



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Versuche zur Synthese spirocyclischer
GABA-Derivate mit 5-gliedrigem Heterocyclus“

Verfasser

Alexander Taschauer

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie UniStG

Betreuer: ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Ernst Urban

Danksagung:

Ich möchte mich an dieser Stelle bei Herrn Univ.-Prof. Dr. Ernst Urban für die stets kompetente Betreuung und die hervorragende Unterstützung bei der Interpretation der gemessenen ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren bedanken.

Ein weiterer Dank gilt den Kollegen der Abteilung, die mir bereitwillig bei diversen Problemstellungen hilfreich zur Seite standen.

Zudem möchte ich mich bei all meinen Freunden bedanken, ohne die das Studium nur halb so erfreulich gewesen wäre.

Schließlich möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir dieses Studium ermöglicht und mich immer tatkräftig unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis:

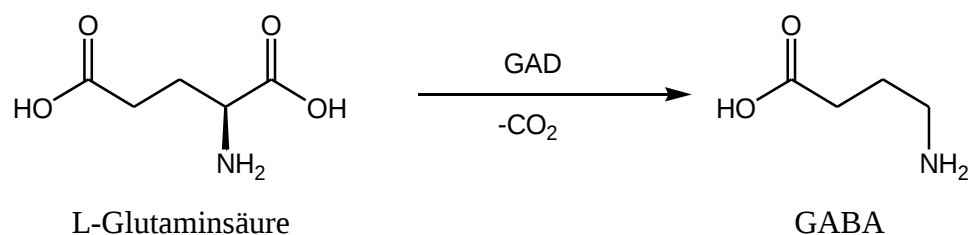
Einleitung	1
1. Die γ -Aminobuttersäure	1
2. Epilepsie	2
3. Die GABA-Rezeptoren	3
3.1. GABA _A -Rezeptoren	3
3.2. GABA _B -Rezeptoren	6
4. GABA-Transporter	7
5. Der GABA-reuptake	7
6. Spiro-Derivate von GABA	11
Themenstellung	11
Hauptteil	12
1. Versuche zur Alkylierung des Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester	13
1.1. Versuche zur Alkylierung mit 1,2-Dibromethan	13
1.2. Versuche zur Alkylierung mit Allylbromid	14
2. Versuch zur Aminolyse des β -Ketoester 8	14
3. Lemieux-Johnson-Oxidation	16
3.1. Dihydroxylierung vom β -Ketoester 8	17
3.2. Umsetzung des cis-Diols 9 mit NaIO ₄	18
4. Intramolekulare Aminolyse der Esterfunktion	19
4.1. Umsetzung mit Benzylamin	19
4.2. Versuch zur Synthese des Lactams 3	21
5. Versuch zur Synthese des β -Ketoamid 20 ausgehend von der Heptandisäure	23
Zusammenfassung	28
Abstract	29
Experimenteller Teil	30
1. Versuche zur Synthese vom β -Ketoester 2	31
2. Synthese vom β -Ketoester 8	38
3. Versuche zur Aminolyse vom β -Ketoester 8	40
4. Versuch zur Synthese vom Lactam 3	44
5. Versuch zur Synthese vom β -Ketoamid 20	48
Auswertung der NMR-Spektren	55
Literaturverzeichnis	59
Abkürzungsverzeichnis	63
Anhang: NMR-Spektren, Lebenslauf	65

Einleitung:

Die Funktion und die Aktivität des Gehirns basiert im Grunde auf ein ständiges Zusammenspiel zwischen der Aktivität unterschiedlicher Nervenzellen, die hauptsächlich durch die Freisetzung so genannter Neurotransmitter vermittelt wird. So bewirken exzitatorisch wirkende Substanzen, wie z. B. Glutamat, an den Synapsen von Neuronen das Auftreten einer Depolarisation, während dagegen inhibitorisch agierende Stoffe das Nervensystem des Körpers vor einer Überaktivität schützen, indem sie das Membranpotential der Zellen so beeinflussen, dass die Wahrscheinlichkeit für das Entstehen eines Aktionspotentials signifikant verringert wird. [1]

1. Die γ -Aminobuttersäure:

Als der wohl wichtigste Vertreter inhibitorisch wirkender Neurotransmitter gilt die γ -Aminobuttersäure (GABA). Diese Substanz entsteht durch Umsetzung der L-Glutaminsäure durch die Glutaminsäuredecarboxylase (GAD), von der derzeit insgesamt zwei verschiedene Iso-Formen bekannt sind, nämlich GAD65 und GAD67. Diese beiden Enzyme unterscheiden sich vor allen Dingen dadurch, dass sie in den betroffenen Zellen unterschiedlich lokalisiert sind, wobei GAD65 sich vorwiegend in synaptischen Vesikeln befindet und GAD67 im gesamten Cytoplasma verteilt ist. [2]

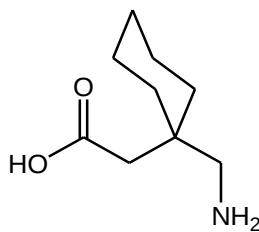


Im Zuge des Abbaus dieses Neurotransmitters, wird GABA durch das mitochondriale Enzym GABA-Transaminase zusammen mit 2-Oxoglutarat in Succinat-Semialdehyd und Glutamat umgewandelt. [3]

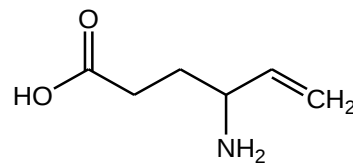
Folglich bewirkt also eine Hemmung der GABA-Transaminase eine indirekte Steigerung der inhibierenden Effekte von GABA.

Wichtige Beispiele für Substanzen, die direkt in die Biosynthese bzw. den Abbau von GABA eingreifen sind die Arzneistoffe Gabapentin und Vigabatrin, die beide eine GABA-analoge Struktur aufweisen und häufig bei der Therapie der Epilepsie verwendet werden.

Zu beachten ist, dass Vigabatrin als irreversibler Hemmstoff der GABA-Transaminase wirkt, indem es kovalent an das Enzym bindet. Gabapentin dagegen ist ein Aktivator der Glutamat-Decarboxylase, wobei es allerdings auch aufgrund seiner blockierenden Wirkung auf Ca^{2+} -Kanäle eingesetzt wird. Als Folge kommt es neben der Steigerung der Ausbildung von GABA auch zu einer Hemmung der glutamatergen Reizübertragung. [4]



Gabapentin



Vigabatrin

2. Epilepsie:

Bei der Epilepsie handelt es sich um eine der am häufigsten vorkommenden chronischen Erkrankungen des Zentralen Nervensystems, die durch Auftreten stark ausgeprägter paroxysmaler elektrischer Entladungen im Gehirn charakterisiert ist. Diese Anfälle entstehen durch ein Ungleichgewicht der Effekte exzitatorischer und inhibitorischer Neurotransmitter. Zu beachten ist vor allem, dass man zwischen der primär generalisierten Epilepsie, bei der beide Gehirnhälften von den schlagartigen elektrischen Entladungen betroffen sind, und der fokalen Epilepsie, die sich größtenteils nur auf eine Gehirnhälfte beschränkt, unterscheidet. In erster Linie handelt es sich bei der Behandlung der Epilepsie um eine symptomatische Therapie, wobei vor allem jene Substanzen einen besonderen Stellenwert besitzen, die eine Wirkung auf das GABAerge System haben. [4]

3. Die GABA-Rezeptoren:

Derzeit sind zwei verschiedene GABA-Rezeptortypen bekannt, und zwar die GABA_A- und die GABA_B-Rezeptoren.

3.1. GABA_A-Rezeptoren:

Die GABA_A-Rezeptoren weisen alle die Struktur eines Pentamers auf, wobei bis dato insgesamt 19 verschiedene Untereinheiten nachgewiesen werden konnten: α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , ϵ , θ , π , ρ 1-3. [5]

Wie vorher genannt, bestehen alle Vertreter dieser Rezeptorfamilie aus jeweils fünf Untereinheiten, die so angeordnet sind, dass sie eine zentrale Pore bilden, die sowohl für Cl⁻ als auch für HCO₃⁻-Ionen permeabel ist und so nach seiner Aktivierung in Abhängigkeit vom Reifegrad des betroffenen Neurons entweder eine Depolarisation oder eine Hyperpolarisation der Plasmamembran erzeugt. [6]

Da nämlich in jungen bzw. unreifen Nervenzellen eine intrazelluläre Akkumulation von Cl⁻-Ionen vorliegt, die mitunter durch den NKCC1-Transporter hervorgerufen wird, kommt es durch Aktivierung von GABA_A-Rezeptoren zu einem Cl⁻-Ionenfluss entlang des Konzentrationsgradienten aus dem Intra- in den Extrazellulärraum, was im Endeffekt eine Depolarisation zur Folge hat. In diesem Stadium ist GABA vor allem für die Zellentwicklung notwendig. Da allerdings bei vollständig entwickelten Neuronen die extrazelluläre Cl⁻-Konzentration größer ist als jene in der Zelle kommt es durch Öffnung des GABA_A-assoziierten Ionenkanals zu einer Hyperpolarisation der Plasmamembran. [7]

Die GABA_A-Rezeptoren zeichnen sich zusätzlich dadurch aus, dass sie Bindungsstellen sowohl für physiologisch vorkommende als auch für körperfremde Substanzen aufweisen, über die vor allen Dingen die Aktivität und die Funktion der Rezeptoren beeinflusst werden kann, was bei einigen therapeutisch eingesetzten Stoffen (z. B. Benzodiazepine, Barbiturate, Anästhetika) auch ausgenutzt wird. [8]

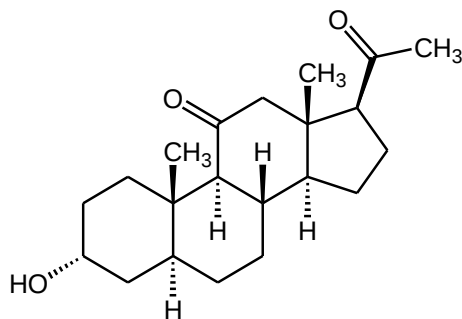
So bewirken Benzodiazepine durch Kontakt mit ihrer spezifischen Bindungsstelle am GABA_A-Rezeptor eine allosterische Veränderung, wodurch der Rezeptor durch GABA wesentlich stärker stimuliert werden kann. Auf diese Weise steigt die Öffnungswahrscheinlichkeit des Cl⁻-Kanals und folglich auch die Hyperpolarisation

der Zellmembran. Äußerst ähnlich wirken z. B. Barbiturate, die aber eine andere Bindungsstelle als Benzodiazepine am GABA_A-Rezeptor besitzen und darüber hinaus in hohen Konzentrationen auch selbst den Rezeptor aktivieren können. [4]

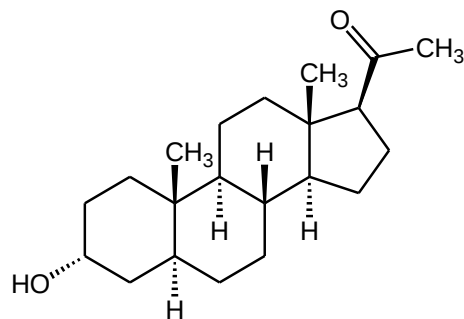
Essentiell ist die Tatsache, dass GABA_A-Rezeptoren eine äußerst wichtige Rolle bei der Steuerung des Schlafrhythmus spielen, was der Hauptgrund für die Anwendung von Substanzen wie Benzodiazepine und Zolpidem in der Therapie von Schlafstörungen ist.

Weiters konnte festgestellt werden, dass Neurosteroiden einen enormen Einfluss auf die Funktion von GABA_A-Rezeptoren im ZNS haben. Eines der ersten Beispiele, bei dem diese Wirkung nachgewiesen werden konnte, ist das synthetisch hergestellte Steroid Alfaxalon. [9]

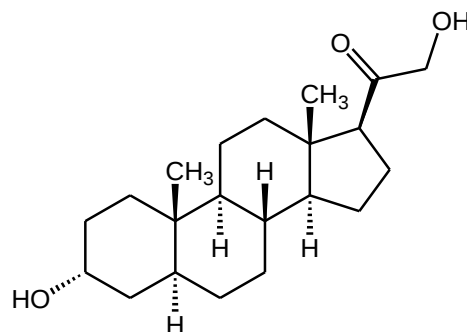
Nur wenig später wurde bewiesen, dass sowohl Allopregnanolon, bei dem es sich um einen Metaboliten von Progesteron handelt, als auch die Substanz 3 α 5 α -Tetrahydrodesoxycorticosteron (3 α 5 α -THDOC), das ein Abbauprodukt des Stresshormons Desoxycorticosteron ist, starke Liganden von GABA_A-Rezeptoren sind, deren Wirkung der von Barbituraten ähnlich ist. [10]



Alfaxalon



Allopregnanolon



3 α 5 α -THDOC

Chisari et al. konnte in einer Studie belegen, dass Neurosteroid-Produktion die Wirkung von GABA vor allem auf δ -GABA_A-Rezeptoren, also jene die eine δ -Untereinheit als eine der Komponenten der Pentamerstruktur haben, steigern. [11]

Dieses Faktum konnte besonders im Organismus von Schwangeren festgestellt werden, da es hier zu einem enormen Anstieg des Progesteron- und damit automatisch auch des Allopregnanolonspiegels kommt. Um eine Überaktivität der δ -GABA_A-Rezeptoren zu verhindern, reagiert der Körper mit einer Verringerung der Anzahl dieser Rezeptoren im ZNS. Postpartum kommt es zu einer relativ raschen Verminderung der Neurosteroid-Level. [12]

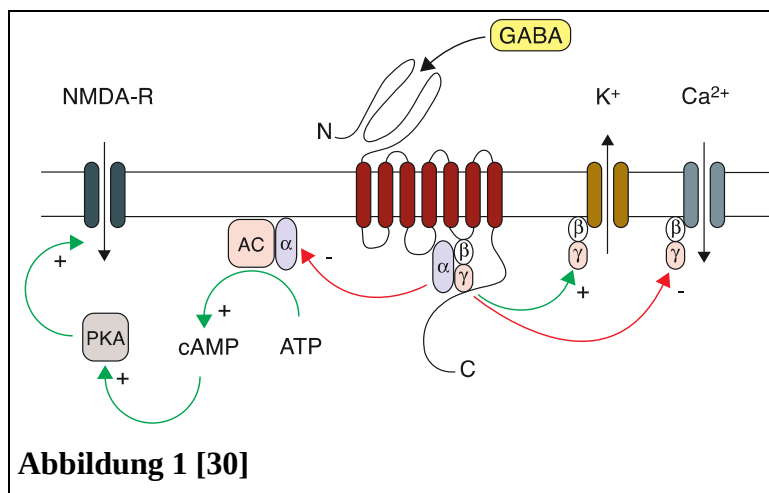
Da allerdings die daraus resultierende kompensatorische Steigerung der δ -GABA_A-Rezeptoren etwas verzögert eintritt und dadurch deren inhibierende Wirkung stark vermindert ist, kann es mitunter zur Ausbildung depressionsähnlicher Zustände der betroffenen Person kommen, was in zahlreichen Experimenten mit Mäusen bewiesen werden konnte. [12]

3.2. GABA_B-Rezeptoren:

GABA_B-Rezeptoren sind metabotrope G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die in den meisten Regionen des Gehirns sowohl in exzitatorischen als auch in inhibitorischen Synapsen zu finden sind, wobei sie nicht nur an der präsynaptischen, sondern auch an der postsynaptischen Membran von Neuronen lokalisiert sein können. [13]

Es wird vermutet, dass die Vertreter dieser Rezeptorgruppe bei ihrer Aktivierung eine Gβγ-Untereinheit freisetzen, die ihrerseits zur Inaktivierung von Ca²⁺-Kanälen und zur Öffnung von K⁺-Kanälen führt, was im Endeffekt eine Hyperpolarisation der Zellmembran bewirkt. [14]

Die Freisetzung der Gα-Untereinheit führt hauptsächlich zu einer Hemmung der Adenylatcyclase und somit zu einer Verringerung des intrazellulären cAMP-Spiegels. Infolgedessen kommt es zu einer Verminderung der Aktivität der Proteinkinase A und zu einer Hemmung der Aktivität von NMDA-Rezeptoren, wodurch mitunter eine Senkung der Wirkung des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat vermittelt wird. [15] (siehe Abb. 1)



GABA_B-Rezeptoren sind zusätzlich neuromodulierende Rezeptoren, die ihrerseits die Freisetzung von Neurotransmittern äußerst stark beeinflussen können, indem sie, wie vorher beschrieben, zu einer Inaktivierung spannungsabhängiger Ca²⁺-Kanäle führen. [16]

4. GABA-Transporter:

So wie bei jedem anderen Neurotransmitter gibt es auch bei GABA ein entsprechendes System, das eine optimale Inaktivierung gewährleistet. Besonders bei GABA sind dafür entsprechende Transporter verantwortlich, die die Substanz aus dem synaptischen Spalt in den Intrazellärraum befördern. Der Großteil der Aufnahme von GABA erfolgt dabei in die Präsynapse, wo es hauptsächlich bis zur erneuten Freisetzung in synaptischen Vesikeln gespeichert wird. Nur ein kleiner Anteil gelangt in Astrozyten, die die Synapse umgeben und wo GABA fast vollständig metabolisiert wird. [17]

Die verschiedenen GABA-Transportsysteme konnten bereits in zahlreichen Studien sowohl in vivo, als auch in Gehirnproben und in Kultursystemen untersucht werden. Bis heute konnten mehrere verschiedene GABA-Transporter erfolgreich geklont werden: z. B. VGAT, GAT1-GAT4. Bei VGAT handelt es sich um einen vesikulären Transporter. [18]

GAT1-GAT4 bestehen aus jeweils 12 transmembranären Segmenten und gehören zur Familie der Na^+ - und Cl^- -gekoppelten Transporter. Das bedeutet, dass nach der Bindung des eigentlichen Substrats (GABA) auch die Bindung von Natrium und Chlorid notwendig ist, um eine Veränderung der Konformation des Transporters zu bewirken. Dabei gelangen diese Substanzen aus dem Extra- in den Intrazellulärraum. [19]

5. Der GABA-reuptake:

GABA-reuptake Inhibitoren bewirken ihrerseits eine Steigerung der GABA-Konzentration im synaptischen Spalt und damit eine Potenzierung der Wirkung dieses Neurotransmitters.

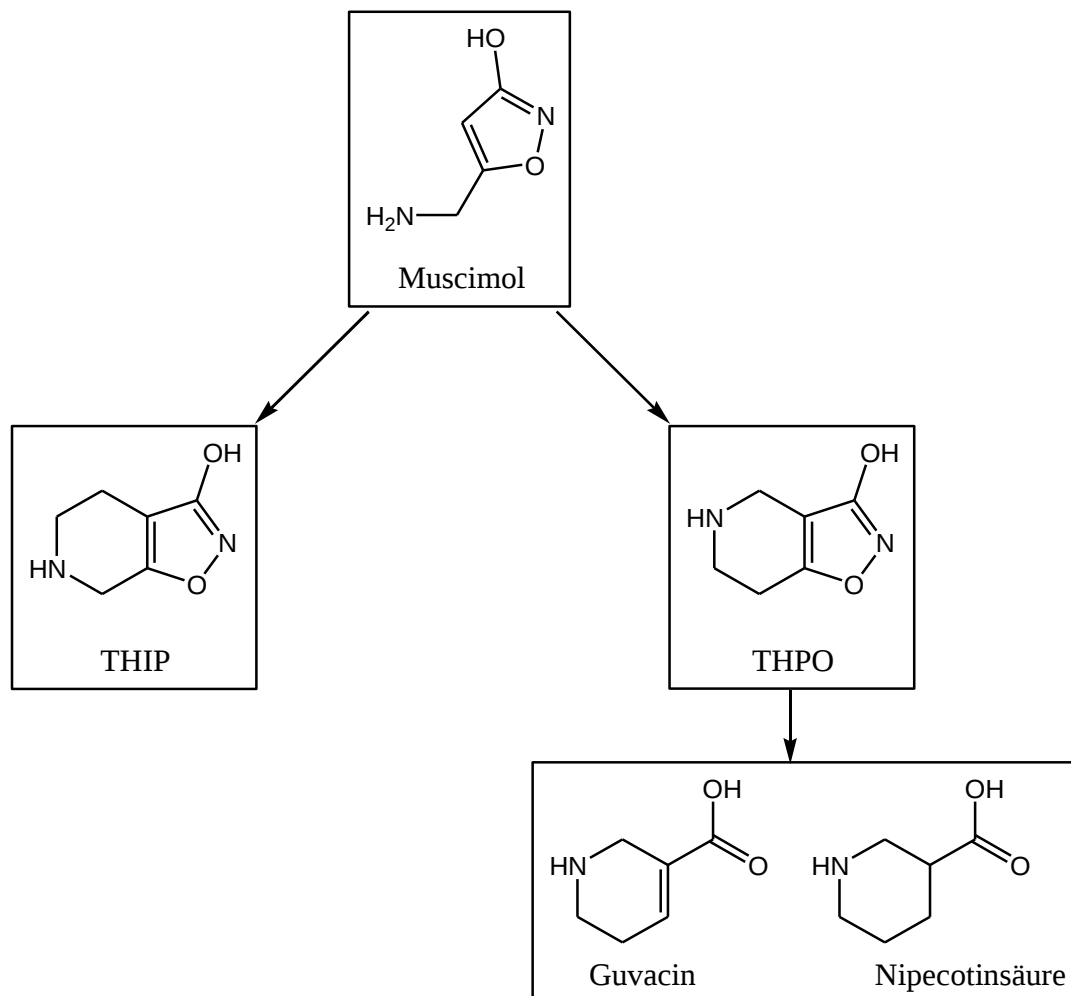
Obwohl viele GABA-reuptake Inhibitoren antiepileptische Effekte auf den Organismus haben, konnte sich bis dato nur Tiagabin als effiziente Substanz, die über diesen Wirkmechanismus verfügt, etablieren. [20]

Muscimol gilt als eine der wichtigsten natürlich vorkommenden Verbindungen, die als GABA-Analogon sowohl mit den GABA-Rezeptoren als auch mit GABA-Transportern interagiert. Diese Rezeptor- und Transporteraktivität konnten durch entsprechende Modifikationen der Struktur der Substanz voneinander getrennt

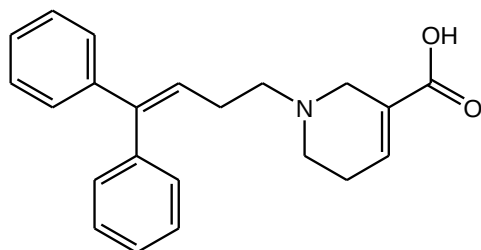
werden. Auf diesem Weg kam es zur Entwicklung von 4,5,6,7-Tetrahydroisoxazolo[5,4-c]pyridin-3-ol (THIP), das selektiv nur GABA-Rezeptoren aktiviert. Während die Wirkung von THIP im Vergleich mit Muscimol auf die meisten GABA-Rezeptoren schwächer ist, besitzt es dagegen eine äußerst hohe Affinität für δ -GABA_A-Rezeptoren. [21]

Durch Veränderung der Position des Stickstoffatoms im Piperidinring gelangte man schließlich zu 4,5,6,7-Tetrahydroisoxazolo[4,5-c]pyridin-3-ol (THPO), das eine β -Alaninähnliche Struktur besitzt. [22]

