cm⁻¹.- ¹H-NMR (DMSO-D₆) von **10a**: δ (ppm) = 7.15-7.35 (m, 8H, arom.), 4.92 (s, 2H, 5-H), 3.44 (s, 2H, 3-H).- **11a**: δ (ppm) = 7.19-7.45 (m, 8H, arom.), 5.68 (s, br., 1H, =CH), 5.40 (s, br., 1H, CH), 4.83 (s, br., 2H, CH₂).- Nach b) 6.6 g (23%) identisches Produktgemisch.

4-Diphenylmethylen-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**10b**) + ca. 10% 4-Diphenylmethyl-2(5H)-furanon (**11b**)

Nach a) aus Diisopropylether farblose Kristalle, Ausb. 13.0 g (52%), Schmp. 153°C.- C₁₇H₁₄O₂ (250.3) Ber. C 81.6 H 5.64 Gef. C 81.2 H 5.68.- IR (KBr): 1775 cm⁻¹.- ¹H-NMR (DMSO-D₆) von **10b**: δ (ppm) = 7.10-7.40 (m, 10 H, arom.), 4.92 (s, 2H, 5-H), 3.58 (s, 2H, 3-H).- **11b**: δ (ppm) = 7.10-7.40 (m, 10 H, arom.), 5.67 (s, br., 1H, =CH), 5.34 (s, br., 1H, CH), 4.83 (s, br., 2H, CH₂).

Nach b) 6.3 g (25%) identisches Produktgemisch.

Hydrierung der Gemische **10/11**

Zu 0.045 mol des Gemisches **10/11** in 500 ml Eisessig gibt man 1 g 10proz. Pd/C und hydriert bei 50°C bis zur Beendigung der Wasserstoffaufnahme unter 2 atm. Druck. Die Hydrierzeit steigt mit dem Gehalt an **11** und kann bis zu 24 h betragen. Man filtriert, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und kristallisiert aus Diisopropylether um.

4-(Bis-(4-fluorphenyl)methyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**12a**)

11.0 g (85%) farblose Kristalle, Schmp. 95°C.- C₁₇H₁₄F₂O₂ (288.3) Ber. C 70.8 H 4.89 F 13.2 Gef. C 70.9 H 4.99 F 12.3.- IR (KBr): 1780 cm⁻¹.- ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.10-7.45 (m, 8H, arom.), 4.17 (dd, 1H, J = 7.62/8.60; 5-H), 4.07 (d, 1H, J = 11.71, Ph₂CH), 3.86 (dd, 1H, J = 7.62/8.67; 5-H), 3.63 (mc, 1H, 4-H), 2.45 (dd, 1H, J = 17.31/8.31, 3-H), 2.12 (dd, 1H, J = 17.31/8.43, 3-H).

4-Diphenylmethyl-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**12b**)

10.8 g (95%) farblose Kristalle, Schmp. 131-132°C.- C₁₇H₁₆O₂ (252.3).- IR (KBr): 1780 cm⁻¹.- ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.15-7.40 (m, 10 H, arom.), 4.26 (dd, 1H, J = 9.40/7.20; 5-H), 3.97 (dd, 1H, J = 9.40/7.20; 5-H), 3.81 (d, 1H, J = 11.6, Ph₂CH), 3.44 (mc, 1H, 4-H), 2.56 (dd, 1H, J = 17.60/8.28; 3-H), 2.26 (dd, 1H, J = 17.60/8.20; 3-H).

Carboxylierung der Lactone **5,12a,b**

0.031 mol Lacton werden mit 45 ml handelsüblichen MMC (Schema 3) (2 molar in DMF) versetzt und unter N₂ 6 h auf 140°C erhitzt. Nach Erkalten versetzt man mit 100 ml 6-10°C kalter 6N-HCl und 100 ml Ether, rührt 1 h bei Raumtemp., trennt die Etherphase ab, extrahiert noch mit 3 x 100 ml Ether, wäscht die vereinigten Etherphasen mit 4 x 100 ml Wasser, trocknet über MgSO₄, dampft i. Vak. ein und kristallisiert aus absol. Ether um.

5,5-Bis-(4-fluorphenyl)-2-oxo-4,5-dihydro-3H-furan-3-carbonsäure (**6**)

Aus **5**¹¹⁾ 4.4 g (45%) farblose Kristalle, Schmp. 165-166°C.- C₁₇H₁₂F₂O₄ (318.3) Ber. C 64.2 H 3.80 F 11.9 Gef. C 64.2 H 3.75 F 11.8.- IR (KBr): 3060-3000; 1785; 1730 cm⁻¹.- ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 13.17 (s, 1H, COOH), 7.21-7.52 (m, 8H, arom.), 3.76 (dd, 1H, J = 10.7/8.9; 3-H), 3.49 (dd, 1H, J = 12.8/8.9; 4-H), 3.09 (dd, 1H, J = 12.8/10.7; 4-H).

4-(Bis-(4-fluorphenyl)methyl)-2-oxo-4,5-dihydro-3H-furan-3-carbonsäure (**13a**)

4.6 g (45%) farblose Kristalle, Schmp. 57°C.- C₁₈H₁₄F₂O₄ (332.3).- IR (KBr): 3010; 1785; 1740 cm⁻¹.- ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.07-

7.52 (m, 8H, arom.), 4.33 (dd, 1H, J = 7.1/7.1; 5-H), 4.19 (d, 1H, J = 11.3, Ph₂CH), 3.91 (mc, 1H, 4-H), 3.84 (dd, 1H, J = 7.1/8.3; 5-H), 3.50 (d, D₂O-Austausch, 1H, J = 8.5; 3-H).

4-Diphenylmethyl-2-oxo-4,5-dihydro-3H-furan-3-carbonsäure (**13b**)

5.1 g (55%) farblose Kristalle, Schmp. 149-150°C. C₁₈H₁₆O₄ (296.3) Ber. C 73.0 H 5.44 Gef. C 72.6 H 5.47. IR (KBr): 3000; 1780; 1745 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 12.7 (s, 1H, COOH), 7.10-7.50 (m, 10 H, arom.), 4.32 (dd, 1H, J = 8.30/7.10; 5-H), 4.12 (d, 1H, J = 11.3, Ph₂CH), 3.98 (mc, 1H, 4-H), 3.86 (dd, 1H, J = 8.30/7.70; 5-H), 3.45 (d, 1H, J = 7.10; 3-H).

α-Methylenlactone **8,14a,b**

Zu 0.0093 mol Carboxylacton **6,13** gibt man unter Rühren 10 ml einer Vorratslösung aus 1.1 g NaOAc, 40 ml HOAc, 29 ml 30proz. Formalinlösung und 10 ml Diethylamin. Man beläßt 5 min bei Raumtemp., erhitzt 10 min bei 100°C Badtemp., versetzt mit 50 ml Wasser und extrahiert erschöpfend mit Ether. Nach Waschen mit gesättigter NaHCO₃-Lösung, N-HCl und Wasser wird die Etherphase über Na₂SO₄ getrocknet, i. Vak. eingedampft und der Rückstand umkristallisiert.

4-Diphenylmethyl-3-methylen-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**14b**)

Aus Diisopropylether 1.3 g (53%) farblose Kristalle, Schmp. 98°C. C₁₈H₁₆O₂ Ber. C 81.8 H 6.10 Gef. C 81.0 H 6.23 (hygroskopisch). IR (KBr): 1775 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.20-7.45 (m, 10 H, arom.), 5.89 (d, 1H, J = 2.3; =CH), 4.67 (d, 1H, J = 2.3; =CH), 4.2-4.4 (m, 2H, 5-H, 4-H), 4.08 (d, 1H, J = 11.3, Ph₂CH), 3.84 (dd, 1H, J = 9.2/4.8; 5-H).