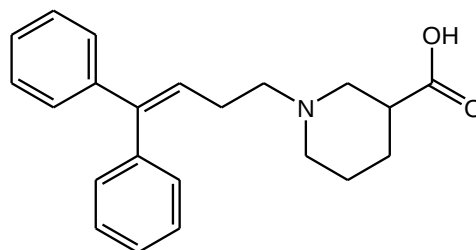
Diese Substanz weist im Vergleich zu THIP überhaupt keine Effekte auf die Aktivität von GABA-Rezeptoren auf, während es dagegen ein äußerst wirksamer Hemmstoff des GABA-reuptake ist. Das erleichterte enorm die Erklärung, weshalb auch die beiden natürlich vorkommenden Substanzen Guvacin und die Nipecotinsäure, die ihrerseits sowohl den teilweise bzw. vollständig hydrierten Pyridinring als auch das Carboxyl-C mit THPO gemeinsam haben, im Organismus als äußerst selektive GABA-Transport-Inhibitoren agieren. [23]



Ausgehend von Guvacin und der Nipecotinsäure entwickelte man durch Substitution mit lipophilen Resten wie z. B. 4,4-Diphenylbut-3-en-1-yl (DPB) die Substanzen N-DPB-Guvacin (SKF 100330A) und N-DPB-Nipecotinsäure (SKF 89976A). [24]



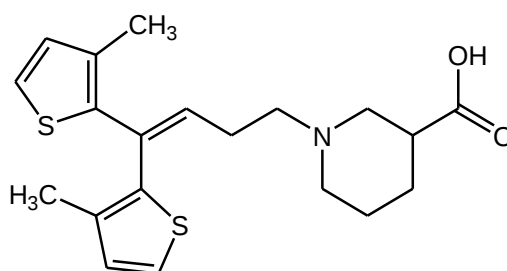
SKF 100330A



SKF 89976A

Allerdings stellte sich bei diesen Verbindungen heraus, dass sie keine Substrate von GABA-Transportern sind. [24]

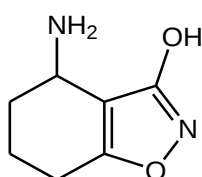
Aus diesem Grund begann man mit der Synthese weiterer lipophiler Guvacin- und Nipecotinsäurederivate. Im Vergleich zu den Ausgangsverbindungen kam es durch diese Strukturmodifikation neben der Erhöhung der Wirksamkeit auch noch zu einer Steigerung der Fähigkeit, die Blut-Hirn-Schranke zu durchdringen. Man erhielt auf diese Weise Stoffe, die ihrerseits auch peroral angewendet werden konnten, wie z. B. (R)-N-[4,4-bis(3-methyl-2-thienyl)but-3-en-1-yl]nipecotinsäure (Tiagabin), das heute oft zur Add-on-Therapie von Epilepsie verwendet wird. Tiagabin besitzt eine äußerst hohe Selektivität für GAT1, wobei es ein starker Inhibitor des neuronalen und auch des glialen GABA-reuptakes ist. [25]



Tiagabin

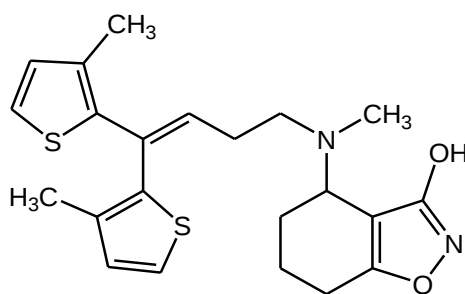
Wie vorher bereits beschrieben besitzt THPO eine äußerst hohe Selektivität für GABA-Transporter. Das war auch die Ursache dafür, dass zahlreiche Tests mit exo-THPO und auch N-Methyl-exo-THPO, die eine leicht abgewandelte Struktur im

Vergleich zu THPO besitzen, durchgeführt wurden. Zusätzlich wurden auch von diesen beiden Substanzen Alkylierungsprodukte hergestellt, von denen z. B. die Glia-Selektivität und auch die ZNS-Gängigkeit genau untersucht wurden. Hier konnte mitunter bei N-Diphenylbutyl-exo-THPO eine äußerst hohe Aktivität festgestellt werden. Besonders interessant ist, dass oft der Fall auftritt, dass jene Seitenketten, welche eine Verminderung der Aktivität der Nipicotinsäure bewirken, den Effekt von exo-THPO verstärken. [26, 27, 28]



exo-THPO

Weiters erhält man durch Einführung der Seitenkette von Tiagabin in N-Methyl-exo-THPO eine Substanz (EF1502), die neben ihrer Wirkung auf GAT1 auch einen signifikanten Effekt auf GAT2 hat. Die Auswirkungen auf GAT1 und GAT2 sind in etwa gleich. In Mausexperimenten konnte ein synergistischer Effekt bei der gleichzeitigen Anwendung von Tiagabin und EF1502 festgestellt werden. [26, 27, 28]



EF 1502

Zu beachten ist vor allem, dass das (S)-Enantiomer von EF1502 eine äußerst hohe Selektivität auf GAT2 hat, während dagegen das (R)-Enantiomer gleichsam auf GAT1 und GAT2 wirkt. [26]

6. Spiro-Derivate von GABA:

Mehrere Untersuchungen haben gezeigt, dass durch Umwandlung der chemischen Struktur von GABA, wie z. B. durch Synthese spirocyclischer Derivate, überaus selektiv wirkende Substanzen erhalten werden können. Da allerdings viele dieser Verbindungen nicht in der Lage sind die Blut-Hirn-Schranke zu durchdringen, führte man ähnlich wie bei der Herstellung der Nipecotinsäurederivate lipophile Arylalkylreste am Stickstoffatom ein, wobei durch Steigerung der Fettlöslichkeit dieser Stoffe sowohl die Resorption im Gastrointestinaltrakt als auch die ZNS-Gängigkeit verbessert werden konnte. Zudem ist auch die äußerst geringe konformationelle Beweglichkeit der Verbindungen für die Spezifität der Wirkung äußerst ausschlaggebend, wobei der Effekt der Verbindungen, die einen fünfgliedrigen stickstoffhaltigen Heterocyclen haben, größer ist als der von jenen mit einem sechsgliedrigen Heterocyclen. Die spirocyclischen GABA-Derivate wirken hauptsächlich über die Hemmung des GABA-reuptake. [29]

Themenstellung:

Die Hauptaufgabe der hier vorliegenden Diplomarbeit bestand in der Durchführung verschiedener Versuchsansätze zur Synthese spirocyclischer GABA-Analoga mit einer 2-Azaspiro[4.5]-decan-Struktur.

Den Schwerpunkt bildeten dabei jene Syntheseschemata, in denen ich sowohl den Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester als auch die Pimelinsäure als Edukte verwendete.

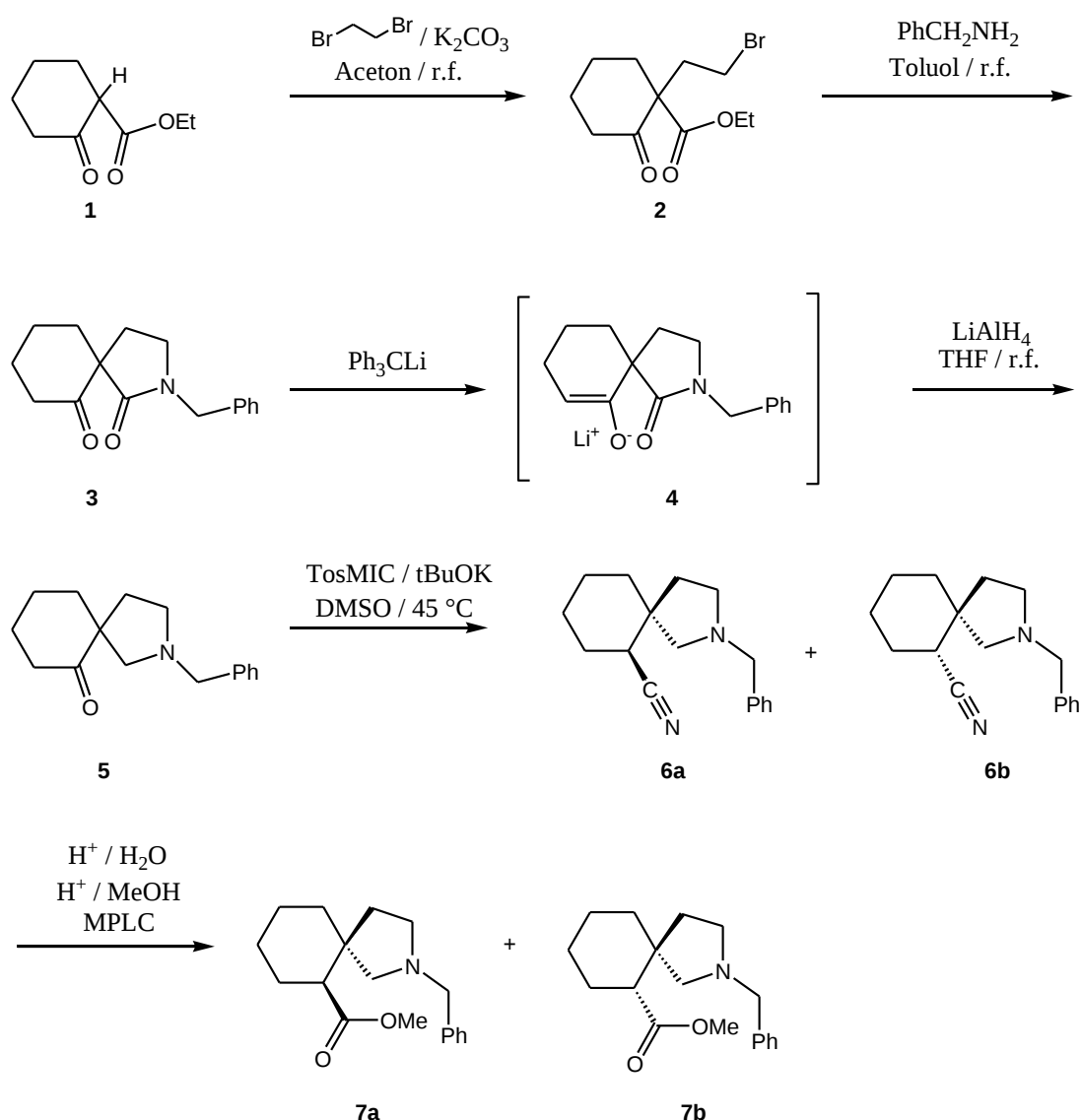
Ein weiteres Ziel war die Entwicklung der optimalen Aufreinigung der entstandenen Produkte.

Ferner bestand die Aufgabe dieser Diplomarbeit auch darin, die synthetisierten Verbindungen durch die Analyse von ^1H -, ^{13}C - und auch 2D-NMR-Spektren zu charakterisieren.

Hauptteil:

Zur Synthese der spirocyclischen GABA-Derivate **7a** und **7b** verfolgten wir ursprünglich das unten beschriebene Syntheschema (**Schema 1**), das sich bereits bei der Herstellung von 2-Aza-spiro[4.4]nonan-Verbindungen als äußerst effektiv erwiesen hat, wobei allerdings bei diesen Substanzen der Cyclopentanon-2-carbonsäuremethylester, und nicht so wie hier der Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester (**1**) als Edukt verwendet wurde. [31]

Schema 1: Ursprüngliches Syntheschema zur Gewinnung von **7a** und **7b**



1. Versuche zur Alkylierung des Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester:

1.1. Versuche zur Alkylierung mit 1,2-Dibromethan:

Als Ausgangsverbindung verwendeten wir den kommerziell erhältlichen Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester (**1**), wobei wir im ersten Syntheseschritt eine Alkylierungsreaktion unter Verwendung von 1,2-Dibromethan und einer geeigneten Base (siehe **Tabelle 1**) versucht haben. Allerdings stellte sich bereits diese Reaktion als äußerst problematisch heraus, da dabei mittels Durchführung von ^1H -NMR-Messungen eine Umsetzung von maximal nur 15 % festgestellt werden konnte. Als Vermutung, weshalb die Synthese vom alkylierten β -Ketoester **2** sich als derart schwierig herausgestellt hat, gilt, dass Ketone von sechsgliedrigen Ringsystemen stärker zu einer Keto-Enol-Tautomerie neigen als bei fünfgliedrigen Ringen und dadurch die Alkylierung am α -ständigen Kohlenstoffatom mit Substanzen wie z. B. 1,2-Dibromethan weniger gut funktioniert.

Tabelle 1: Versuche zur Alkylierung des Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester (1**) mit 1,2-Dibromethan**

Base	Lösungsmittel	Reaktionsbedingungen	Dauer	Ausbeute
K ₂ CO ₃	Aceton	r.f.	15 h	15 %
NaH	DMF	r.t.	14 h	keine Umsetzung
NaH	DMF	r.f.	30 min	13 %
Pyridin	Toluol	r.f.	16 h	14.5 %
Pyridin (direkt als LM)		r.f.	15 min	keine Umsetzung
TEA	Dichlormethan	r.f.	16 h	keine Umsetzung
DBU	Toluol	r.f.	16 h	keine Umsetzung

1.2. Versuche zur Alkylierung mit Allylbromid:

Aufgrund der äußerst schwachen Umsetzungsrate bei den Syntheseversuchen mit 1,2-Dibromethan verwendeten wir für die Nukleophile Substitution von **1** Allylbromid, bei dem es sich um eine äußerst stark alkylierend wirkende Substanz handelt. Die Reaktion war sowohl unter Verwendung von K_2CO_3 als auch Kalium-tert.-Butylat durch eine äußerst zufriedenstellende Umsetzungsrate charakterisiert. (siehe Tabelle 2)

Tabelle 2: Versuche zur Alkylierung des Cyclohexanon-2-carbonsäureethylester (1**) mit Allylbromid**

Base	Lösungsmittel	Reaktionsbedingungen	Dauer	Ausbeute
K_2CO_3	Aceton	r.f.	21 h	87.5 %
tBuOK	THF	r.f.	16 h	100 %

Die Umsetzung des Edukts (**1**) ist im 1H -NMR mitunter auch durch das Wegfallen bzw. die starke Schwächung des Signals des Enol-H bei einer Verschiebung von 12.24 ppm zu erkennen.

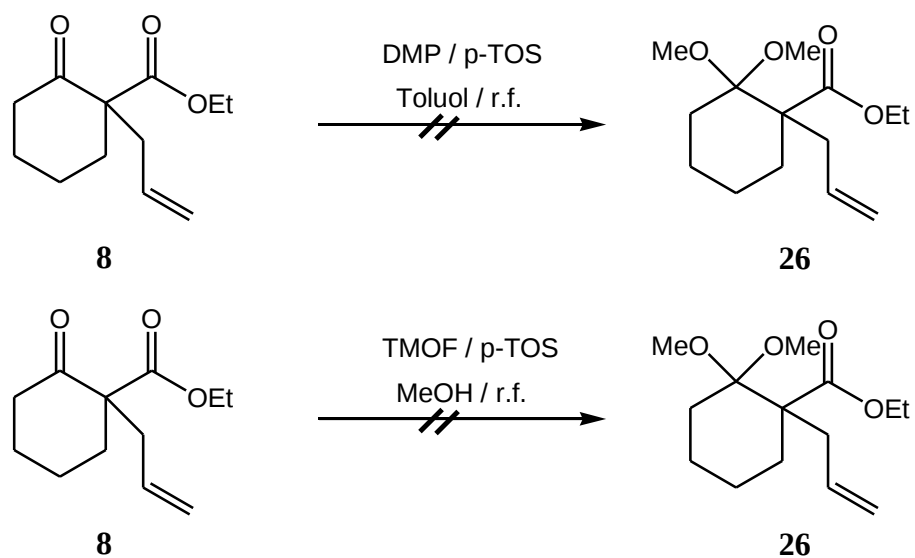
2. Versuch zur Aminolyse des β -Ketoester **8**:

Für die Durchführung der Aminolyse vom β -Ketoester **8**, verwendete ich Benzylamin. Da allerdings für die Umsetzung eines Esters mit einem Amin meistens ein Katalysator notwendig ist, fügte ich dem Reaktionsgemisch 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) hinzu.

Hauptproblem bei dieser Synthese war aber, dass die in der Struktur des Edukts **8** enthaltene Carbonylfunktion eine weitaus höhere Reaktivität aufweist als die Esterkomponente und es so bevorzugt zur Ausbildung eines Imins kommt.

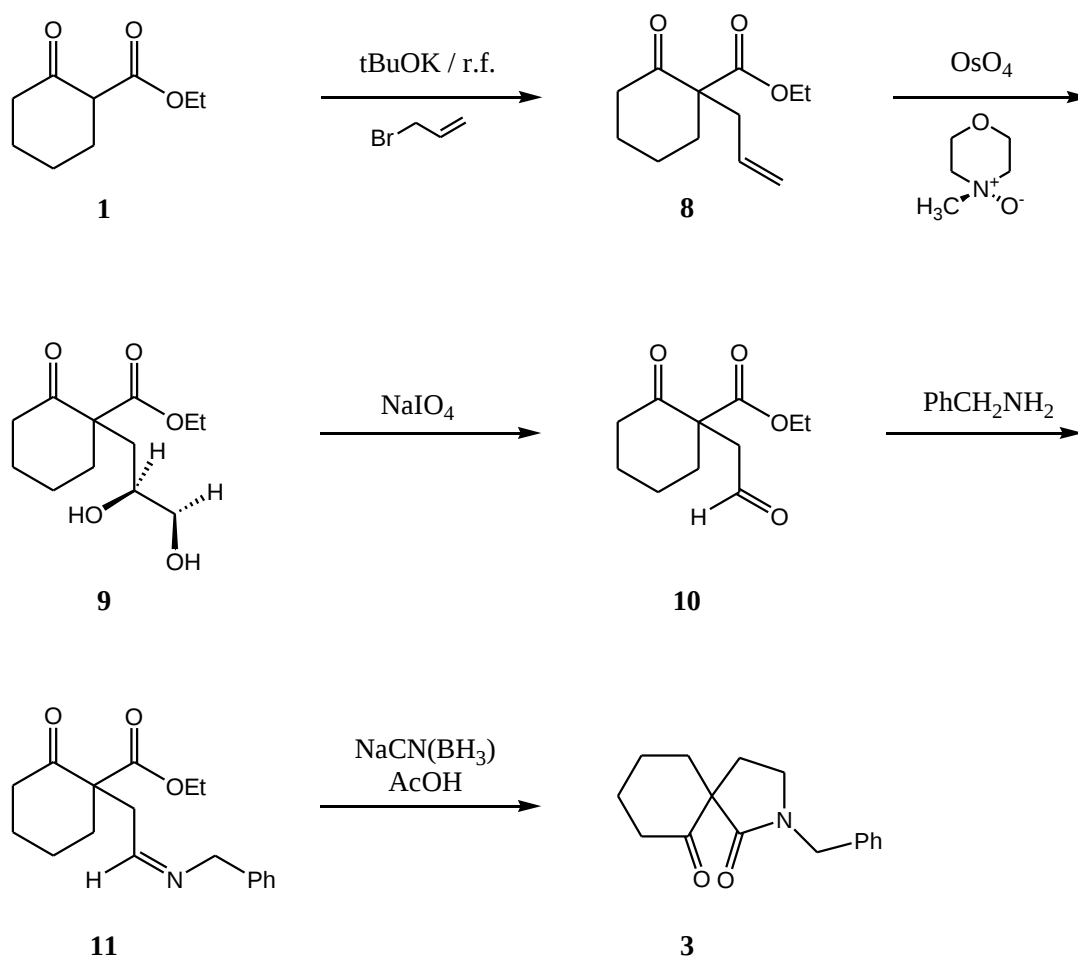
Folglich versuchten wir die Ausgangssubstanz in das entsprechende Acetal **26** umzuwandeln, um so lediglich eine Umsetzung der Estergruppierung durch das Amin zu gewährleisten. Allerdings erfolgte bei dem Versuch der Synthese von **26** keine Umsetzung. (siehe **Schema 2**)

Schema 2: *Versuche zur Synthese des Acetals 26*



Aus diesem Grund verwendeten wir zur Synthese des β -Ketolactams **3** ein neues Syntheschema. (siehe **Schema 3**)

Schema 3: Versuch zur Synthese von *N*-Benzyl-2-azaspiro[4.5]-decan-1,6-dion (**3**)



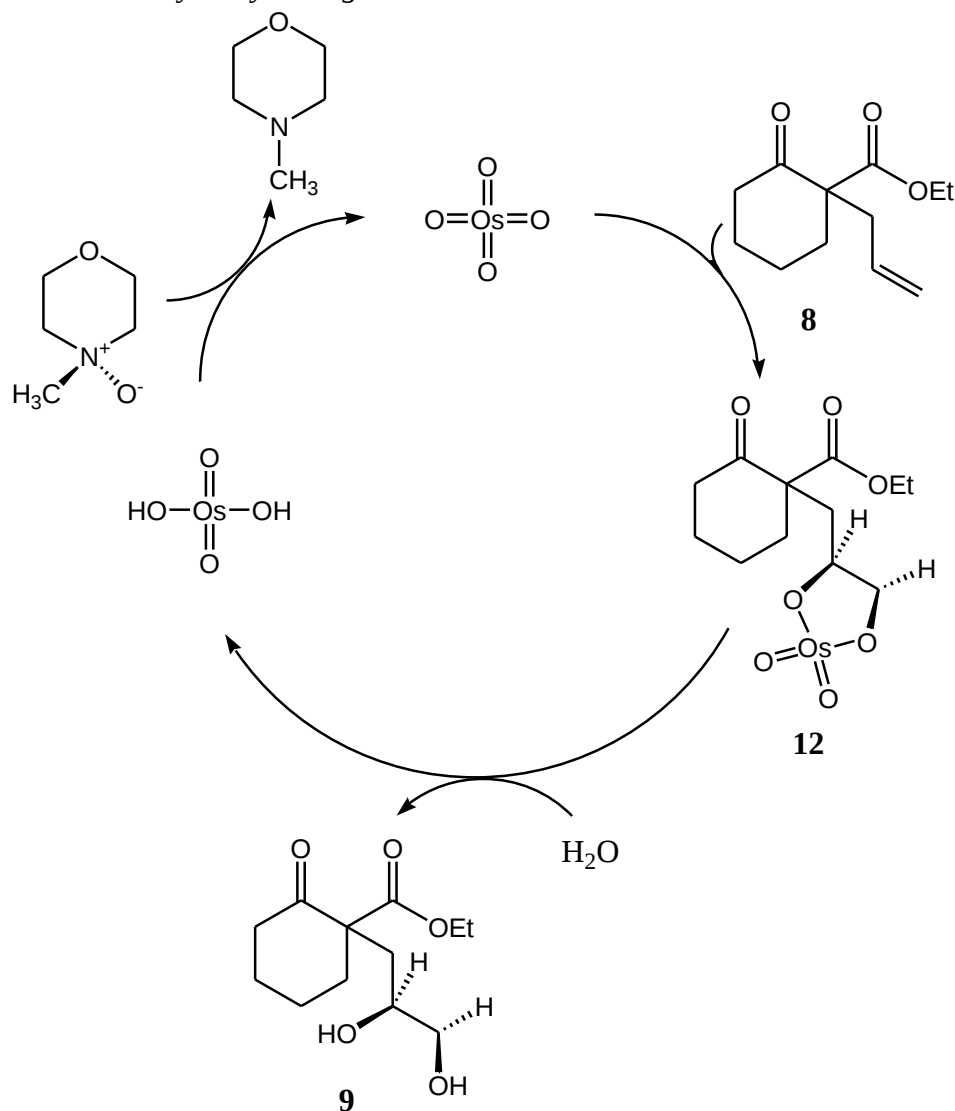
3. Lemieux-Johnson-Oxidation:

Die Lemieux-Johnson-Oxidation dient an sich der Umsetzung von Alkenen zu Aldehyden und besteht aus insgesamt zwei Syntheseschritten, und zwar einer cis-Dihydroxylierung und einer anschließenden oxidativen Spaltung des entstandenen Diols durch die Reaktion mit NaIO_4 .