4-(Bis-(4-fluorphenyl)methyl)-3-methylen-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**14a**)

Aus Diisopropylether 2.2 g (77%) farblose Kristalle, Schmp. 98-99°C. C₁₈H₁₄F₂O₂ (300.3) Ber. C 72.0 H 4.70 Gef. C 72.0 H 4.77. IR (KBr): 1775 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.1-7.5 (m, 8H, arom.), 5.91 (d, 1H, J = 1.6; =CH), 4.70 (d, 1H, J = 1.6; =CH), 4.32 (dd, 1H, J = 8.4/7.6; 5-H), 4.2-4.3 (mc, 1H, 4-H), 4.17 (d, 1H, J = 11.4, Ph₂CH), 3.85 (dd, 1H, J = 8.4/5.4; 5-H).

5,5-Bis-(4-fluorphenyl)-3-methylen-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**8**)

Aus absol. Ether 3.3 g (45%) farblose Kristalle, Schmp. 70-73°C. C₁₇H₁₂F₂O₂ (286.3) Ber. C 71.3 H 4.22 F 13.3 Gef. C 71.1 H 4.27 F 13.3. IR (KBr): 1775; 1680 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.2-7.5 (m, 8H, arom.), 6.11 (s, br., 1H, =CH), 5.81 (s, br., =CH), 3.74 (s, br., 2H, CH₂).

8 ist alternativ wie folgt zugänglich: Unter N₂ gibt man zu 5.5 g (0.025 mol) 4,4'-Difluorbenzophenon in 100 ml absol. THF bei 50°C 3.5 g (0.05 mol) Zinkblech (5 x 5 mm Stücke, die 10 min mit 2N-HCl behandelt und dann nacheinander mit 3 x Wasser, 2 x Aceton, 1 x Ether gewaschen, bei 125°C getrocknet und dann sofort eingesetzt wurden). Dazu tropft man unter Rühren bei 40-50°C 7.2 g (0.037 mol) α-Brommethylacrylsäureethylester, erhitzt 2 h zum Sieden, filtriert nach Erkalten von den Zinkresten ab, hydrolysiert das Filtrat mit 20 g Eis und 200 ml 2N-HCl und extrahiert erschöpfend mit Ether. Nach Trocknen über MgSO₄ wird i. Vak. eingedampft und aus absol. Ether umkristallisiert. Ausb. 4.2 g (58%), Schmp. 70-73°C.

α-Aminomethylactone **3,4**

Zu 0.1 mol α-Methylenlacton **8,14a** in 50 ml Ether/Ethanol 1:1 gibt man 0.1 mol der freien Base **15** und 5 ml Eisessig. Nach 2 d bei Raumtemp. wird i. Vak. eingedampft, mit 2N-NH₃ auf pH 8-9 gebracht, mit CH₂Cl₂

erschöpfend extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet und wiederum i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird umkristallisiert oder durch Lösen in Toluol und Einleiten von HCl-Gas in das Hydrochlorid überführt.

5,5-Bis-(4-fluorphenyl)-3-(4-methylpiperidinomethyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**3a**)

Aus **8** und **15a** 1.0 g (52%) farblose Kristalle, Schmp. 94°C (Diisopropylether). C₂₃H₂₅F₂NO₂ (385.5) Ber. C 71.7 H 6.54 N 3.6 F 9.9 Gef. C 71.5 H 6.42 N 3.6 F 9.9. IR (KBr): 2910-2930; 1780 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.2-7.6 (m, 8H, arom.), 3.33 (dd, 1H, J = 12.0/7.1; 4-H), 2.4-2.9 (m, überl., 4H, 3-H, 4-H, CH₂), 1.1-2.9 (m, 9H, Piperidin), 0.86 (d, 3H, J = 5.9, CH₃).

Alternativ erhielten wir **3a** aus **13a**, Formaldehyd und **15a** analog¹⁾ (Ausb. 48%).

5,5-Bis-(4-fluorphenyl)-3-((4-(2-oxo-1-benzimidazolyl)-piperidinomethyl))-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**3b**)

Aus **8** und **15b** 4.3 g (80%) farblose Kristalle, Schmp. 196-199°C (Diisopropylether). C₂₉H₂₇F₂N₃O₃ (503.6) Ber. C 69.2 H 5.40 N 8.3 F 7.6 Gef. C 69.1 H 5.33 N 8.3 F 7.4. IR (KBr): 1775; 1690 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 10.84 (s, 1H, NH), 7.2-7.6 (m, 8H, arom.), 7.0-7.3 (m, 4H, arom.), 4.13 (m, 1H, N-CH), 3.42 (dd, 1H, J = 12.5/7.1; 4-H), 2.8-3.0 (m, überl., 3H, 4-H, N-CH₂), 1.6-2.8 (m, überl., 9H, 4-H, Piperidin).