3.1. Dihydroxylierung vom β -Ketoester **8**:

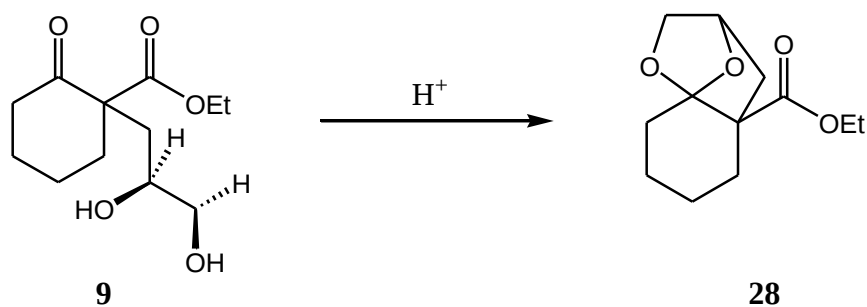
Da die Synthese von cis-Diolen mit Hilfe von KMnO_4 aufgrund dessen Neigung zur „Überoxidation“ äußerst problematisch ist, führten wir diese Reaktion mit Osmiumtetroxid durch. Da letzteres allerdings eine äußerst toxische Substanz ist, verwendeten wir davon nur katalytische Mengen in Form einer 4 %igen wässrigen Lösung. Als Cooxidans fügten wir dem Gemisch N-Methylmorpholin-N-oxid zu. Wie in **Schema 4** zu erkennen ist, folgt der Reaktionsmechanismus einem Kreislauf. Das bedeutet, dass bei der Umsetzung des Edukts **8** zum entsprechenden cis-Diol **9** Osmiumtetroxid reduziert wird. Die dabei anfallende Osmiumsäure wird daraufhin durch N-Methylmorpholin-N-oxid zu Osmiumtetroxid reoxidiert, was so erneut für eine Dihydroxylierung der Alkenteilstruktur von **8** zur Verfügung steht.

Schema 4: *cis*-Dihydroxylierung mit OsO_4



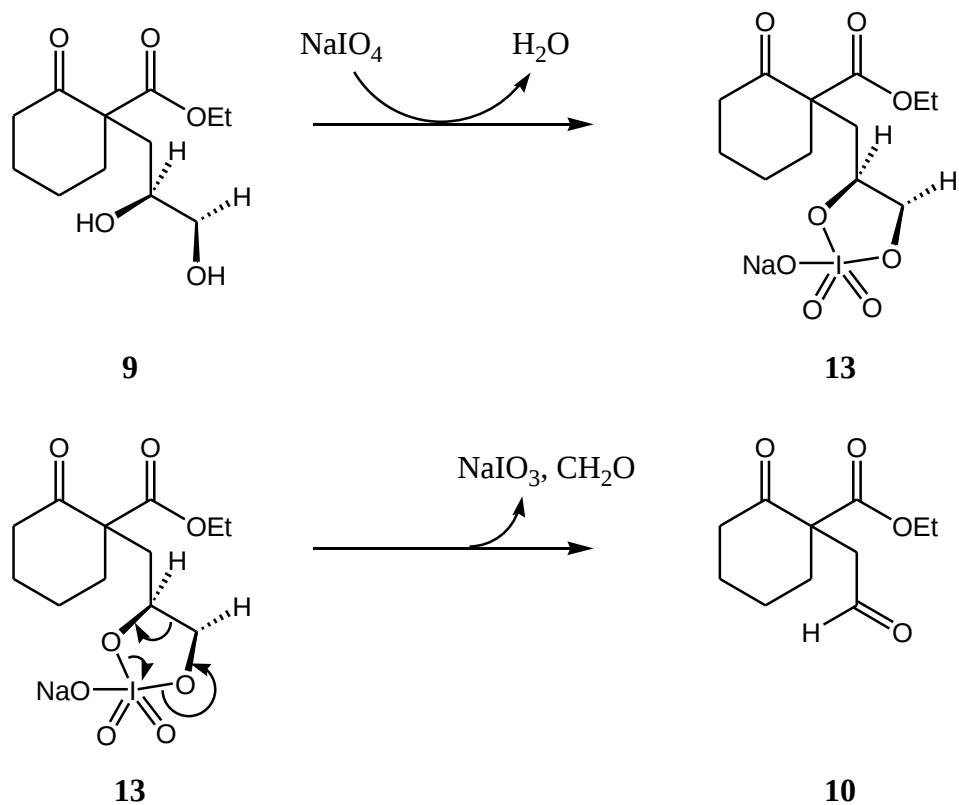
Allerdings ist zu beachten, dass **9** aufgrund seiner Glykol-Teilstruktur im sauren Milieu dazu neigt, intramolekular das cyclische Acetal **28** auszubilden. (siehe **Schema 5**) Dieser Vorgang kann vor allem nach dem Lösen von **9** in CDCl_3 mittels Durchführung von NMR-Messungen genau beobachtet werden.

Schema 5: Ausbildung von **28** im sauren Milieu



3.2. Umsetzung des cis-Diols **9** mit NaIO_4 :

Schema 6: Malaprade-Spaltung mit NaIO_4



Die oxidative Spaltung der Glykol-Teilstruktur von **9** erfolgt unter Verwendung von NaIO_4 , wobei sich wie in **Schema 6** beschrieben ein Diester des Natriumsalzes der Iod(VII)säure als intermediäres Zwischenprodukt (**13**) ausbildet, das spontan unter Freisetzung von Formaldehyd, dem Aldehyd **10** und NaIO_3 zerfällt. Um eine vollständige Umsetzung von **9** bei dieser Reaktion zu erhalten, versetzte ich die Ausgangssubstanz mit einem 2.5fachen Überschuss an NaIO_4 .

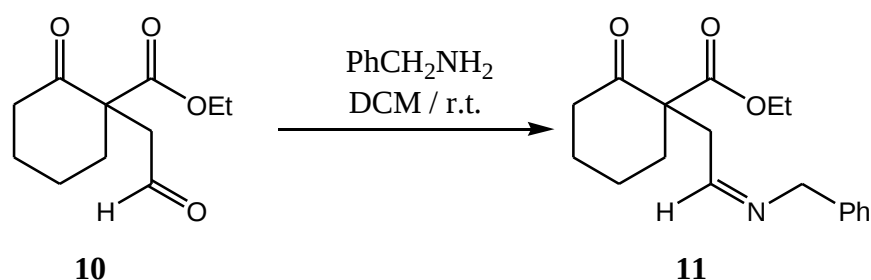
Diese Reaktion wird auch als Malaprade-Spaltung bezeichnet.

Die Ausbildung des angestrebten Aldehyds **10** konnte mittels ^1H -NMR festgestellt werden, wobei das Carbonyl-H der Aldehydteilstruktur eine charakteristische Verschiebung von 9.70 ppm aufweist.

4. Intramolekulare Aminolyse der Esterfunktion:

4.1. Umsetzung mit Benzylamin:

Schema 7: Synthese des Imins 11



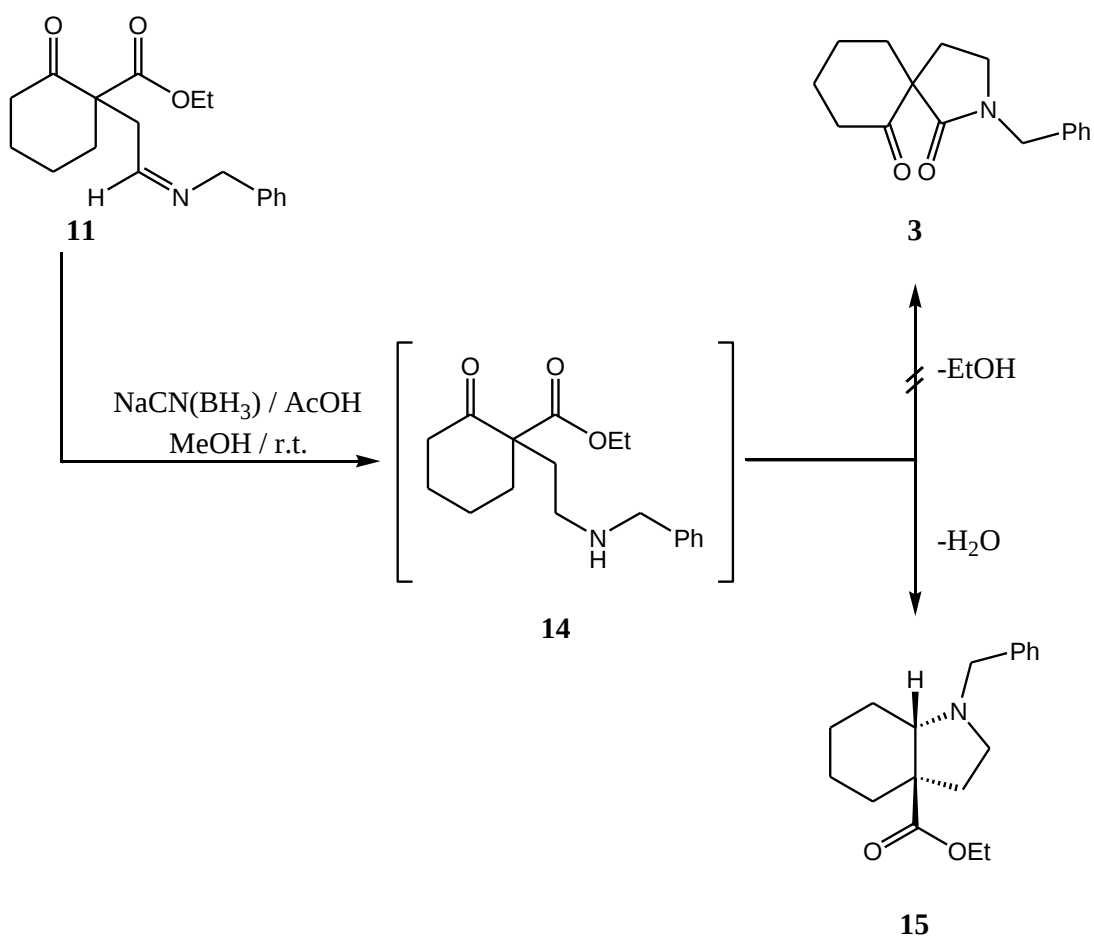
Bei diesem Syntheseschritt wird die Tatsache ausgenutzt, dass ein Aldehyd eine wesentlich höhere Reaktivität aufweist als ein Keton. Die Ursache dafür ist, dass die positive Partialladung des Carbonyl-C durch den +I-Effekt der benachbarten Alkylgruppen vermindert wird, was bei einem Keton aufgrund der beiden am Carbonyl-C gebundenen Kohlenstoffatome stärker ausgeprägt ist als bei einem Aldehyd. Aus diesem Grund kann die Umsetzung eines Aldehyds mit einem Amin oft bereits bei Raumtemperatur ohne Zusatz von einem Katalysator durchgeführt werden, wobei die Reaktionszeit in diesem Fall insgesamt 3 h beträgt. Hauptproblem bei dem entstandenen Imin **11** ist allerdings, dass es nur eine äußerst geringe Stabilität aufweist und der Fortschritt der Synthese daher weder durch die Durchführung eines DC noch durch ein ^1H -NMR überprüft werden kann.

Um also eine Hydrolyse von **11** zu verhindern, musste nach Abschluss der Reaktion das Gemisch ohne weitere Aufarbeitung bei vermindertem Druck bei ca. 35 °C eingedampft und das Rohprodukt direkt für den nächsten Syntheseschritt weiterverwendet werden.

4.2. Versuch zur Synthese des Lactams **3**:

Laut Fujii et al. ist es möglich die vorher beschriebene Schiff'sche Base **11** mithilfe eines Reduktionsmittels, das spezifisch mit der Imin-Funktion und nicht etwa mit dem Keton reagiert, durch eine intramolekulare Aminolyse der Esterfunktion in das spirocyclische Lactam **3** umzusetzen. Wir verwendeten Natriumcyanoborhydrid, bei dem es sich um ein sehr mildes Reduktionsmittel handelt. Die gesamte Reaktion erfolgt unter saurer Katalyse, die durch Zusatz von Eisessig gewährleistet wird. Allerdings kommt es, wie in **Schema 8** beschrieben, nicht zur Ausbildung des angestrebten Lactams, sondern zu einer intramolekularen reduktiven Aminierung der Carbonyl-Funktion. [32]

Schema 8: Versuch zur Herstellung des Lactams **3** mit $\text{NaCN}(\text{BH}_3)$



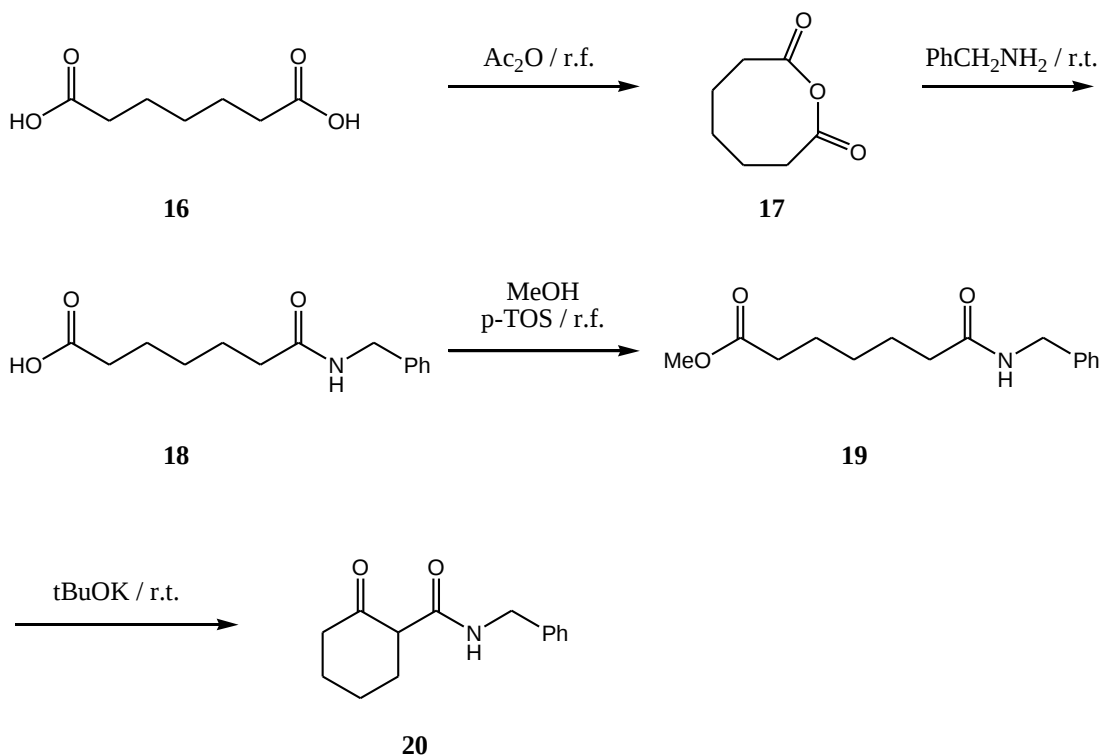
Für die genaue Analyse der Struktur von **15** war es notwendig, neben der Erstellung von eindimensionalen NMR-Spektren zusätzlich eine Interpretation der HMBC- und HSQC-Messungen durchzuführen. So erkennt man aufgrund der zweidimensionalen Aufnahmetechnik mit Hilfe von HSQC-Spektren die Korrelation von Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen, die direkt miteinander verbunden sind. Dagegen dienen HMBC-Spektren mitunter der Untersuchung der Korrelation zwischen Kohlenstoffen und Wasserstoffen, die über zwei bis drei Atombindungen aneinander gebunden sind. Durch die zusätzliche Erstellung von Protonenkorrelationspektren (COSY) erhält man insgesamt Aufschluss über die genaue Konformation der Verbindung. [33]

So konnte bei **15** festgestellt werden, dass die beiden benachbarten Chiralitätszentren cis zueinander konfiguriert sind.

Da also auch **Schema 3** letzten Endes nicht zum erhofften Produkt **3** geführt hat, versuchten wir über **Schema 9** das am Stickstoffatom benzylierte β -Ketoamid **20** ausgehend von der Heptandisäure (Pimelinsäure) herzustellen. Mit **20** wäre es anschließend möglich gewesen, nach der Alkylierung des von der Carboxamidfunktion α -ständigen Kohlenstoffatoms ähnlich wie in **Schema 3** das β -Ketolactam **3** zu synthetisieren.

5. Versuch zur Synthese des β -Ketoamid **20** ausgehend von der Heptandisäure:

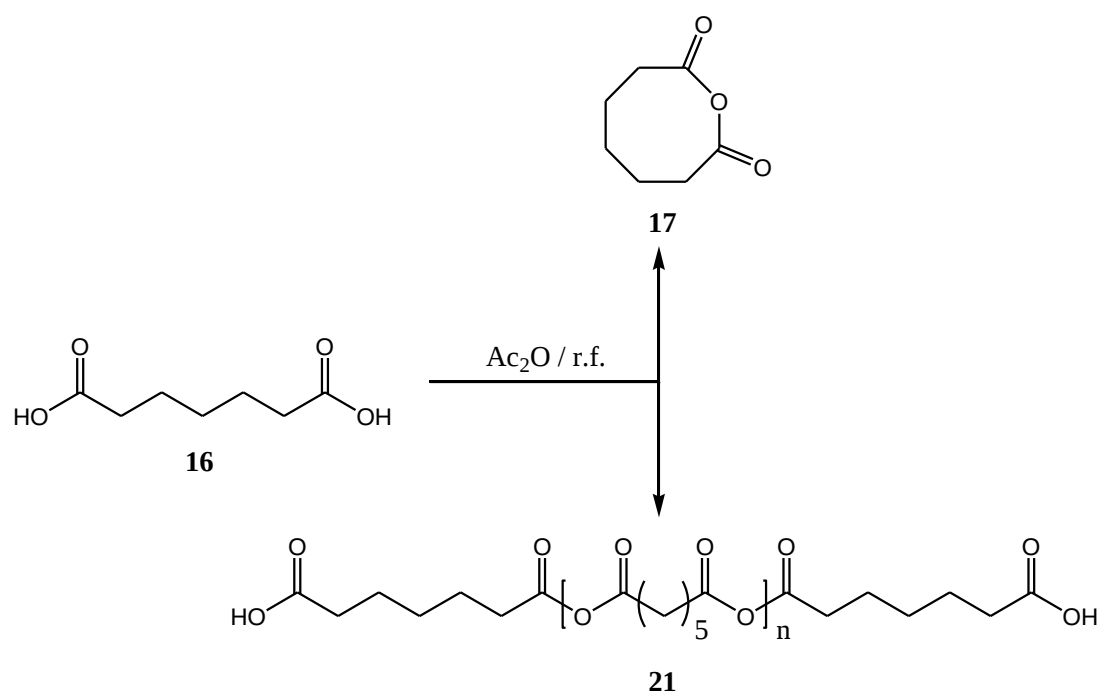
Schema 9: Versuch zur Herstellung des β -Ketoamid **20**



Die Synthese des Heptandisäureanhydrid (**17**) erfolgt, wie in **Schema 9** beschrieben unter Verwendung von Acetanhydrid, wobei diese Reaktion durch einen äußerst raschen Ablauf charakterisiert ist, sodass das Gemisch lediglich 2 h unter Rückfluss erhitzt werden muss. Allerdings ist es besonders wahrscheinlich, dass das Edukt **16** nicht vollständig durch eine intramolekulare Anhydridbildung umgesetzt wird. Der Grund dafür ist vor allem, dass sich Ringsysteme, die aus mehr als sechs Ringgliedern bestehen, nur relativ schwer ausbilden, sodass neben dem achtgliedrigen Pimelinsäureanhydrid in hohem Ausmaß auch zusätzlich ein Polymer der Pimelinsäure entsteht. (siehe **Schema 10**) Aufgrund der selben Strukturmerkmale von **17** und **21** sind diese beiden Substanzen im ^1H -NMR auch nicht voneinander zu unterscheiden. Die Umsetzung der Pimelinsäure zu **17** und **21** zeigt sich im ^1H -NMR hauptsächlich in einer Steigerung der Verschiebung aller Protonensignale um max. 0.1 ppm.

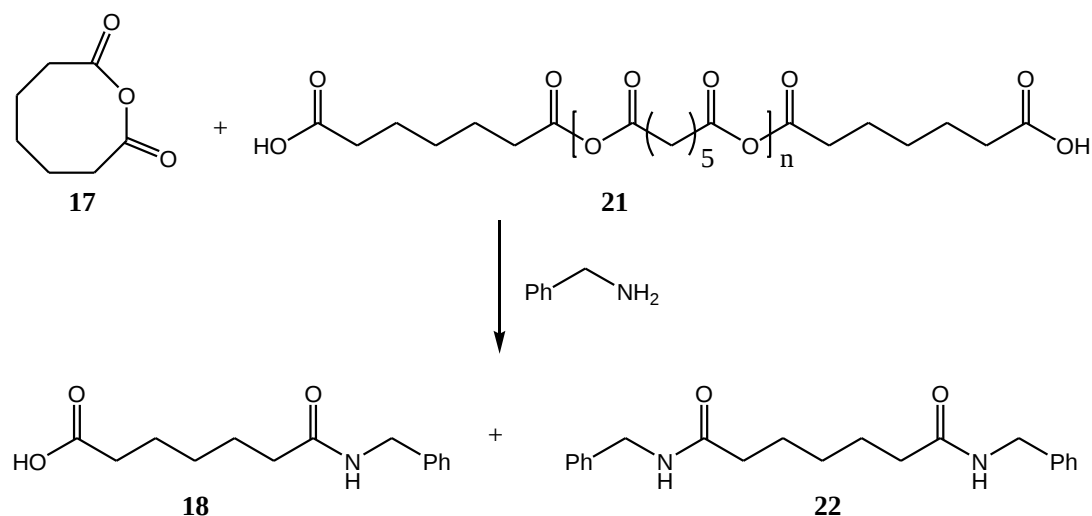
Besonders essentiell ist, dass nach dieser Reaktion der Acetanhydrid so gut wie nur möglich bei vermindertem Druck entfernt wird. Das konnte durch Zusatz von 10-20 ml Toluol zum eingeeengten Produkt und anschließendem Eindampfen am Rotavapor gewährleistet werden, wobei dieser Vorgang zwei- bis dreimal wiederholt wurde.

Schema 10: Synthese des Pimelinsäureanhydrid **17** und des Polymers **21**



Die Tatsache, dass sich bei dieser Synthese als zusätzliches Produkt auch das oben beschriebene Polymer ausbildet, ist mitunter auch beim nächsten Syntheseschritt zu erkennen. Es kommt nämlich bei der Umsetzung der in **Schema 10** angeführten Produkte mit Benzylamin nicht nur zur Bildung des Monoamids der Pimelinsäure (**18**), sondern auch zur Entstehung signifikanter Mengen des Diamids **22** (siehe **Schema 11**), was bei einem Vorliegen des reinen Anhydrid (**17**) nicht der Fall wäre.

Schema 11: Synthese des Pimelinsäuremonoamid (**18**) und des Pimelinsäurediamid (**22**)



Da die Isolierung von **22** bereits in einer anderen Diplomarbeit beschrieben wird, erläutere ich die Vorgehensweise bei der Gewinnung des Monoamid **18**.

Dabei werden hauptsächlich die sauren Eigenschaften des Monoamid **18** ausgenutzt, indem das nach Ablauf der Reaktion entstandene Rohprodukt (siehe **Schema 11**) direkt mit einer gesättigten wässrigen Na_2CO_3 -Lösung ausgeschüttelt wird. **18** gelangt dabei in die wässrige Phase. Anschließend wird die Löslichkeit von **18** in der wässrigen Lösung durch Ansäuern mit 2 N Salzsäure herabgesetzt, woraufhin mit Dichlormethan extrahiert wird. Nach dem Eindampfen der organischen Phase erhält man **18** als Reinsubstanz. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum besitzt das NH-Signal eine Verschiebung von 5.99 ppm.

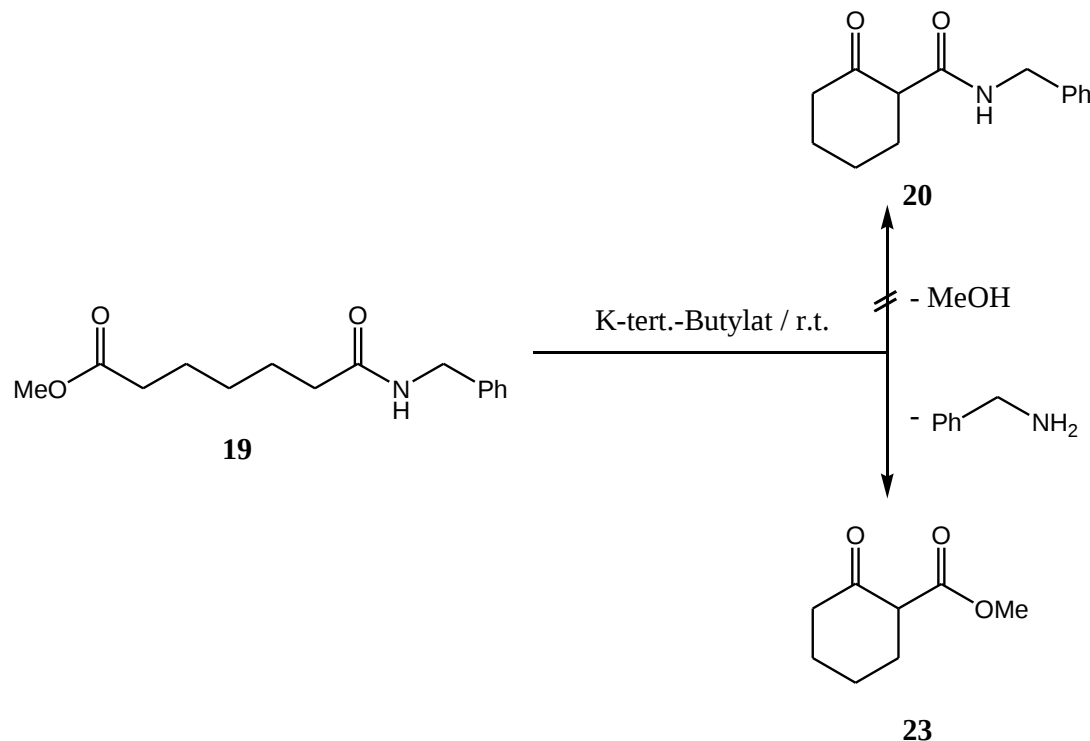
Der nächste Syntheseschritt besteht aus der Veresterung der freien Carbonsäurefunktion von **18**. Dabei ist es nötig eine ausreichend starke saure Katalyse zu gewährleisten. Aus diesem Grund verwendeten wir die p-Toluolsulfonsäure, die sich vor allem auch dadurch auszeichnet, dass sie nach Ablauf der Synthese durch schlichtes Ausschütteln mit einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung abgetrennt werden kann. Die Veresterung führten wir mit Methanol durch, wobei das dabei frei werdende Reaktionswasser mit Hilfe eines Wasserabscheiders abgetrennt werden konnte. Der Erfolg der Reaktion zeigt sich im $^1\text{H-NMR}$, wobei ein äußerst signifikantes Signal der OMe-Gruppe in Form eines Singulets bei einer Verschiebung von 3.64 ppm zu erkennen ist.

Als nächstes versuchten wir den entstandenen Ester **19** durch eine Dieckmann-Kondensation in das entsprechende β -Ketoamid **20** überzuführen. Als Referenz verwendeten wir dafür die Studie von Sibi et al., wobei allerdings hier im Gegensatz zu unserer Ausgangssubstanz (**19**) das Stickstoffatom der Amid-Teilstruktur aufgrund des zusätzlichen Vorliegens einer Methoxygruppe eine tertiäre Struktur aufweist und folglich nicht durch Zusatz einer Base, wie in unserem Fall Kalium-tert.-Butylat deprotoniert werden kann. [34]

Das Reaktionsgemisch wurde insgesamt 1 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei aufgrund des Vorliegens von Nebenprodukten eine Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie durchgeführt werden musste.

Laut $^1\text{H-NMR}$ handelt es sich bei dem entstandenen Hauptprodukt allerdings nicht um das angestrebte β -Ketoamid **20**, sondern um den β -Ketoester **23**. Das zeigt sich vor allem durch das OMe-Signal bei einer Verschiebung von 3.71 ppm, wobei allerdings weder ein Peak des Amid-H noch ein Aromatensignal zu erkennen ist.

Schema 12: Versuch zur Synthese des β -Ketoamid **20** mit Kalium-tert.-Butylat

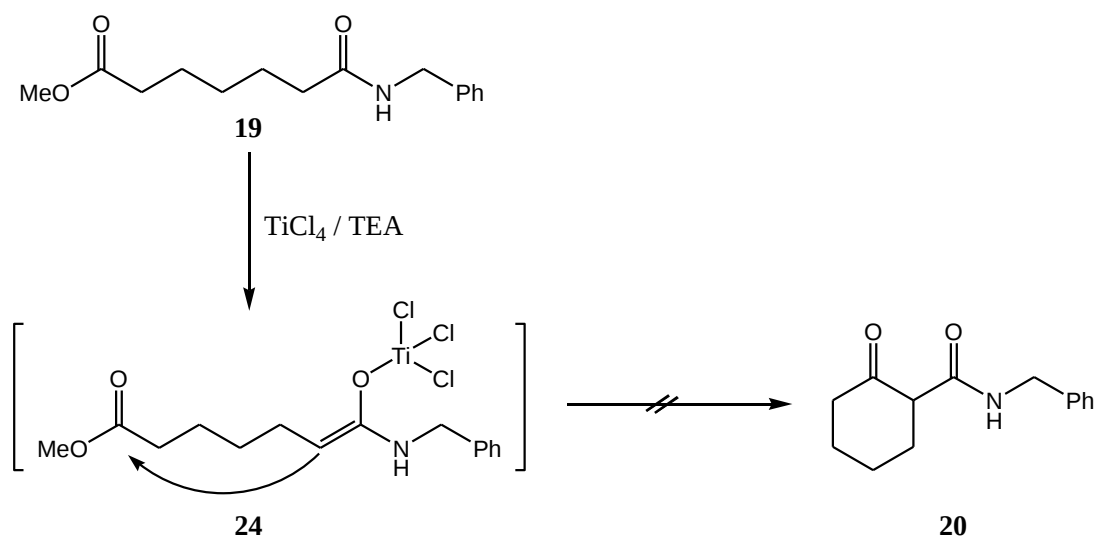


Aus diesem Grund versuchten wir anstelle von Kalium-tert.-Butylat als Katalysator eine Lewisäure zu verwenden, wobei wir jeweils einen Syntheseansatz mit Aluminiumchlorid und einen mit Titan(IV)chlorid machten.

Bei dieser Reaktion kommt es wie in **Schema 13** beschrieben zwischen dem Sauerstoffatom der Carboxamidfunktion und der Lewisäure zur Ausbildung eines Komplexes, wodurch so eine Kondensationsreaktion begünstigt wird.

Um eine unkontrollierbare Reaktion zu verhindern, wurde in beiden Fällen das Gemisch auf eine Temperatur von 0 °C gekühlt. Es erfolgte weder bei Verwendung von Aluminiumchlorid noch von Titan(IV)chlorid eine Umsetzung zum angestrebten Produkt **20**.

Schema 12: Versuch zur Synthese des β -Ketoamid **20** mit Titan(IV)chlorid



Zusammenfassung:

Die Hauptaufgabe dieser Diplomarbeit war die Entwicklung von Syntheseversuchen zur Gewinnung spirocyclischer GABA-Analoga mit einer 2-Azaspiro[4.5]-decan-Struktur.

Dabei begannen wir mit der Alkylierung des Carbonsäureester **1** mit Allylbromid. Das alkylierte Produkt **8** wurde mittels einer Lemieux-Johnson Oxidation zum entsprechenden Aldehyd **10** umgesetzt. Durch die Reaktion von **10** mit Benzylamin erhielten wir das Imin **11**. Daraufhin versuchten wir das Lactam **3** unter Verwendung von $\text{NaCN}(\text{BH}_3)$, bei dem es sich um ein mildes Reduktionsmittel handelt, zu synthetisieren. Stattdessen entstand dabei allerdings durch eine intramolekulare reduktive Aminierung der Carbonylfunktion das Amin **15** als Hauptprodukt.

Daher versuchten wir ein neues Syntheschema ausgehend von der Pimelinsäure (**16**) zu entwickeln. Als erstes synthetisierten wir das cyclische Pimelinsäureanhydrid (**17**). Allerdings entstand bei dieser Reaktion zusätzlich ein Pimelinsäurepolymer (**21**). Anschließend stellten wir unter Verwendung von Benzylamin das Monoamid der Pimelinsäure (**18**) her. Die Synthese des Carbonsäureester **19** erfolgte mit Hilfe von Methanol und p-TOS. Anschließend versuchten wir durch Dieckmann-Kondensation das β -Ketoamid **20** mit Kalium-tert.-Butylat als Katalysator herzustellen, wobei allerdings der β -Ketoester **23** als Hauptprodukt entstand.

Abstract:

The main task of that diploma thesis was the development of experiments for the synthesis of spirocyclic GABA-analogues with a 2-Azaspiro[4.5]decane-structure. First we started with the alkylation of the Carboxylic Ester **1** with Allyl bromide. The alkylated product **8** was oxidized to the corresponding Aldehyde **10** by a Lemieux-Johnson oxidation. By the reaction of **10** with Benzylamine we obtained the Imine **11**. After that we tried to synthesize the Lactam **3** by use of NaCN(BH₃) as a moderate reducing agent. But the reaction finally resulted in an intramolecular amination of the Carbonyl group yielding the Amine **15** as the main product.

For that reason we tried to develop a new synthesis pathway by using pimelic acid (**16**) as the first reactant. First we synthesized the cyclic anhydride of the Pimelic acid (**17**). A further product of that reaction was a polymer of the pimelic acid (**21**). After that we produced the Monoamide of the pimelic acid (**18**) by using Benzylamine. The synthesis of the Carboxylic Ester **19** was achieved by using Methanol and PTSA. Then we tried to synthesize the β -Ketoamide **20** by Dieckmann-Condensation with Potassium tert.-butoxide as a catalyst, but we obtained the β -Ketoester **23** as the main product.

Experimenteller Teil:

Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker Avance 400, Kernresonanz-spektrometer aufgenommen. Die Eichung der ppm-Skala erfolgte anhand des Lösungsmittel-signals für CHCl_3 [$\delta(^1\text{H}) = 7.26 \text{ ppm}$] bzw. CDCl_3 [$\delta(^{13}\text{C}) = 77.00 \text{ ppm}$].

Die Dünnschichtchromatographie (DC) wurden mit Hilfe von Fertigfolien der Firma Merck durchgeführt.

Für die Flash-Chromatographie wurde Kieselgel der Firma Merck (Si 60, 40-63 μm) verwendet. Die notwendige Menge an Säulenmaterial wird in ca. vier Teilen Fließmittel suspendiert und daraufhin in die Säule gefüllt. Die mobile Phase wird so lange durch das Kieselgel mit einem Druck von ca. 0.5 bar gepresst bis die stationäre Phase luftblasenfrei ist. Das zu trennende Gemisch wird zunächst in einer 2-3fachen Menge Fließmittel gelöst und anschließend gleichmäßig auf die Oberfläche des Kieselgels aufgetragen. Nach Hinzufügen von etwas Seesand kann die Auftrennung gestartet werden.

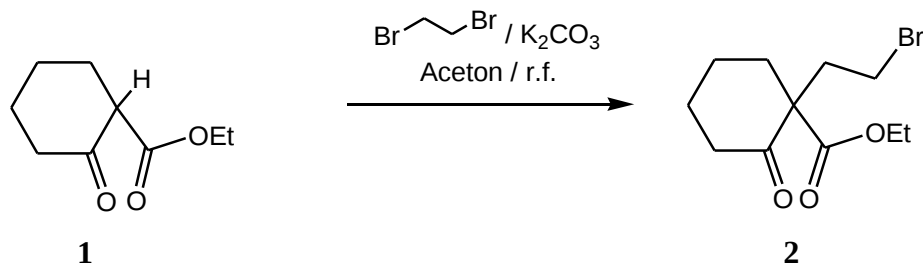
Das Trocknen von Tetrahydrofuran erfolgt durch Zusatz von Natrium. Das Gemisch wird so lange in einer Absolutierdestille unter Rückfluss erhitzt, bis es durch Hinzufügen von Benzophenon intensiv blau gefärbt wird.

Alle restlichen Lösungsmittel, die verwendet wurden, wurden mittels Zusatz von einem Molekularsieb (3 Å) getrocknet.

Alle bei den Synthesen anfallenden Abfälle wurden ordnungsgemäß gesammelt und von der Firma Schalkhammer den Entsorgungsbetrieben Simmering übergeben.

1. Versuche zur Synthese vom β -Ketoester 2:

Versuch zur Alkylierung vom Carbonsäureester **1** unter Verwendung von K_2CO_3 :

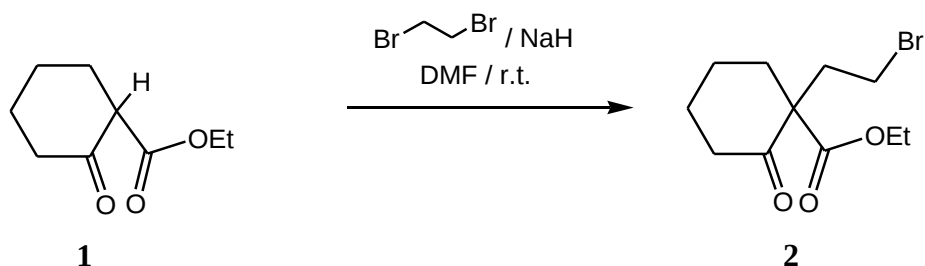


Der Carbonsäureester **1** (24.22 g, 142.5 mMol), 1,2-Dibromethan (144.64 g, 769.4 mMol) und K_2CO_3 (45.56 g, 329.7 mMol) werden in 300 ml Aceton suspendiert und 15 h unter Rückfluss erhitzt.

Nach dem Abkühlen werden der entstandene Niederschlag und das überschüssige K_2CO_3 abgenutscht und zusätzlich mit 30 ml Aceton gewaschen. Das Filtrat wird bei vermindertem Druck am Rotavapor eingedampft, wobei eine farblose Flüssigkeit zurückbleibt. (Auswaage: 46.09 g)

Im 1H -NMR war zu erkennen, dass bei dieser Reaktion eine Umsetzung zu **2** von lediglich 15 % stattfand.

Versuch zur Alkylierung vom Carbonsäureester **1** unter Verwendung von Natriumhydrid bei Raumtemperatur:

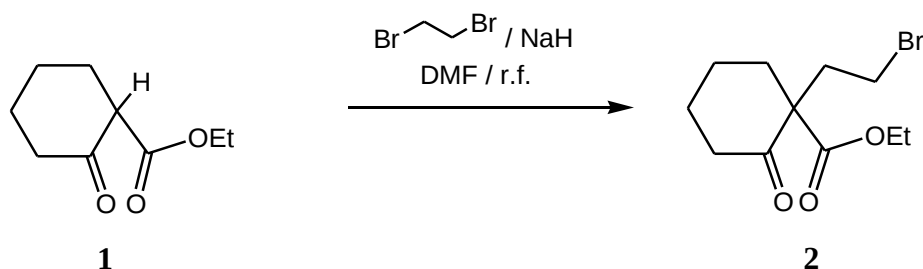


Natriumhydrid (95 %, 0.33 g, 12.94 mMol) wird unter Argon in einem Metallierkolben einmal mit Petrolether gewaschen. Anschließend werden 20 ml Dimethylformamid und der Carbonsäureester **1** (1.99 g, 11.72 mMol) zugesetzt. Dieses Gemisch lässt man 15 min. rühren. Anschließend gibt man 1,2-Dibromethan (11.31 g, 60.24 mMol) dazu und lässt insgesamt 14 h rühren.

Das Reaktionsgemisch wird daraufhin in 30 ml Dichlormethan (trocken) aufgenommen und dreimal mit je 30 ml wässriger Ammoniumchloridlösung (5 %) ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Zurück bleibt eine farblose Flüssigkeit. (Auswaage: 2.10 g)

Laut ^1H -NMR konnte in dieser Reaktion keine nennenswerte Umsetzung des Edukts **1** festgestellt werden.

Versuch zur Alkylierung vom Carbonsäureester **1** unter Verwendung von Natriumhydrid unter Rückfluss:



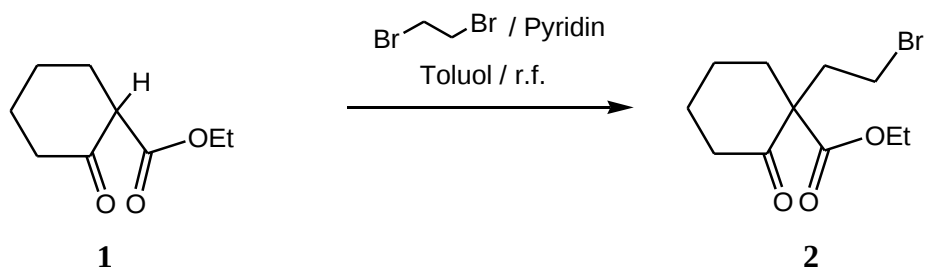
Natriumhydrid (95 %, 0.330 g, 12.94 mMol) wird unter Argon in einem Metallierkolben einmal mit Petrolether gewaschen. Anschließend werden 20 ml Dimethylformamid und der Carbonsäureester **1** (2.03 g, 11.94 mMol) zugesetzt. Dieses Gemisch lässt man 15 min. rühren.

Nach Zusatz von 1,2-Dibromethan (4.38 g, 23.30 mMol) wird 30 min. unter Rückfluss erhitzt.

Nach dem Abkühlen des Reaktionsansatzes werden 20 ml H₂O (dest.) hinzugefügt und dreimal mit je 20 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden gesammelt, einmal mit 20 ml wässriger NaHCO₃-Lösung (gesättigt) und einmal mit 20 ml wässriger NaCl-Lösung (gesättigt) gewaschen. Die Etherphase wird anschließend mit Na₂SO₄ getrocknet und bei vermindertem Druck eingedampft. Zurück bleibt eine farblose Flüssigkeit. (Auswaage: 2.21 g).

Laut ¹H-NMR erfolgte eine Umsetzung von lediglich 13 %.

Versuch zur Alkylierung vom Carbonsäureester **1** unter Verwendung von Pyridin:



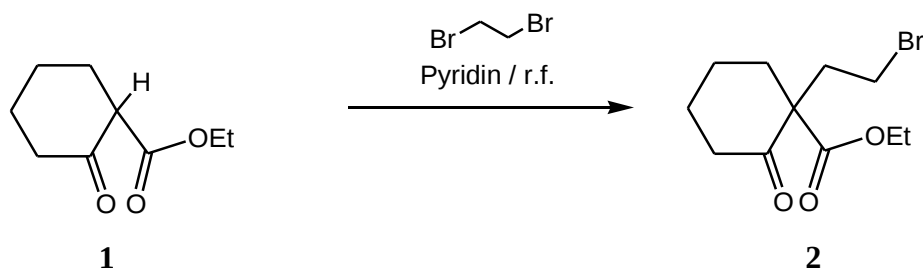
Der Carbonsäureester **1** (2.42g, 14.24 mMol) wird mit 1,2-Dibromethan (11.79 g, 62.71 mMol) in 50 ml Toluol gelöst. Anschließend wird Pyridin (4.66 g, 58.91 mMol) zugesetzt und 16 h unter Rückfluss erhitzt.

Das Reaktionsgemisch wird nach dem Abkühlen bei vermindertem Druck eingedampft.

Zurück bleibt eine farblose Flüssigkeit. (Auswaage: 2.46 g).

Laut ¹H-NMR erfolgte hier eine Umsetzung von 14.5 %.

Versuch zur Alkylierung vom Carbonsäureester **1** unter Verwendung von Pyridin als Lösungsmittel:



Der Carbonsäureester **1** (2.12 g, 12.47 mMol) wird mit 1,2-Dibromethan (6.68 g, 35.51 mMol) in 10 ml Pyridin gelöst und unter Rückfluss erhitzt.

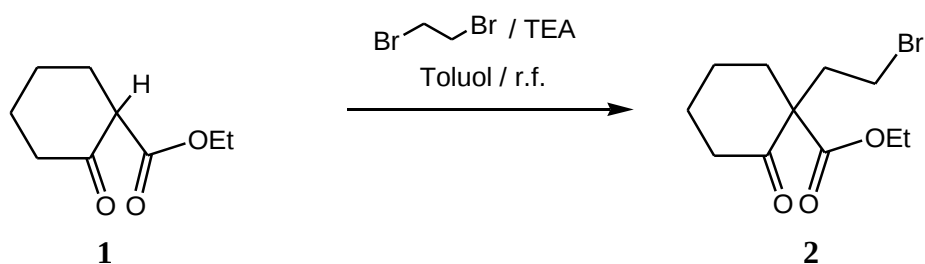
Kommentar: Da sich bereits nach ca. 15 min. N,N-Bis(2'-Bromethyl)-pyridinium in Form eines dunkelbraunen Niederschlags gebildet hat, musste die Reaktion unterbrochen werden.

Der entstandene Niederschlag wird in 20 ml H_2O (dest.) gelöst und dreimal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden gesammelt, einmal mit 20 ml wässriger NaCl-Lösung (gesättigt) gewaschen und anschließend mit Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck am Rotavapor entfernt.

Zurück bleibt eine farblose Flüssigkeit. (Auswaage: 2.31 g).

Laut ^1H -NMR erfolgte bei diesem Reaktionsansatz keine Umsetzung.

Versuch zur Alkylierung vom Carbonsäureester **1** unter Verwendung von Triethylamin:



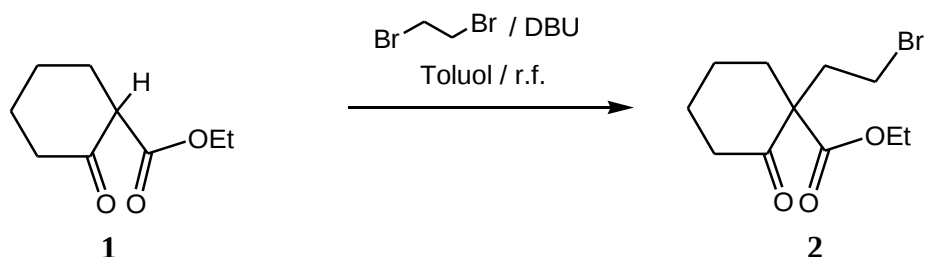
Der Carbonsäureester **1** (2.00 g, 11.76 mMol) wird mit 1,2-Dibromethan (11.18 g, 59.52 mMol) und Triethylamin (5.94 g, 58.70 mMol) in 50 ml Dichlormethan gelöst und 16 h unter Rückfluss erhitzt.