5,5-Bis-(4-fluorphenyl)-3-(4-oxo-1-phenyl-1,3,8-triazaspiro(4,5)dec-8-ylmethyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**3d**)

Aus **2.9** g (0.01 mol) **8** und **2.3** g (0.01 mol) 1-Phenyl-1,3,8-triazaspiro(4,5)decan-4-on (**15d**) 3.6 g (70%) farblose Kristalle, Schmp. 198-200°C. C₃₀H₂₉F₂N₃O₃ (517.6) Ber. C 69.6 H 5.65 N 8.1 F 7.3 Gef. C 69.6 H 5.67 N 8.1 F 7.0. IR (KBr): 1775; 1710 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 8.63 (s, 1H, NH), 7.2-7.6 (m, 8H, arom.), 6.76-7.19 (m, 5H, arom.), 4.56 (s, 2H, NCH₂N), 3.38 (dd, 1H, J = 12.5/7.1; 4-H), 2.55-2.90 (m, überl., 4H, 3-H, 4-H, CH₂N), 1.56-2.90 (m, 8H, Piperidin).

4-Bis-(4-fluorphenyl)methyl-3-(4-methylpiperidinomethyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**4a**)

Aus **3.0** g (0.01 mol) **14a** und **1.0** g (0.01 mol) 4-Methylpiperidin **2.1** g (53%) farblose Kristalle, Schmp. 108-110°C. C₂₄H₂₇F₂NO₂ (399.5) Ber. C 72.2 H 6.81 N 3.5 Gef. C 71.9 H 6.72 N 3.4. IR (KBr): 2790-2910 (CH), 1770 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 7.45-7.10 (m, 8H, arom.), 4.34 (dd, 1H, J = 8.9/7.1; 5-H), 4.08 (d, 1H, J = 11.5, Ph₂CH), 3.75 (dd, 1H, J = 8.9/5.3; 5-H), 3.47 (m, 1H, 4-H), 2.35-2.60 (m, 1H, 3-H), 1.8-2.2 (m, 2H, NCH₂), 1.0-2.6 (m, 9H, Piperidin), 0.88 (d, 3H, J = 5.9, CH₃).

4-Bis-(4-fluorphenyl)methyl-3-(4-(2-oxo-1-benzimidazolyl)-piperidinomethyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**4b**)

Aus **3.0** g (0.01 mol) **14a** und **2.2** g (0.01 mol) **15b** 3.0 g (57%) farblose Kristalle, Schmp. 127°C (Diisopropylether/Aceton). C₃₀H₂₉F₂N₃O₃ (517.6) Ber. C 69.6 H 5.65 N 8.1 Gef. C 70.3 H 5.92 N 7.9. IR (KBr): 1775; 1690 cm⁻¹. ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ (ppm) = 10.82 (s, 1H, NH), 6.95-7.25 (m, 12 H, arom.), 4.41 (dd, 1H, J = 8.8/7.1; 5-H), 4.15 (d, 1H, J = 11.8, Ph₂CH), 4.05 (mc, 1H, NCH), 3.81 (dd, 1H, J = 8.8/5.4; 5-H), 3.58 (mc, 1H, 4-H), 2.50-2.95 (m, 1H, 3-H), 2.05-2.50 (m, 2H, NCH₂), 1.40-2.95 (m, überl., 8H, Piperidin).