Nach Abkühlen wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.

Zurück bleibt ein farbloser Feststoff, der 12 h im Exsiccator getrocknet wird. (Auswaage: 1.85 g)

Im ^1H -NMR konnte das gewünschte Produkt **2** nicht nachgewiesen werden.

Versuch zur Alkylierung vom Carbonsäureester **1** unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en:



Der Carbonsäureester **1** (2.01 g, 11.79 mMol) wird mit 1,2-Dibromethan (6.76 g, 35.99 mMol) in 50 ml Toluol gelöst.

Nach Zusatz von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (5.42 g, 35.59 mMol) wird das Reaktionsgemisch 16 h unter Rückfluss erhitzt.

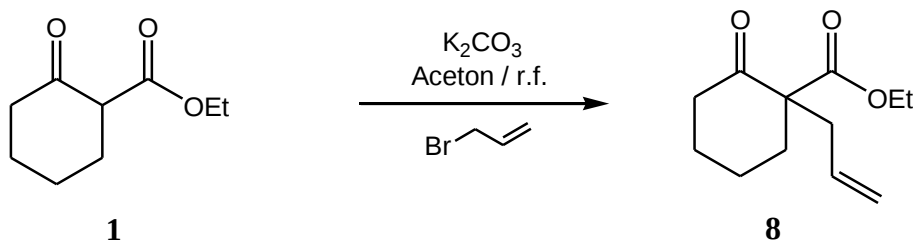
Nach Abkühlen wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.

Beim Rohprodukt (Auswaage: 7.21 g) handelt es sich um eine farblose leicht ölige Flüssigkeit.

Laut ^1H -NMR erfolgte keine Umsetzung zum angestrebten Produkt **2**.

2. Synthese vom β -Ketoester **8**:

*Synthese vom β -Ketoester **8** mit K_2CO_3 als basische Komponente:*

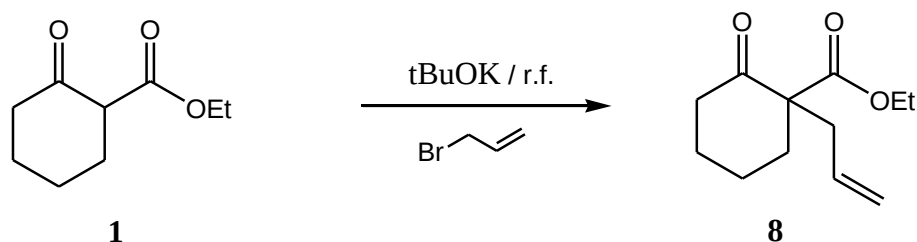


Der β -Ketoester **1** (2.01 g, 11.81 mMol), Allylbromid (1.41 g, 11.79 mMol) und K_2CO_3 (45.56 g, 329.7 mMol) werden in 50 ml Aceton suspendiert und 21 h unter Rückfluss erhitzt. Das überschüssige K_2CO_3 und der entstandene Niederschlag werden abgenutscht. Anschließend wird mit 15 ml Aceton nachgewaschen.

Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck entfernt. Zurück bleibt **8** als blassgelbe ölige Flüssigkeit (Auswaage: 3.03 g).

Laut 1H -NMR zeigte sich eine 87.5 %ige Umsetzung.

Synthese vom β -Ketoester **8** mit Kalium-tert.-Butylat als basische Komponente:

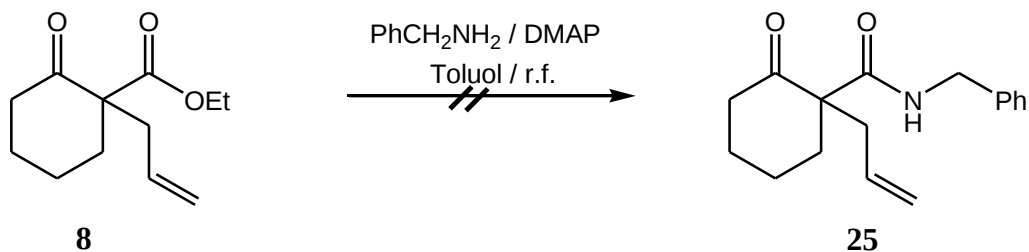


Der β -Ketoester **1** (2.01 g, 11.76 mMol) wird unter Argon-Schutzatmosphäre in 20 ml THF (trocken) gelöst. Anschließend werden Allylbromid (1.59 g, 13.10 mMol) und Kalium-tert.-Butylat (1.45 g, 12.95 mMol) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wird 16 h unter Rückfluss erhitzt und nach Abkühlen am Rotavapor eingedunstet. Der Rückstand wird in 20 ml 1 M HCl aufgenommen und dreimal mit je 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden gesammelt, einmal mit 30 ml wässriger NaCl-Lösung (gesättigt) nachgewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck entfernt. Zurück bleibt **8** als eine blassgelbe ölige Flüssigkeit (Auswaage: 2.06 g).

Laut ^1H -NMR erfolgte eine 100 %ige Umsetzung.

3. Versuche zur Aminolyse vom β -Ketoester **8**:

*Versuch zur Aminolyse vom β -Ketoester **8** unter Verwendung von DMAP:*

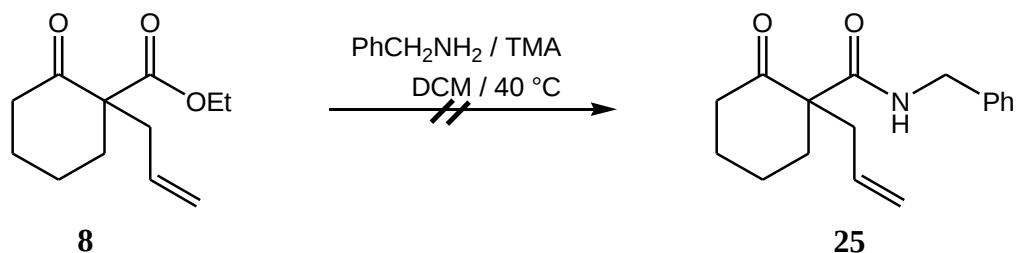


Der β -Ketoester **8** (3.03 g, 14.42 mMol) wird zusammen mit Benzylamin (3.15 g, 29.44 mMol) und DMAP (0.60 g, 4.81 mMol) in Toluol gelöst und 15 h unter Rückfluss erhitzt. Das dabei entstehende Reaktionswasser wird mit Hilfe eines Wasserabscheiders in Form eines azeotropen Gemisches mit Toluol entfernt, wobei das abgelassene Lösungsmittel stets durch Zusatz von frischem Toluol zum Reaktionsgemisch ersetzt wird.

Nach Abkühlen wird das Lösungsmittel am Rotavapor entfernt und das Rohprodukt direkt für die ^1H -NMR-Messung verwendet. (Auswaage: 4.60 g)

Es konnte bei diesem Reaktionsansatz keine Umsetzung zu **25** festgestellt werden.

Versuch zur Aminolyse vom β -Ketoester **8** unter Verwendung von TMA:

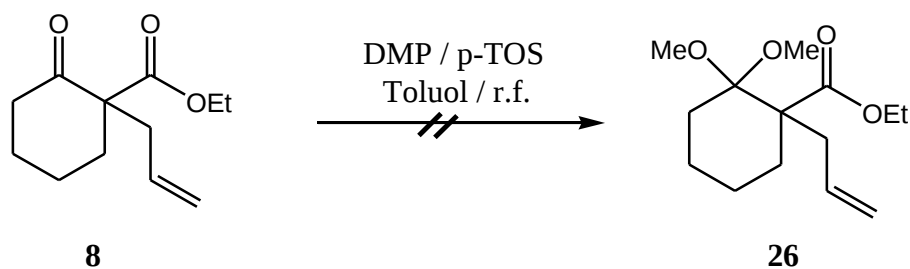


Benzylamin (0.56 g, 5.23 mMol) wird unter Argon in 10 ml Dichlormethan gelöst. Anschließend wird tropfenweise Trimethylaluminium (2M in Toluol, 2.38 ml, 4.76 mMol) hinzugegeben und insgesamt 15 min. gerührt. Daraufhin setzt man dem Gemisch langsam den β -Ketoester **8** (0.50 g, 2.38 mMol) zu und lässt bei 40°C 14 h rühren.

Der Reaktionsansatz wird mit 10 ml 2 N HCl gequenchet und dreimal mit je 20 ml Dichlormethan extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet und bei vermindertem Druck eingedampft. Zurück bleibt ein gelber Feststoff der für ca. 12 h im Exsiccator getrocknet wird. (Auswaage: 0.75 g)

Im ^1H -NMR konnte nur eine äußerst schwache Umsetzung zu **25** festgestellt werden.

Versuch zur Synthese des Acetals **26** unter Verwendung von DMP:

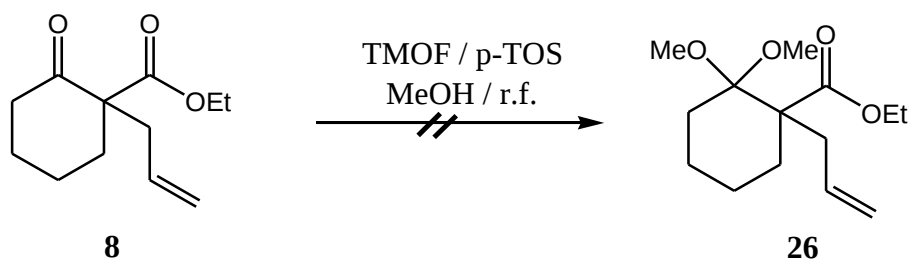


Der β -Ketoester **8** (0.52 g, 2.46 mMol) wird mit Dimethoxypropan (0.25 g, 2.41 mMol) und p-Toluolsulfonsäure (0.02 g, 0.12 mMol) in 50 ml Toluol gelöst und 16 h unter Rückfluss erhitzt.

Nach Abkühlen wird der Ansatz direkt bei vermindertem Druck eingedampft. Zurück bleibt eine braune viskose Flüssigkeit. (Auswaage: 0.61 g)

Die Vermessung des Rohprodukts mittels ^1H -NMR ergab, dass bei diesem Ansatz keine Umsetzung zu **26** erfolgte.

Versuch zur Synthese des Acetals **26** unter Verwendung von TMOF:



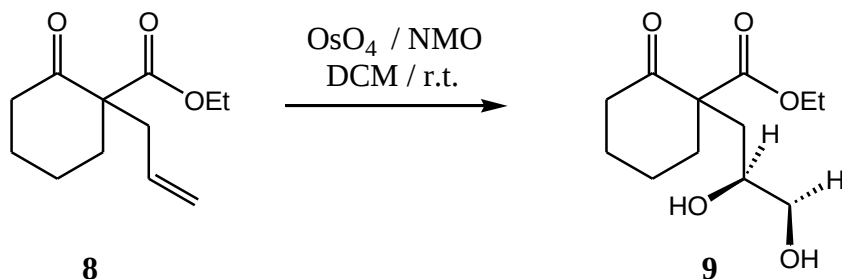
Der β -Ketoester **8** (0.57 g, 2.71 mMol) wird mit Trimethoxymethan (0.25 g, 2.38 mMol) und p-Toluolsulfonsäure (0.02 g, 0.12 mMol) in 30 ml Methanol gelöst und 16 h unter Rückfluss erhitzt.

Nach Abkühlen wird der Ansatz direkt bei vermindertem Druck eingedampft. Zurück bleibt eine hellbraune Flüssigkeit. (Auswaage: 0.69 g)

Die Vermessung des Rohprodukts mittels $^1\text{H-NMR}$ ergab, dass bei diesem Ansatz keine Umsetzung zu **26** erfolgte.

4. Versuch zur Synthese vom Lactam 3:

1-(2',3'-Dihydroxypropyl)-2-oxocyclohexancarbonsäureethylester (9):



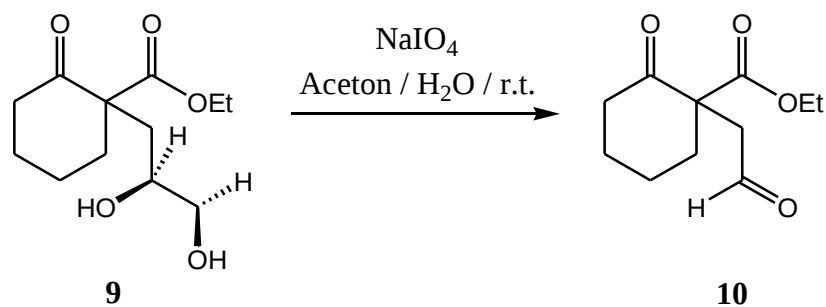
Der β -Ketoester **8** (1.01 g, 4.81 mMol) wird zusammen mit N-Methylmorpholin-N-oxid (1.60 g, 13.68 mMol) in 30 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit Osmiumtetroxid (4%, 0.43 g, 0.068 mMol) versetzt.

Das Reaktionsgemisch wird 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zusatz von 20 ml wässriger Na_2SO_3 -Lösung (gesättigt) wird für weitere 20 min. gerührt.

Anschließend wird der Reaktionsansatz mit 20 ml H_2O versetzt und dreimal mit je 20 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die gesammelten organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet und bei vermindertem Druck eingedampft.

Zurück bleibt **9** als eine blassgelbe Flüssigkeit (Auswaage: 1.12 g, 95.4 %).

2-Oxo-1-(2'-oxoethyl)-cyclohexancarbonsäureethylester (**10**):

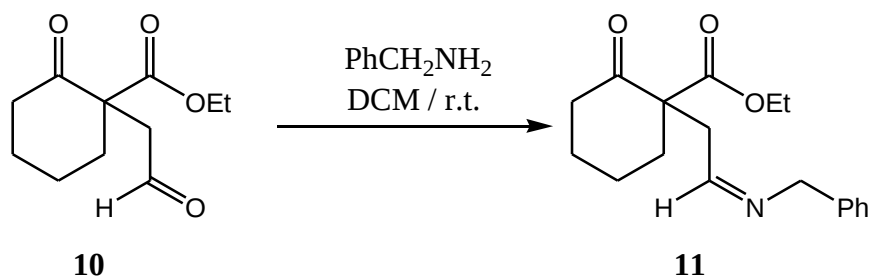


Das cis-Diol **9** (1.12 g, 4.57 mMol) wird in einer Mischung aus 100 ml Aceton und 20 ml H₂O gelöst. Anschließend wird NaIO₄ (2.19 g, 10.23 mMol) hinzugefügt und 13 h bei Raumtemperatur gerührt.

Der Reaktionsansatz wird anschließend bei vermindertem Druck eingeeengt, mit 50 ml H₂O versetzt und dreimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden einmal mit 40 ml wässriger NaCl-Lösung (gesättigt) gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck entfernt.

Zurück bleibt **10** als eine gelbe Flüssigkeit (Auswaage: 0.92 g, 94.9 %).

1-(N-Benzyliminoethyl)-2-oxocyclohexancarbonsäureethylester (11):



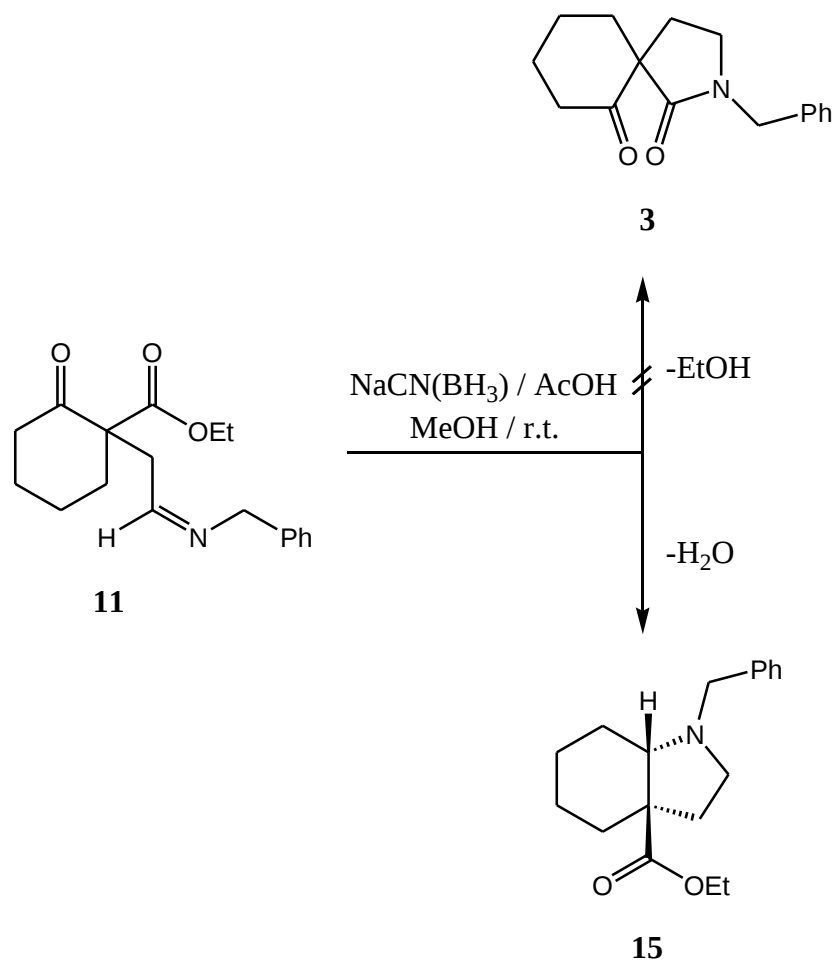
Der Aldehyd **10** (0.57 g, 2.63 mMol) wird mit Benzylamin (0.32 g, 2.99 mMol) in Dichlormethan gelöst und unter Argon für 2 h gerührt.

Anschließend wird das Lösungsmittel direkt am Rotavapor bei vermindertem Druck entfernt.

Zurück bleibt **11** als eine blassgelbe Flüssigkeit (Auswaage: 0.80 g, 100 %).

Kommentar: Da das entstandene Imin äußerst hydrolyseempfindlich ist, konnte keine ^1H -NMR -Messung durchgeführt werden.

Versuch zur Herstellung von *N*-Benzyl-2-azaspiro[4.5]decan-1,6-dion (**3**):

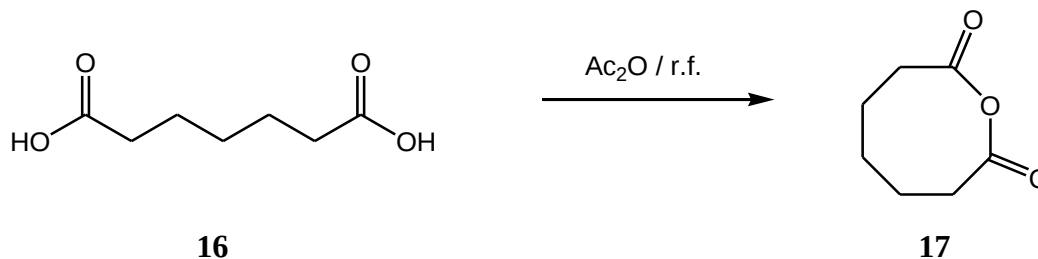


Das Imin **11** (0.80 g, 2.66 mMol) wird zunächst in 10 ml Methanol (trocken) unter Argon-Schutzatmosphäre gelöst. Anschließend werden Eisessig (0.20 g, 3.33 mMol) und Natriumcyanoborhydrid (0.18 g, 2.89 mMol) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zusatz von 30 ml 0.1 N NaOH wird dreimal mit je 30 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die gesammelten organischen Phasen werden einmal mit 30 ml wässriger NaCl-Lösung (gesättigt) gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck eingedampft.

Zurück bleibt **15** als ein gelber kristalliner Feststoff (Auswaage: 0.69 g, 90.4 %).

5. Versuch zur Synthese vom β -Ketoester 20:

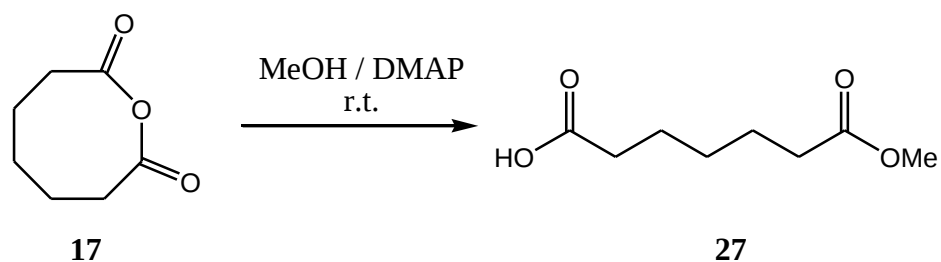
Heptandisäureanhydrid/Pimelinsäureanhydrid (17):



Heptandisäure (**16**) (20.10 g, 125.63 mMol) wird in 70 ml Acetanhydrid gelöst und 2 h unter Argon-Schutzatmosphäre unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.

Zurück bleibt ein gelbbraun gefärbter Feststoff. (Auswaage: 20.05 g)

7-Methoxy-7-oxohexancarbonsäure (**27**):

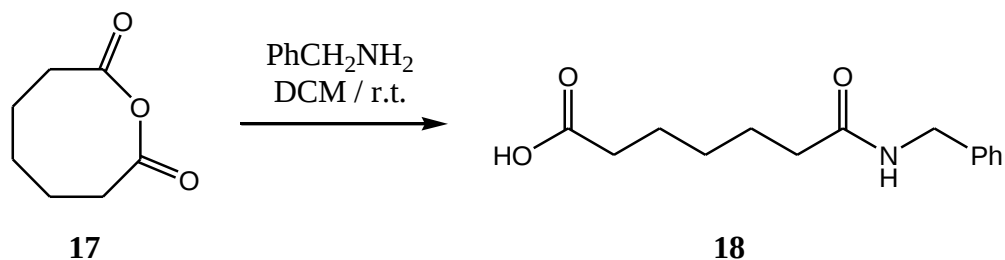


Heptandisäureanhydrid (**17**) (1.00 g, 7.04 mMol) wird mit DMAP (0.04 g, 0.35 mMol) direkt unter Argon-Schutzathmosphäre in 15 ml Methanol gelöst. Das Reaktionsgemisch wird insgesamt 5 h bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wird das Lösungsmittel direkt bei vermindertem Druck entfernt.

Zurück bleibt **27** als ein blassgelber Feststoff der anschließend für 24 h im Exsiccator getrocknet wird. (Auswaage: 1.03 g, 84.1 %)

7-Benzylamino-7-oxohexanoic acid (18):

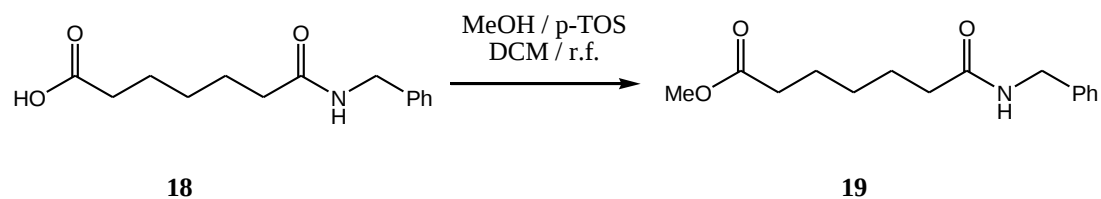


Das Anhydrid (**17**) (20.05 g, 141.20 mMol) wird zusammen mit Benzylamin (22.66 g, 211.78 mMol) in 800 ml Dichlormethan gelöst und unter Argon-Schutzatmosphäre 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Reaktionsansatz am Rotavapor eingeeengt.

Nach Aufnahme des Rückstandes in 150 ml Dichlormethan wird das Gemisch dreimal mit je 150 ml wässriger Na_2CO_3 -Lösung (gesättigt) ausgeschüttelt. Die gesammelten wässrigen Phasen werden zunächst mit 2 N HCl unter ständiger Kontrolle mit einem pH-Messstreifen angesäuert und anschließend dreimal mit je 200 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet und anschließend bei vermindertem Druck eingedampft.

Zurück bleibt **18** als ein schwach gelber amorpher Feststoff. (Auswaage: 18.69 g, 53.2 %)

7-Benzylamino-7-oxohexancarbonsäuremethylester (19):

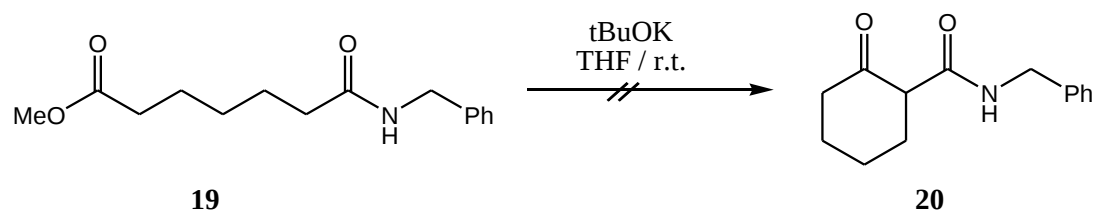


Das Monoamid **18** (18.69 g, 75.06 mMol) wird mit p-Toluolsulfonsäure (1.32 g, 7.67 mMol) in einer Mischung aus 25 ml Dichormethan und 25 ml Methanol gelöst und unter Argon-Schutzatmosphäre 16 h bei einer Temperatur von 45 °C gerührt. Das dabei entstehende Azeotrop aus Wasser und Dichlormethan wird mit Hilfe eines Wasserabscheiders abgetrennt.

Nach Abkühlen wird der Reaktionsansatz bei vermindertem Druck eingeeengt, erneut in 50 ml Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit 50 ml wässriger NaHCO₃-Lösung (gesättigt) ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit Na₂SO₄ getrocknet und am Rotavapor eingedampft.

Zurück bleibt **19** als ein intensiv gelber Feststoff. (Auswaage: 18.95 g, 96.0 %)

Versuch zur Synthese vom β -Ketoamid **20** mit Kalium-tert.-Butylat:



Der Carbonsäureester **19** (0.50 g, 1.90 mMol) wird zunächst in 15 ml THF gelöst, anschließend mit K-tert.-Butylat (0.64 g, 5.71 mMol) versetzt und unter Argon-Schutzatmosphäre 1 h bei Raumtemperatur gerührt.

Nach Zusatz von 40 ml wässriger NH_4Cl -Lösung (5 %) wird dreimal mit 25 ml Dichlormethan extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden einmal mit 30 ml wässriger NaCl -Lösung (gesättigt) gewaschen und daraufhin mit Na_2SO_4 getrocknet.

Das Lösungsmittel wird bei vermindertem Druck entfernt, wobei eine gelbe, leicht ölige Flüssigkeit zurückbleibt. (Auswaage: 0.37 g)

Das Rohprodukt wird mittels Flash-Chromatographie gereinigt. (40 g Kieselgel 60, n-Hexan + Aceton = 3 : 1, Fraktionen á 4 ml)

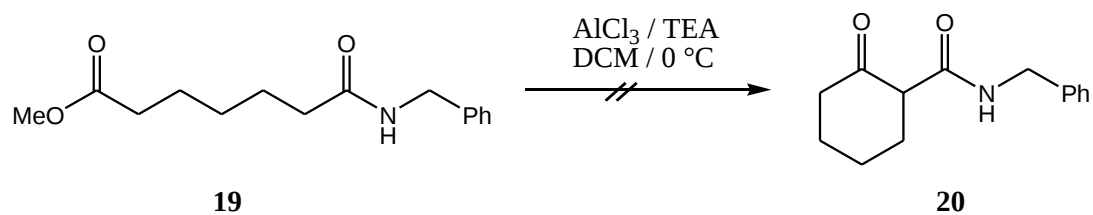
Produkt 1 = Fraktion 14 – 30 (R_f = 0.42, 0.31 g)

Produkt 2 = Fraktion 33 – 40 (R_f = 0.34, 0.02 g)

Produkt 3 = Fraktion 42 – 46 (R_f = 0.29, 0.02 g)

In keiner der drei Fraktionen befand sich das angestrebte β -Ketoamid **20**.

Versuch zur Synthese vom β -Ketoamid **20** mit AlCl_3 :



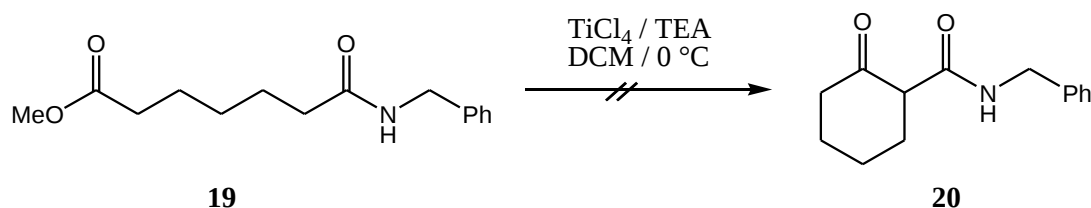
Unter Argon wird in eine Suspension von Aluminiumchlorid (0.76 g, 5.71 mMol) in 15 ml Dichlormethan eine Lösung vom Carbonsäureester **19** (0.56 g, 2.13 mMol) in 15 ml Dichlormethan zugetropft. Diese Mischung wird unter Rühren zunächst auf 0 °C gekühlt und anschließend mit Triethylamin (0.58 g, 5.74 mMol) versetzt. Der Reaktionsansatz wird ohne weiteres Kühlen 2 h gerührt und anschließend mit 15 ml wässriger NaHCO_3 -Lösung (gesättigt) gewaschen.

Die organische Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet und bei vermindertem Druck eingedampft.

Zurück bleibt eine gelbe Flüssigkeit (Auswaage: 0.45 g).

Laut ^1H -NMR erfolgte bei diesem Ansatz keine Umsetzung zu **20** der Ausgangssubstanz.

Versuch zur Synthese vom β -Ketoamid **20** mit TiCl_4 :



Der Carbonsäureester **19** (0.54 g, 2.05 mMol) wird in 15 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit Triethylamin (0.25 g, 2.47 mMol) versetzt. Diese Lösung wird zunächst auf 0 °C gekühlt. Anschließend wird tropfenweise Titan(IV)-chlorid ($\delta = 1.73 \text{ g/cm}^3$, 0.23 ml, 2.09 mMol) zugesetzt und unter Argon 1 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 50 ml Dichlormethan verdünnt, dreimal mit je 50 ml wässriger NaHCO_3 -Lösung (gesättigt) und ein weiteres Mal mit 50 ml wässriger NaCl -Lösung (gesättigt) ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet und bei vermindertem Druck eingedampft.

Zurück bleibt eine gelbe Flüssigkeit. (Auswaage: 0.40 g)

0.20 g des entstandenen Rohprodukts wurden mittels Flash-Chromatographie aufgereinigt. (20 g Kieselgel 60, n-Hexan : Aceton = 3 : 1, Fraktionen á 4 ml)

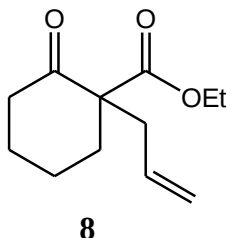
Hauptprodukt: Fraktion 6 – 9 ($R_f = 0.51$, 0.35 g)

Laut $^1\text{H-NMR}$ handelt es sich hier nicht um das β -Ketoamid **20**.

.

Auswertung der NMR-Spektren:

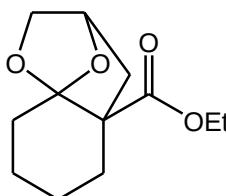
NMR Auswertung vom β -Ketoester **8**:



^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ =5.76-5.64 (m, 1H, H-2'), 5.03-4.96 (m, 2H, H-3'), 4.17-4.12 (m, 2H, OCH_2), 2.59-2.54 (m, 1H, H-1'/1), 2.48-2.38 (m, 3H, H-6/1, H-3/1+2), 2.32-2.26 (m, 1H, H-1'/2), 1.23-1.19 (m, 3H, CH_3)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ =207.53 (C-2), 171.42 (COO), 133.27 (C-2'), 118.20 (C-3'), 61.17 (OCH_2), 60.81 (C-1), 41.07 (C-3), 39.26 (C-1'), 35.71 (C-6), 27.47 (C-4), 22.41 (C-5), 14.12 (CH_3)

NMR Auswertung vom Acetal **28**:



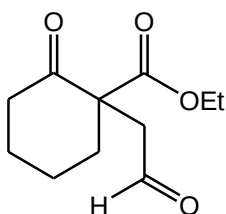
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) von **28**: δ =4.36 (m, 1H, H-2'), 4.15 (m, 2H, OCH_2), 3.69 (m, 2H, H-3'), 2.66 (m, 1H, H-1'/1), 1.98 (m, 1H, H-3/1), 1.88 (m, 2H, H-3/2, H-6/1), 1.61 (m, 1H, H-4/1), 1.58 (m, 1H, H-1'/2), 1.53 (m, 1H, H-6/2), 1.46 (m, 2H, H-5), 1.44 (m, 1H, H-4/2), 1.24 (m, 3H, CH_3)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) von **28**: δ =174.66 (COO), 103.07 (C-2), 76.29 (C-2'), 66.20 (C-3'), 60.80 (OCH_2), 54.46 (C-1), 36.52 (C-1'), 35.04 (C-6), 33.62 (C-3), 22.68 (C-4), 22.11 (C-5), 13.99 (CH_3)

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) von **28***: $\delta=4.31$ (m, 1H, H-2'), 4.15 (m, 2H, OCH_2), 3.65 (m, 2H, H-3'), 2.60 (m, 1H, H-1'/1), 1.93 (m, 1H, H-3/1), 1.90 (m, 1H, H-6/1), 1.88 (m, 1H, H-3/2), 1.79 (m, 1H, H-1'/2), 1.61 (m, 1H, H-4/1), 1.47 (m, 2H, H-5), 1.44 (m, 2H, H-4/2, H-6/2), 1.24 (m, 3H, CH_3)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) von **28***: $\delta=173.91$ (COO), 103.99 (C-2), 77.34 (C-2'), 66.47 (C-3'), 60.80 (OCH_2), 54.46 (C-1), 34.10 (C-1'), 33.05 (C-6), 32.66 (C-3), 22.62 (C-4), 21.70 (C-5), 13.99 (CH_3)

NMR Auswertung vom Aldehyd 10:

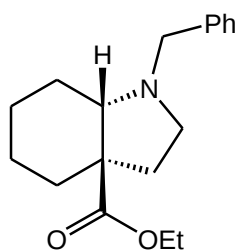


10

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta=9.70$ (s, 1H, CHO), 4.26-4.15 (m, 2H, OCH_2), 2.78-2.63 (m, 3H, CH_2 , H-3/1), 2.53-2.39 (m, 2H, H-3/2, H-6/1), 2.10-1.98 (m, 1H, H-4/1), 1.80-1.59 (m, 4H, H-5/1+2, H-4/2, H-6/2), 1.26 (t, 3H, CH_3)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta= 206.87$ (C-2), 199.01 (CHO), 171.26 (COO), 61.83 (OCH_2), 59.03 (C-1), 47.80 (CH_2), 40.41 (C-3), 36.78 (C-6), 26.94 (C-4), 21.99 (C-5), 13.97 (CH_3)

NMR Auswertung vom Amin **15**:

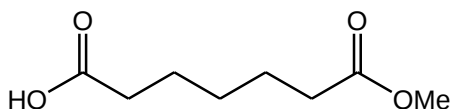


15

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ =7.37 (m, 2H, Ph H-2, H-6), 7.26 (m, 2H, Ph H-3, H-5), 7.19 (m, 1H, Ph H-4), 4.20-4.15 (m, 2H, OCH_2), 4.02 (d, 2H, BnCH_2), 3.16 (d, 2H, BnCH_2), 2.98-2.92 (m, 1H, H-2/1), 2.32-2.26 (m, 1H, H-2/2), 2.05-1.84 (m, 2H, H-3/1, H-4/1), 1.54-1.40 (m, 8H, H-5/1+2, H-6/1+2, H-7/1+2, H-3/2, H-4/2), 1.27 (t, 3H, CH_3), 4.20-4.15 (m, 2H, OCH_2), 4.02 (d, 2H, BnCH_2), 3.15 (d, 2H, BnCH_2), 2.98-2.92 (m, 1H, H-2/1), 2.32-2.26 (m, 1H, H-2/2), 2.05-1.93 (m, 2H, H-3/1, H-4/1), 1.84-1.54 (m, 8H, H-3/2, H-4/2, H-5/1+2, H-6/1+2, H-7/1+2), 1.28 (t, 3H, CH_3)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ =176.47 (COO), 140.16 (Ph C-1), 128.32 (Ph C-2, Ph C-6), 128.05 (Ph C-3, Ph C-5), 126.54 (Ph C-4), 63.80 (C-7a), 60.25 (OCH_2), 57.05 (BnCH_2), 51.20 (C-3a), 50.85 (C-2), 33.97 (C-3), 31.71 (C-4), 23.96 (C-7), 23.37 (C-5), 20.10 (C-6), 14.21 (CH_3)

NMR Auswertung vom Pimelinsäuremonomethylester (**8**):

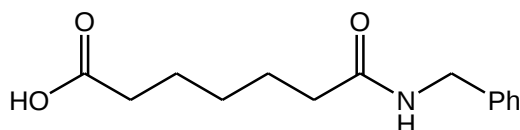


27

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ =3.64 (s, 3H, OCH_3), 2.35-2.27 (m, 4H, H-6, H-2), 1.66-1.57 (m, 4H, H-5, H-3), 1.40-1.29 (m, 2H, H-4)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ =179.35 (COOH), 174.06 (COOCH_3), 51.46 (OCH_3), 33.73 (C-6), 33.71 (C-2), 28.41 (C-4), 24.45 (C-5), 24.20 (C-3)

NMR-Auswertung des Monoamid 18:

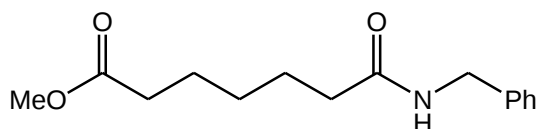


18

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ =7.34-7.30 (m, 2H, Ph H-3, H-5), 7.28-7.24 (m, 3H, Ph H-2, H-4, H-6), 5.99 (s, 1H, NH), 4.41 (d, 2H, BnCH_2), 2.32 (t, 2H, H-2), 2.21 (t, 2H, H-6), 1.70-1.59 (m, 4H, H-5, H-3), 1.40-1.33 (m, 2H, H-4)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ =178.49 (COOH), 173.16 (CON), 138.14 (Ph C-1), 128.67 (Ph C-3, C-5), 127.77 (Ph C-2, Ph C-6), 127.49 (Ph C-4), 43.60 (BnCH_2), 36.29 (C-6), 33.73 (C-2), 28.52 (C-4), 25.25 (C-5), 24.28 (C-3)

NMR-Auswertung des Carbonsäureester 19:



19

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ =7.36-7.29 (m, 2H, Ph H-3, H-5), 7.29-7.24 (m, 3H, Ph H-2, H-4, H-6), 5.81 (s, 1H, NH), 4.42 (d, 2H, BnCH_2), 3.64 (s, 3H, OCH_3), 2.30 (t, 2H, H-2), 2.21 (t, 2H, H-6), 1.71-1.59 (m, 4H, H-5, H-3), 1.41-1.30 (m, 2H, H-4)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ =174.06 (COO), 172.61 (CON), 138.34 (Ph C-1), 128.67 (Ph C-3, C-5), 127.78 (Ph C-2, C-6), 127.46 (Ph C-4), 51.46 (OCH_3), 43.55 (BnCH_2), 36.37 (C-6), 33.77 (C-2), 28.64 (C-4), 25.26 (C-5), 24.48 (C-3)

Literaturverzeichnis:

- [1] Verena Tretter, Stephen J. Moss (2008) GABAA receptor dynamics and constructing GABAergic synapses. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, Volume 1, Article 7
- [2] Buddhala C, Hsu CC et al. (2009) A novel mechanism for GABA synthesis and packaging into synaptic vesicles. *Neurochem Int* 55(1–3):9–12
- [3] Zhe Jin, Suresh Kumar Mendu, Bryndis Birnir (2011) GABA is an effective immunomodulatory molecule. DOI 10.1007/s00726-011-1193-7
- [4] K. Aktories et al. (2009) *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 10. Auflage, Elsevier
- [5] Olsen, R.W., and Sieghart, W. (2008). International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of gamma-aminobutyric acid(A) receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. *Pharmacol. Rev.* 60, 243–260.
- [6] Unwin, N. (1995). Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature* 373, 37–43.
- [7] Ben-Ari, Y. (2002). Excitatory actions of gaba during development: the nature of the nurture. *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 728–739.
- [8] Korpi E., Gründer G., and Lüddens H. (2002). Drug interactions at GABA(A) receptors. *Prog. Neurobiol.* 67, 113–159.
- [9] Belelli D., and Lambert J.J. (2005). Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 565–575.
- [10] Majewska M.D., Harrison N.L., Schwartz R.D., Barker J.L. and Paul S.M. (1986). Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science* 232, 1004–1007.
- [11] Chisari, M., Eisenman, L.N., Covey, D.F., Mennerick, S., and Zorumski, C.F. (2010). The sticky issue of neurosteroids and GABA(A) receptors. *Trends Neurosci.* 33, 299–306.
- [12] Stephen G. Brickley and Istvan Mody (2012) Extrasynaptic GABAA Receptors: Their Function in the CNS and Implications for Disease. DOI 10.1016/j.neuron.2011.12.012
- [13] Ulrich D, Bettler B: GABA(B) receptors: synaptic functions and mechanisms of diversity. *Curr Opin Neurobiol* 2007, 17:298-303.

- [14] Mintz IM, Bean BP: GABAB receptor inhibition of P-type Ca²⁺ channels in central neurons. *Neuron* **1993**, 10:889-898.
- [15] Xu J, Wojcik WJ: Gamma aminobutyric acid B receptor- mediated inhibition of adenylate cyclase in cultured cerebellar granule cells: blockade by islet-activating protein. *J Pharmacol Exp Ther* **1986**, 239:568-573.
- [16] Wu LG, Saggau P: GABAB receptor-mediated presynaptic inhibition in guinea-pig hippocampus is caused by reduction of presynaptic Ca²⁺ influx. *J Physiol* **1995**, 485(Pt 3):649-657.
- [17] Schousboe A, Waagepetersen HS. Role of astrocytes in homeostasis of glutamate and GABA during physiological and pathophysiological conditions. In: Hertz L, editor. *Non-neuronal cells of the nervous system: function and dysfunction*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publ.; **2004**. p. 461–75.
- [18] Miller, J.W., Kleven, D.T., Domin, B.A., Fremeau Jr. (1997). Cloned sodium- (and chloride-) dependent high-affinity transporters for GABA, glycine, proline, betaine, taurine and creatine. In: Reith, M.E.A. (Ed.), *Neurotransmitter Transporters: Structure, Function, and Regulation*. Humana Press, New Jersey, pp. 101–150.
- [19] Mager S., Naeve J., Quick M., Labarca C., Davidson N. and Lester H. A. (1993) Steady states, charge movements, and rates for a cloned GABA transporter expressed in *Xenopus* oocytes. *Neuron* 10, 177–188.
- [20] Suzdak, P.D., Jansen, J.A. (1995). A review of the preclinical pharmacology of Tiagabine: a potent and selective anticonvulsant GABA uptake inhibitor. *Epilepsia* 36, 612–626.
- [21] Adkins, C.E., Pillai, G.V., Kerby, J., Bonnert, T.P., Haldon, C., McKernan, R.M., Gonzalez, J.E., Oades, K., Whiting, P.J., Simpson, P.B., (2001). $\alpha 4\beta 3\delta$ GABAA receptors characterized by fluorescence resonance energy transfer-derived measurements of membrane potential. *J. Biol. Chem.* 276, 38934–38939.
- [22] Krosgaard-Larsen, P., Johnston, G.A., (1975). Inhibition of GABA uptake in rat brain slices by nipecotic acid, various isoxazoles and related compounds. *J. Neurochem.* 25, 797–802.