4-Bis-(4-fluorphenyl)methyl-3-(4-(4-chlorphenyl)-4-hydroxy-piperidinomethyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (**4c**)

Aus **3.0** g (0.01 mol) **14a** und **2.1** g (0.01 mol) **15c** 2.2 g (44%) farblose Kristalle, Schmp. 176-178°C. C₂₉H₂₈ClF₂NO₃ (512.0) Ber. C 68.0 H 5.51

N 2.7 F 7.4 Cl 6.9 Gef. C 67.2 H 5.69 N 3.0 F 7.4 Cl 7.1.- IR (KBr): 3560; 1770 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6): δ (ppm) = 7.1-7.5 (m, 12 H, arom.), 4.86 (s, 1H, OH), 4.36 (dd, 1H, $J = 8.9/7.1$; 5-H), 4.11 (s, 1H, $J = 11.3$, Ph_2CH), 3.78 (dd, 1H, $J = 8.9/6.0$; 5-H), 3.57 (m, 1H, 4-H), 1.4-2.6 (m, überl., 11 H, 3-H, Piperidinomethyl).

4-Bis-(4-fluorphenyl)methyl-3-(4-oxo-1-phenyl-1,3,8-triazaspiro(4,5)dec-8-yl-methyl)-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (4d)

Aus 3.0 g (0.01 mol) **14a** und 2.3 g (0.01 mol) **15d** 3.2 g (60%) farblose Kristalle, Schmp. 105° (Z). Die Substanz wurde aus Diisopropylether/Aceton umkristallisiert und enthält laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum und Elementaranalyse 1 Mol durch Trocknen i. Vak. nicht zu entfernenden Diisopropylether im Kristall.- $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3 + \text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}$ (633.8) Ber. C 70.1 H 7.16 N 6.6 Gef. C 70.1 H 7.45 N 6.6.- IR (KBr): 1775; 1715 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6): δ (ppm) = 8.60 (s, 1H, NH), 6.8-7.5 (m, überl., 13 H, arom.), 4.56 (s, 2H, NCH_2N), 4.40 (dd, 1H, $J = 8.9/7.1$; 5-H), 4.15 (d, 1H, $J = 9.5$, Ph_2CH), 3.81 (dd, 1H, $J = 8.9/6.5$; 5-H), 3.60 (m, 1H, 4-H), 1.3-2.8 (m, überl., 11 H, 3-H, Piperidinomethyl).

4-Diphenylmethyl-3-piperidinomethyl-4,5-dihydro-2(3H)-furanon (17)

Aus 2.6 g (0.01 mol) **14b** und 0.9 g (0.01 mol) Piperidin 1.6 g (45%) farblose Kristalle, Schmp. 90°C.- $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{NO}_2$ (349.6) Ber. C 79.0 H 7.79 N 4.01 Gef. C 78.6 H 7.74 N 4.21.- IR (KBr): 1770 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6): δ (ppm) = 7.1-7.5 (m, 10 H, arom.), 4.35 (dd, 1H, $J = 9.1/7.2$; 5-H), 4.01 (d, 1H, $J = 11.8$, Ph_2CH), 3.79 (dd, 1H, $J = 9.1/5.2$; 5-H), 3.54 (m, 1H, 4-H), 1.8-2.5 (m, überl., 7H, 3-H, $\text{N}(\text{CH}_2)_3$), 1.3-1.5 (m, überl., 6H, $\text{C}-(\text{CH}_2)_3\text{C}$).

Präparation von Zellmembranen

Weibliche Wistar Ratten (250 g) werden durch Dekapitieren getötet und die Gehirne so schnell wie möglich entnommen. Auf einer eisgekühlten Petrischale erfolgt die Dissektion beider *corpora striata* (Frischgewicht ca. 150 mg). Das Gewebe wird im 100fachen Volumen von gekühltem TRIS-HCl-Puffer (0.05 mol/l, pH 7.7 = TRIS I) in einem Glas/Teflon-Homogenisator homogenisiert und für 10 min bei 50 000 x g zentrifugiert. Der gewonnene Überstand wird verworfen und das Pellet im gleichen Volumen frischen Puffers (TRIS I) resuspendiert. Das Homogenisieren und Zentrifugieren wird einmal wiederholt. Das so gewonnene Pellet wird bei -20°C eingefroren und ist für mindestens einen Monat verwendbar.

Bindungstest

Nach dem Auftauen des Pellets wird es im doppelten des ursprünglichen Volumens von eiskaltem Tris-HCl-Puffer homogenisiert (0.05 mol/l, pH 7.1. 0.1 mol/l NaCl + 1.6×10^{-3} mol/l $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ + 8.0×10^{-4} mol/l $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ + 4.0×10^{-3} mol/l KCl + 4.6×10^{-3} mol/l Ascorbinsäure = TRIS II). Der Ansatz, der bei 37°C für 15 min in einem Schüttelwasserbad inkubiert wird, hat die folgende Zusammensetzung: 800 μl Membransuspension (äquivalent 4 mg Gewebe), 100 μl ^3H -Spiroperidol-Lösung^{*)}, 50 μl Haloperidol-Lösung (4.0×10^{-5} mol/l)^{*)}, 50 μl Ketanserin-Lösung (8.0×10^{-7} mol/l)^{*)}. ^{*)} Lösungsmittel: Ascorbinsäure 5.7×10^{-3} mol/l.

Die Inkubation wird beendet durch Filtration durch Whatman GF/B-Filter bei einem Unterdruck von 0.1 bar. Die Filter werden dreimal mit 5 ml eisgekühltem TRIS I gespült. Die danach am Filter verbleibende Radioaktivität wird in einem Flüssigkeits-Szintillations-Zähler in einem Cocktail für wasserhaltige Proben (Biofluor^(R), DuPont) mit einer Zählzählbeute von 45% bestimmt.

Als spezifisch (Rezeptor) gebundenes Spiroperidol wird derjenige Teil angesehen, der durch die Anwesenheit von 2×10^{-6} mol/l Haloperidol verdrängt werden kann. Dieser Teil stellt 70-75% des insgesamt gebundenen markierten Materials dar.

Neun verschiedene Konzentrationen im Ansatz (1.6×10^{-11} bis 7.23×10^{-10} mol/l) von ^3H -Spiroperidol werden zur Ermittlung der Bindungsparameter $K_D = 1.3 \times 10^{-10}$ mol/l und $B_{\text{max}} = 6.9 \times 10^{-13}$ mol/mg Protein verwendet.

In den Verdrängungsexperimenten mit den Testsubstanzen wird mit einer festen ^3H -Spiroperidolkonzentration von 1.5×10^{-10} mol/l gearbeitet. Die Konzentration der Testsubstanzen im Ansatz liegt zwischen 5×10^{-6} und 1×10^{-9} mol/l. Für die Inhibitionskonstante K_i , welche die jeweilige Affinität quantifiziert, gilt:

$$K_i = \frac{\text{IC}_{50}}{1 - L/K_D}$$

IC_{50} : Konzentration der Testsubstanz, die zu einer 50proz. Verminderung der spez. ^3H -Spiroperidolbindung führt; L: Konzentration von ^3H -Spiroperidol im Ansatz; K_D : scheinbare Dissoziationskonstante.

Die Berechnung der Bindungs- bzw. Hemmungsparameter erfolgt mit einem PC-Programm nach dem Prinzip einer iterativen Anpassung der experimentellen Daten an ein nicht-lineares Modell mit dem Kriterium Minimum der Abweichungsquadrate (GIP, Gießener Iterations-Programm⁹⁾.

Literatur

23. Mitt.: J. Lehmann, A. Radwansky, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **1993**, 326, 51-55.
- M.T. Tetenbaum, C.R. Hauser, *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 229-233.
- S. Hashimoto, K. Matsumoto, S. Otani, Y. Hayami, *Synthesis* **1984**, 164-166.
- J. Lehmann, F. Knoch, W. Schunack, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1988**, 321, 807-812.
- P. Seeman, *Pharmac. Rev.* **1981**, 32, 229-331.
- A. Radwansky, Dissertation, Hamburg, **1991**.
- J.E. McMurry, J.W. Donovan, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 33, 2869-2872.
- W.S. Johnson, J.W. Petersen, W.P. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 69, 74-79.
- G. Wiemer, A. Wellstein, D. Palm, H.M. v.Hattingberg, D. Brockmeier, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1982**, 321, 11-19.

[Ph61]