- [23] Krogsgaard-Larsen, P., Johnston, G.A.R., Curtis, D.R., Game, C.J., McCulloch, R.M., (1975). Structure and biological activity of a series of conformationally restricted analogues of GABA. *J. Neurochem.* 25, 803–809.
- [24] Larsson, O.M., Falch, E., Krogsgaard-Larsen, P., Schousboe, A., (1988). Kinetic characterization of inhibition of g-aminobutyric acid uptake into cultured neurons and astrocytes by 4,4-diphenyl-3-butenyl derivatives of nipecotic acid and guvacine. *J. Neurochem.* 50, 818–823.
- [25] Braestrup, C., Nielsen, E.B., Sonnewald, U., Knutsen, L.J.S., Andersen, K.E., Jansen, J.A., Frederiksen, K., Andersen, P.H., Mortensen, A., Suzdak, P.D., (1990). (R)-N-[4,4-bis(3-methyl-2-thienyl)but-3-en-1-yl]nipecotic acid binds with high-affinity to the brain g-aminobutyric acid uptake carrier. *J. Neurochem.* 54, 639–647.
- [26] Clausen, R.P., Moltzen, E.K., Perregaard, J., Lenz, S.M., Sanchez, C., Falch, E., Frølund, B., Bolvig, T., Sarup, A., Larsson, O.M., (2005). Selective inhibitors of GABA uptake: synthesis and molecular pharmacology of 4-N-methylamino-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[d]isoxazol-3-ol analogues. *Bioorg. Med. Chem.* 13, 895–908.
- [27] Ali, F.E., Bondinell, W.E., Dandridge, P.A., Frazee, J.S., Garvey, E., Girard, G.R., Kaiser, C., Ku, T.W., Lafferty, J.J., Moonsammy, G.I., (1985). Orally active and potent inhibitors of g-aminobutyric acid uptake. *J. Med. Chem.* 28, 653–660.
- [28] Andersen, K.E., Braestrup, C., Gronwald, F.C., Jørgensen, A.S., Nielsen, E.B., Sonnewald, U., Sørensen, P.O., Suzdak, P.D., Knutsen, L.J., (1993). The synthesis of novel GABA uptake inhibitors. 1. Elucidation of the structure-activity studies leading to the choice of (R)-1-[4,4- bis(3-methyl-2-thienyl)-3-butenyl]-3-piperidinecarboxylic acid (Tiagabine) as an anticonvulsant drug candidate. *J. Med. Chem.* 36, 1716– 1725.
- [29] W. Fleischhacker et al. Synthesis and biochemical studies of spirocyclic aminoacids. II. Activity of 2-azaspiro[5S]undecane-7-carboxylates as GABA-uptake inhibitors. *Eur J Med Chem* (1995) 30, 707-713
- [30] Jason R Chalifoux, Adam G Carter (2011) GABA_B receptor modulation of synaptic function. *Current Opinion in Neurobiology*, 21:339–344
- [31] T. Gruber; Diplomarbeit, Universität Wien, 2002

- [32] Masayuki Fujii et al. Stereoselective Synthesis of (+-)-Isonitramine and (+-)-Sibirine. Chemistry Letters (**1992**) , pp. 1493-1496
- [33] A.Haumer; Diplomarbeit, Universität Wien, **2012**
- [34] Mukund P. Sibi et al. (**1995**) Chemoselective Dieckmann-Like Condensations Using N-Methoxy-N-Methylamides. Tetrahedron Letters, Vol. 36, No. 35, pp. 6209-6212,

Abkürzungsverzeichnis:

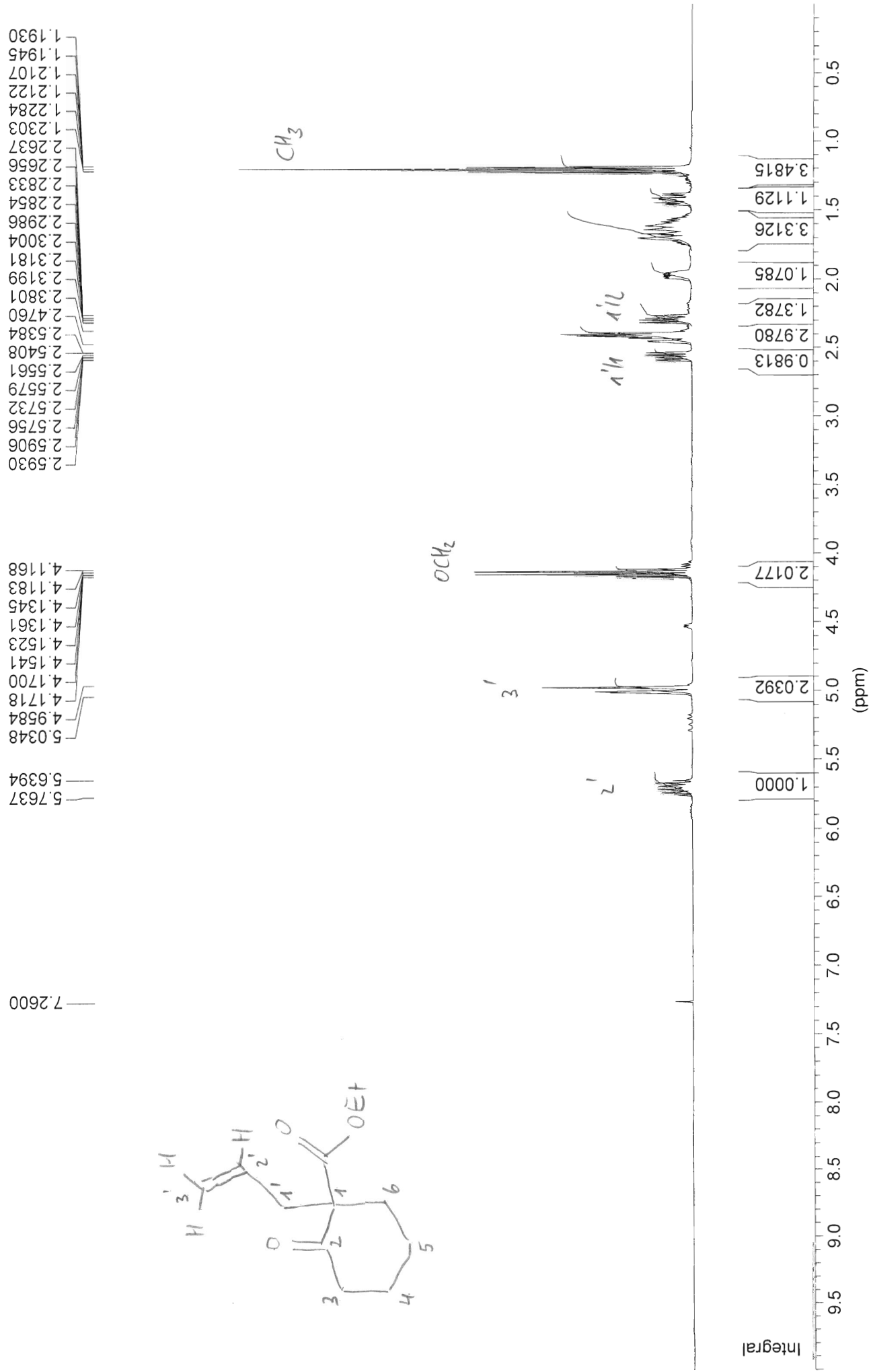
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
COSY	Correlation Spectroscopy
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMP	Dimethoxypropan
DPB	4,4-Diphenylbut-3-en-1-yl
GABA	γ -Aminobuttersäure
GAD	Glutaminsäuredecarboxylase
GAT	γ -Aminobuttersäuretransporter
HMBC	Hetero Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
NKCC1	Natrium-Kalium-Chlorid-Cotransporter 1
NMDA-Rezeptor	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
NMO	N-Methylmorpholin-N-oxid
p-TOS (PTSA)	para-Toluolsulfonsäure (para-Toluenesulfonic acid)
tBuOK	Kalium-tertiär-Butylat
TEA	Triethylamin
3 α 5 α -THDOC	3 α 5 α -Tetrahydro-desoxycorticosteron
THF	Tetrahydrofuran
THIP	4,5,6,7-Tetrahydroisoxazolo[5,4-c]pyridin-3-ol

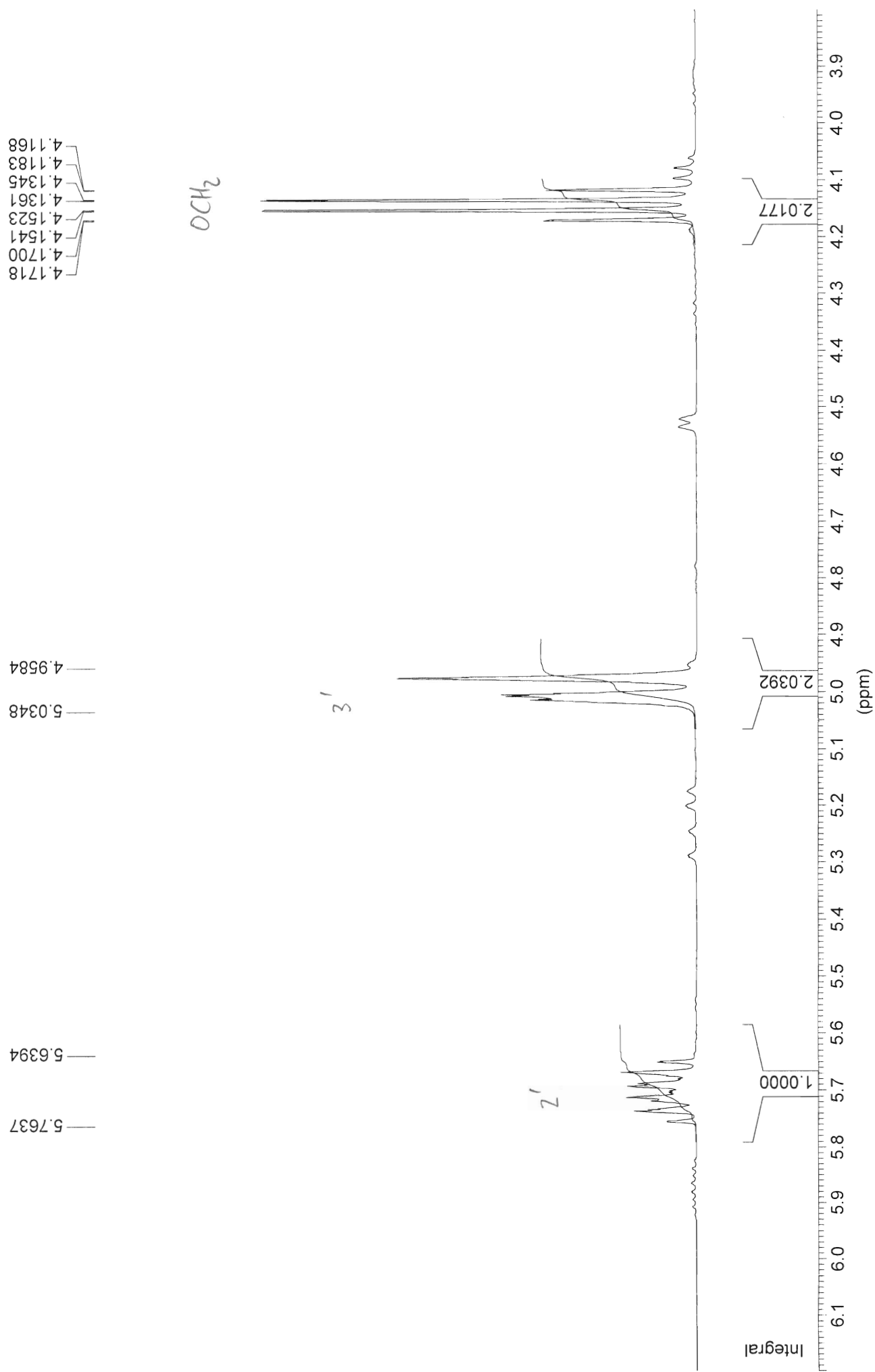
THPO	4,5,6,7-Tetrahydroisoxazolo[4,5-c]pyridin-3-ol
TMA	Trimethylaluminium
TMOF	Trimethylorthoformiat / Trimethoxymethan
VGAT	Vesikularer γ -Aminobuttersäuretransporter
ZNS	Zentrales Nervensystem

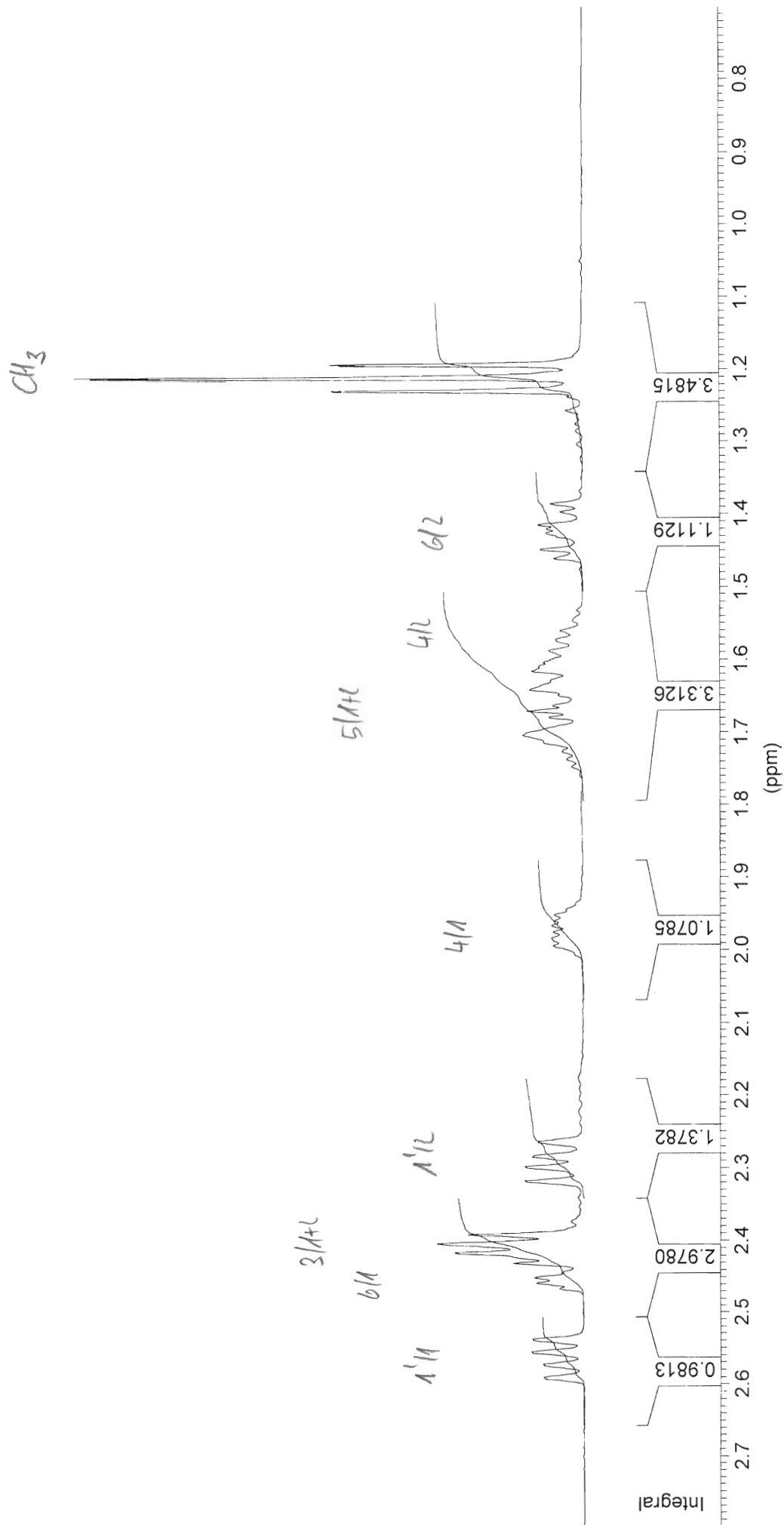
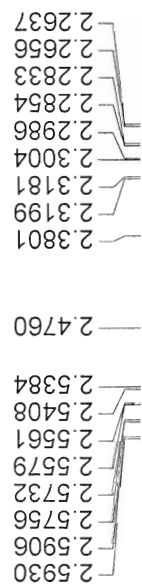
Anhang:

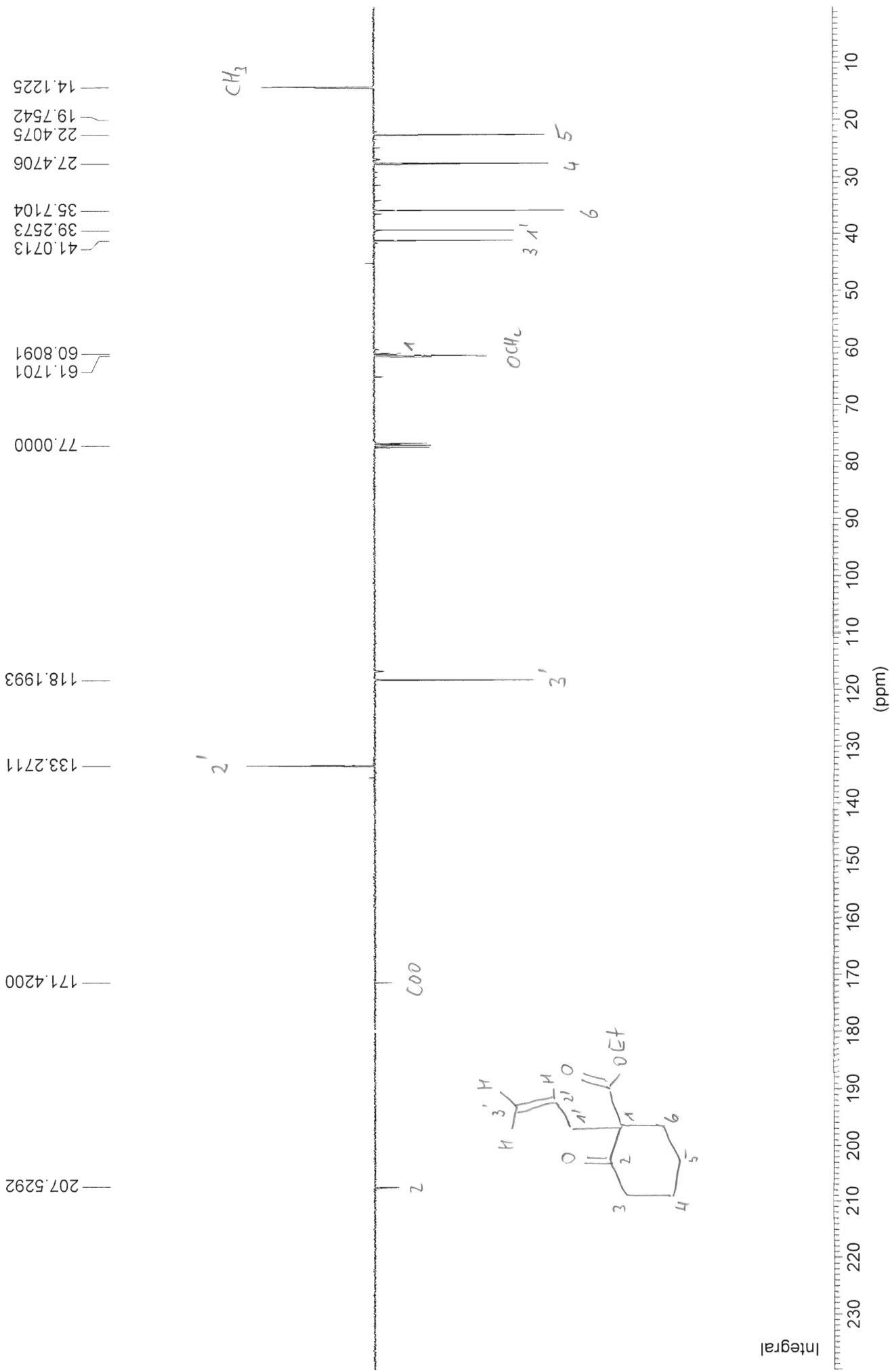
NMR-Spektren

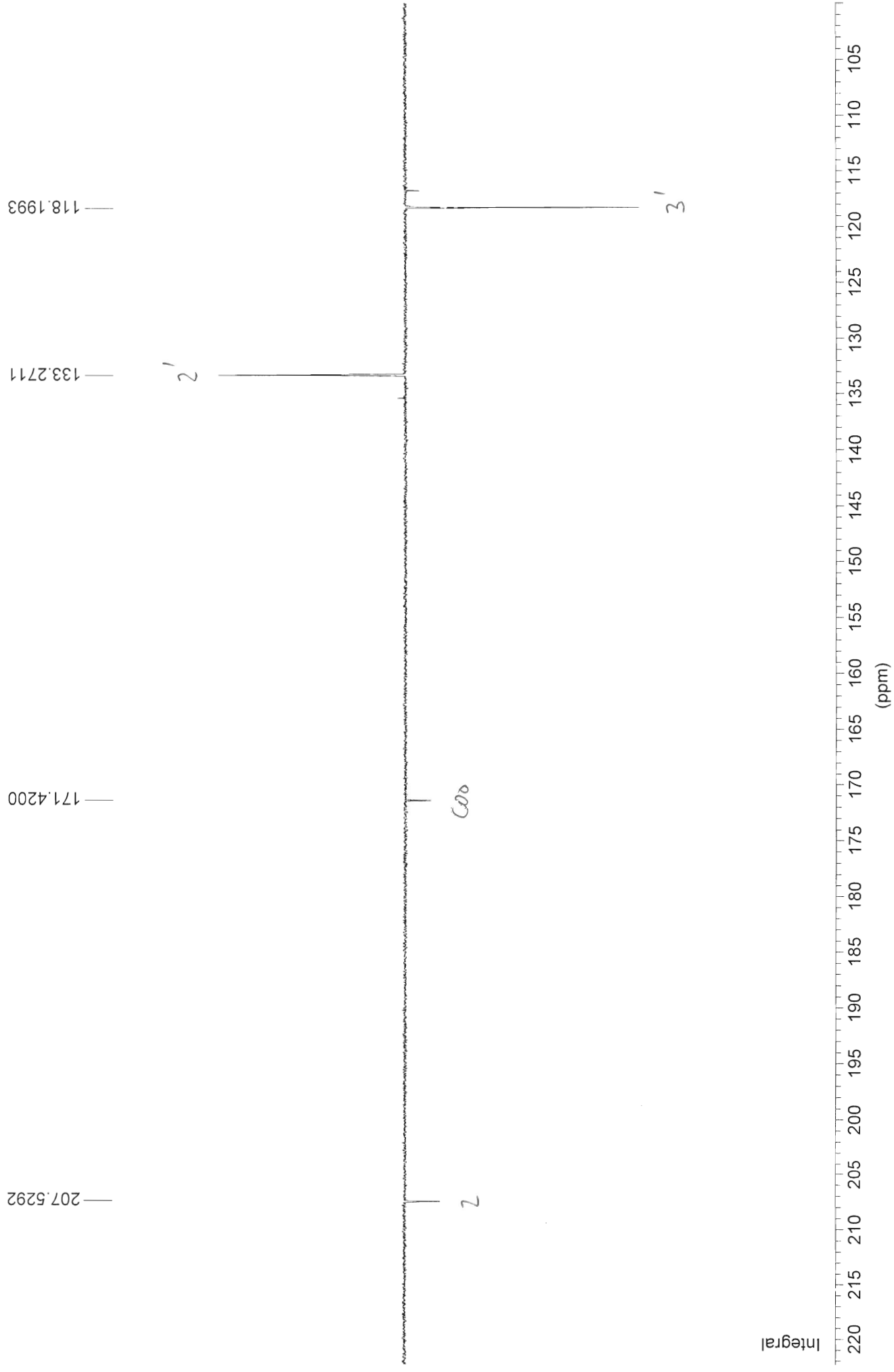
Lebenslauf

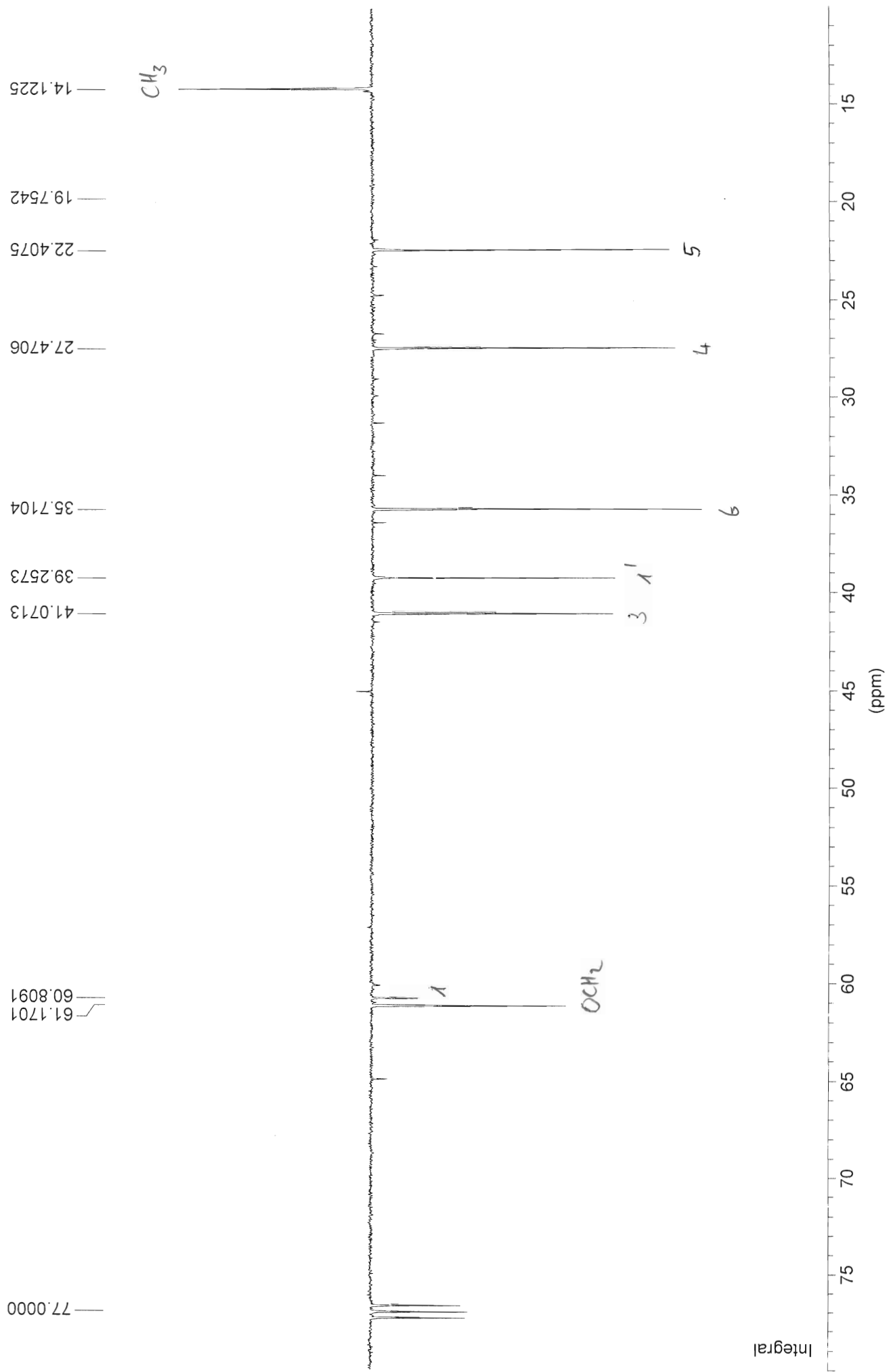




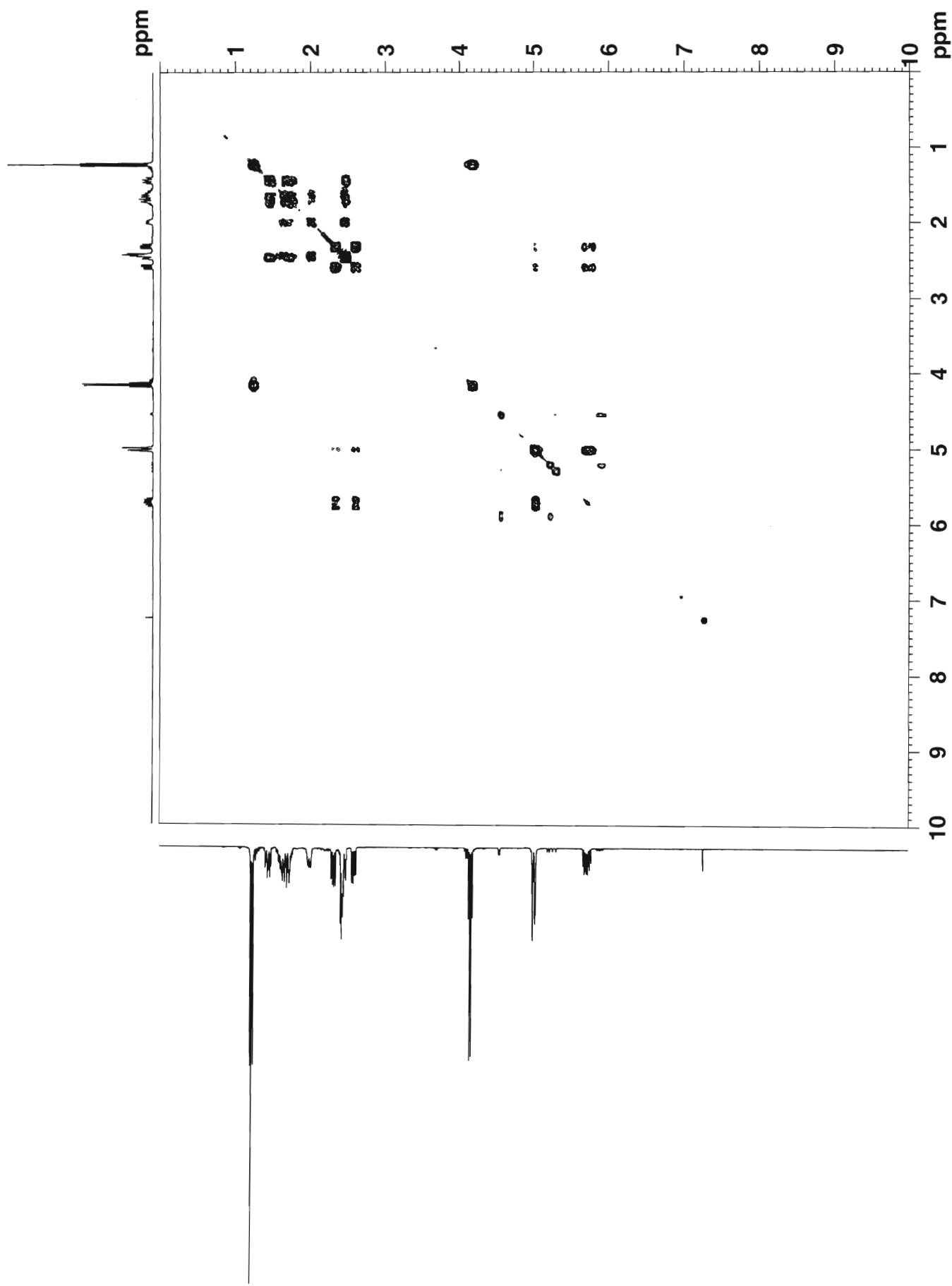




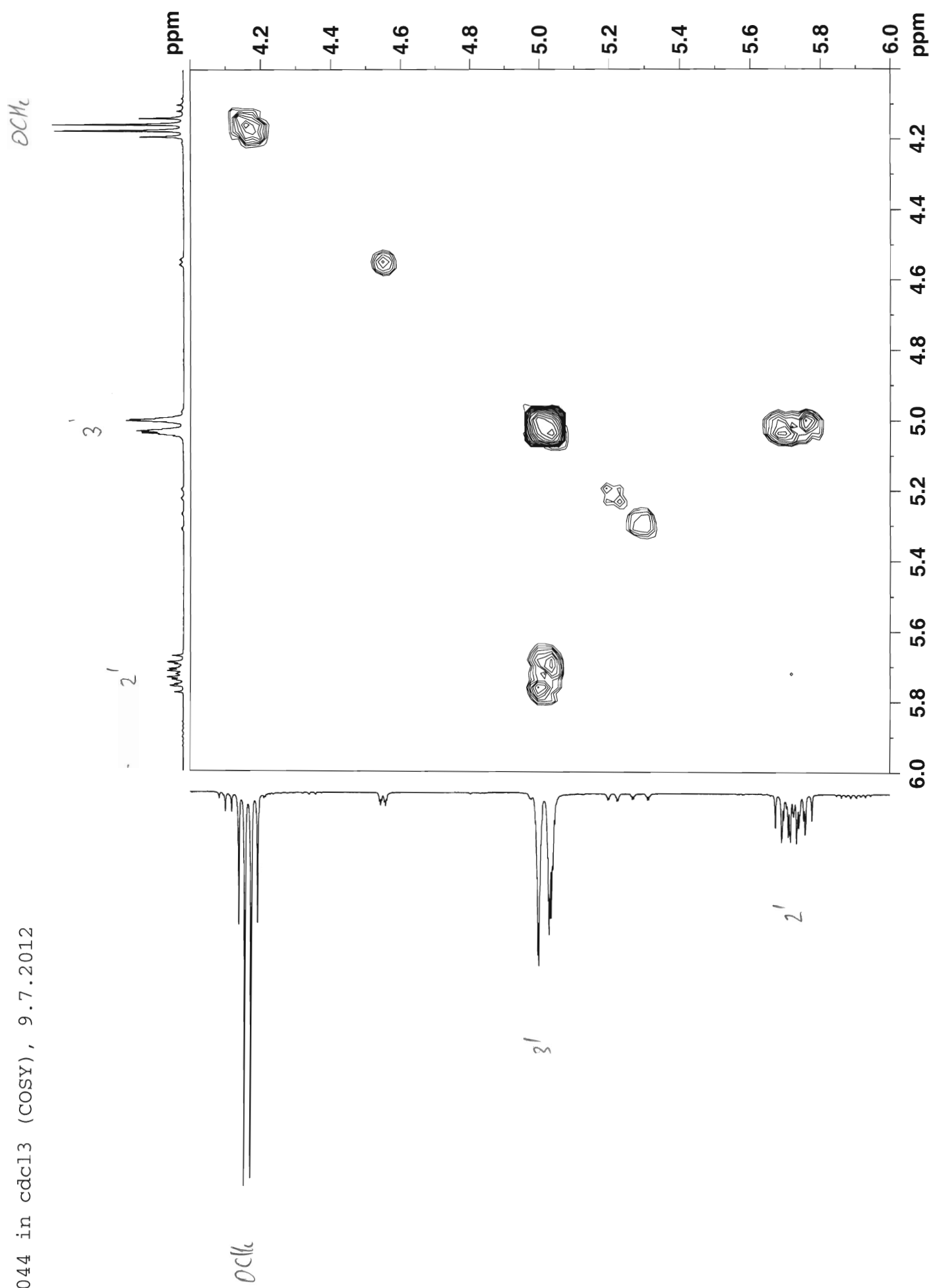




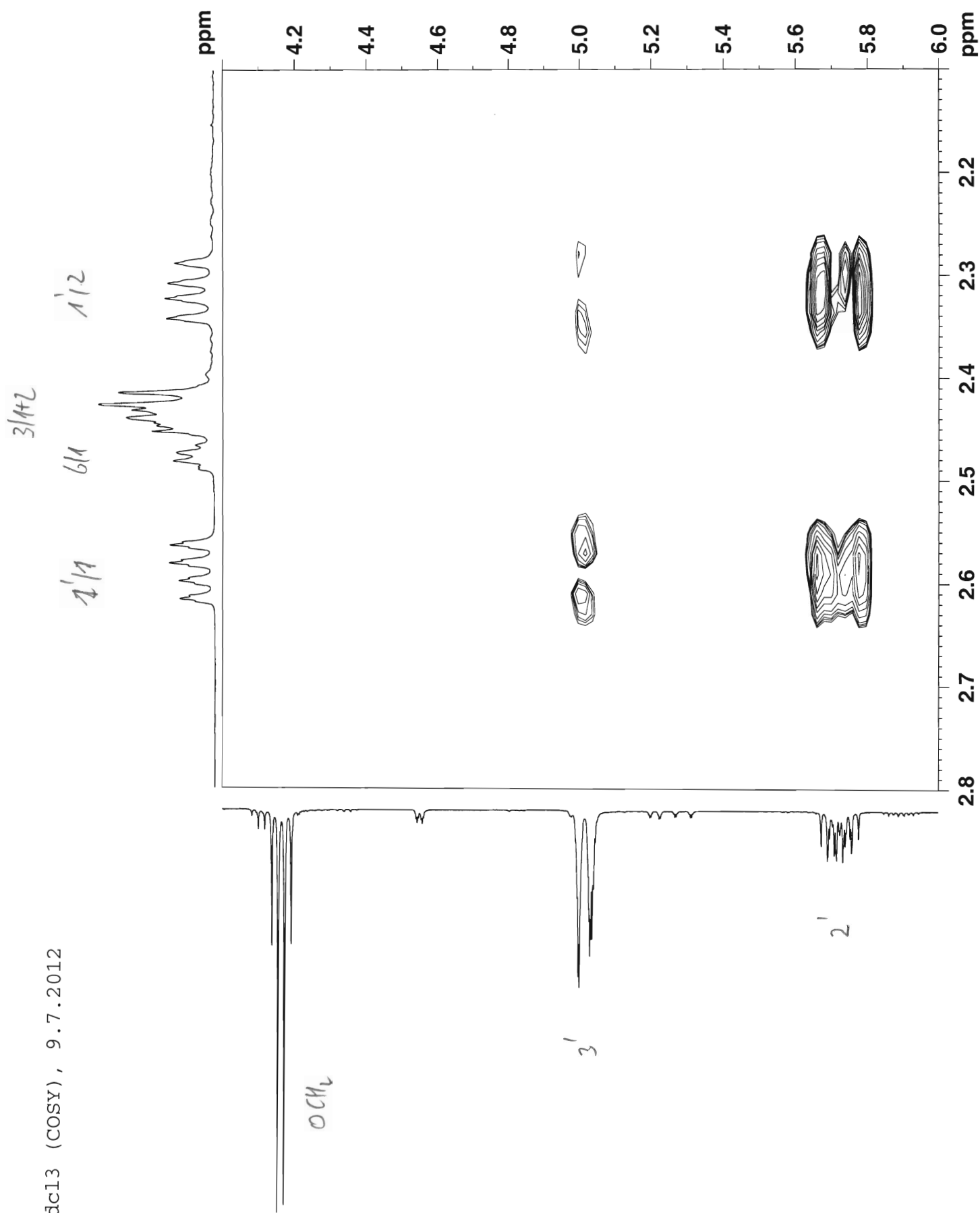
at044 in cdcl3 (COSY), 9.7.2012

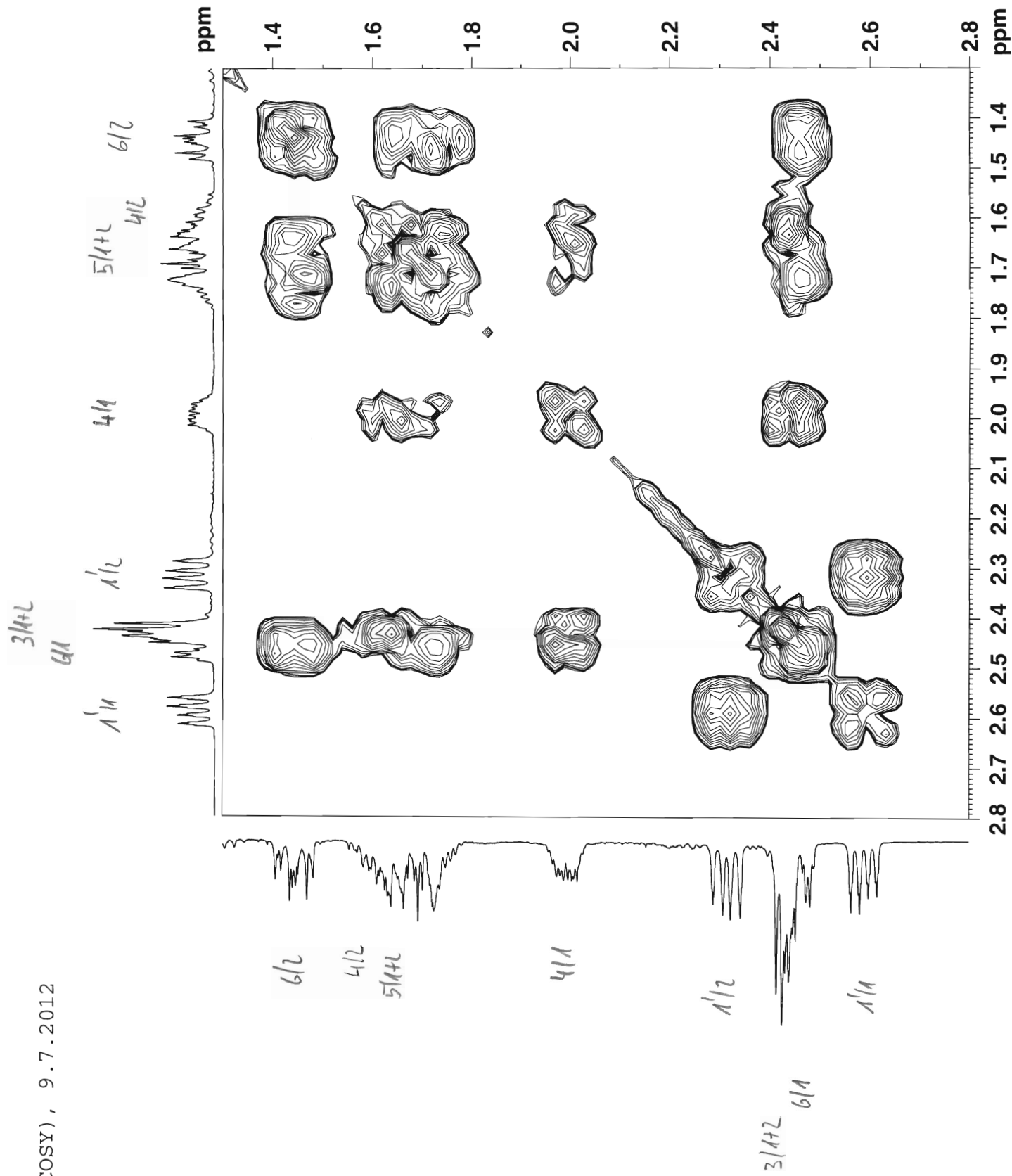


at044 in cdcl3 (COSY), 9.7.2012

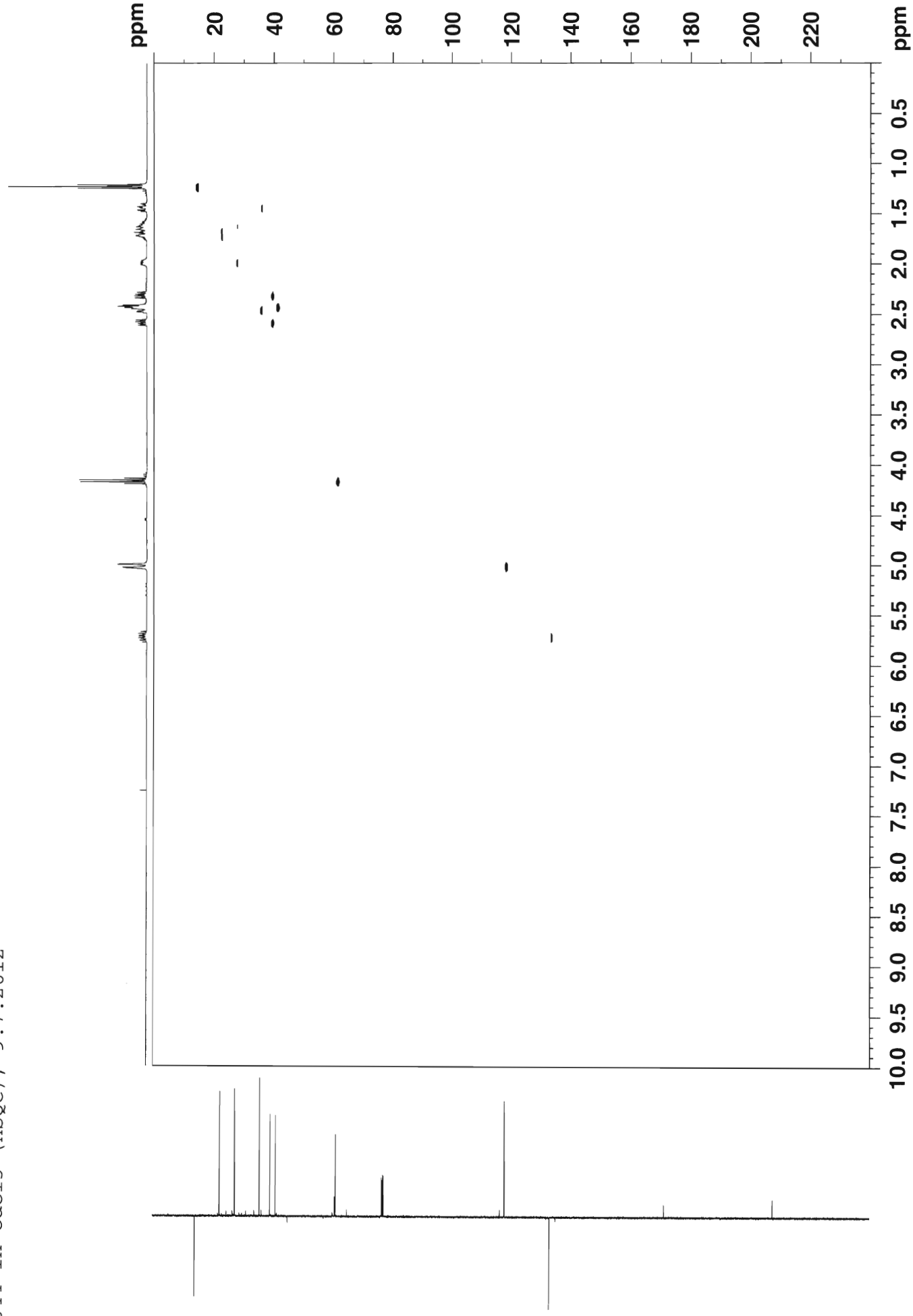


at044 in cdcl3 (COSY), 9.7.2012

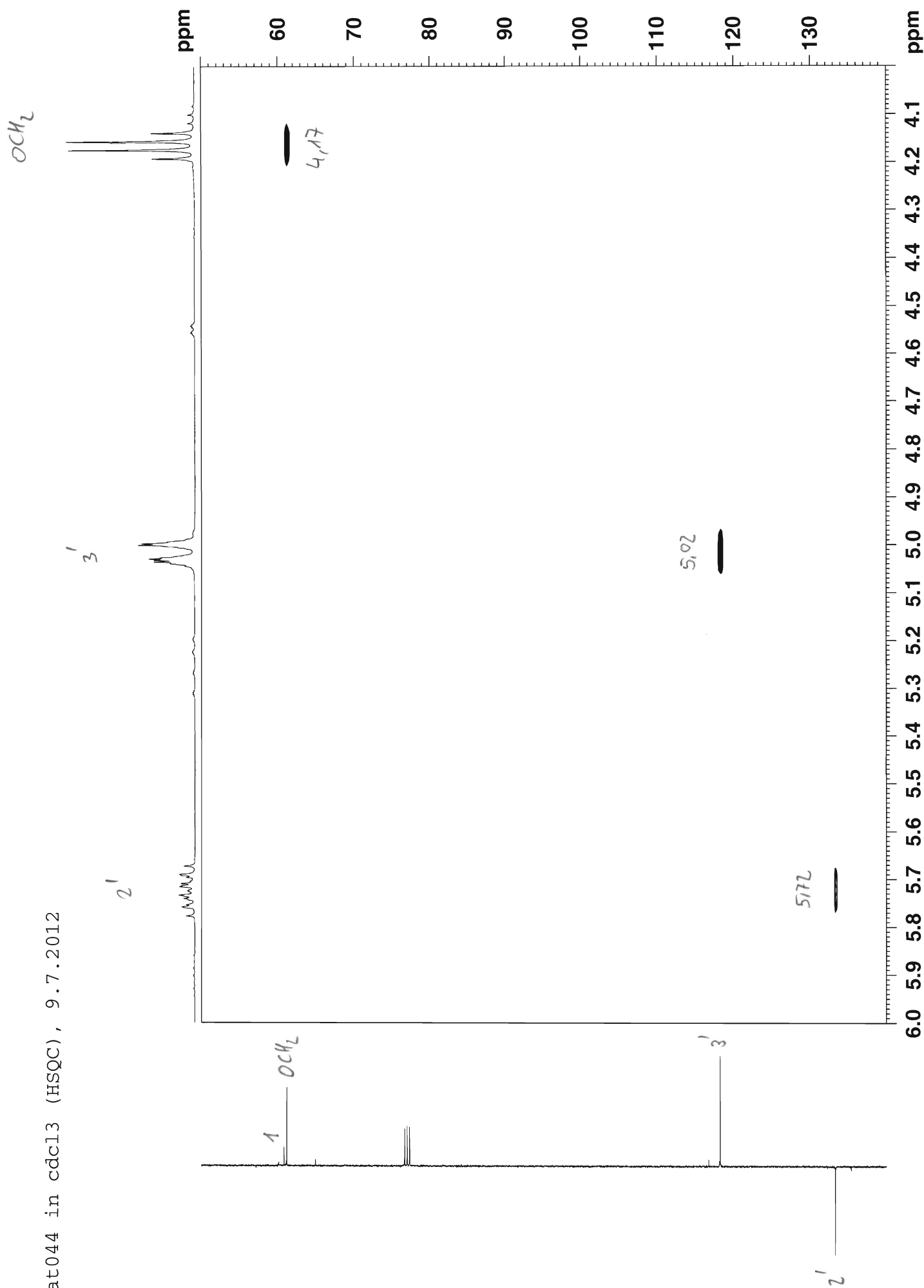




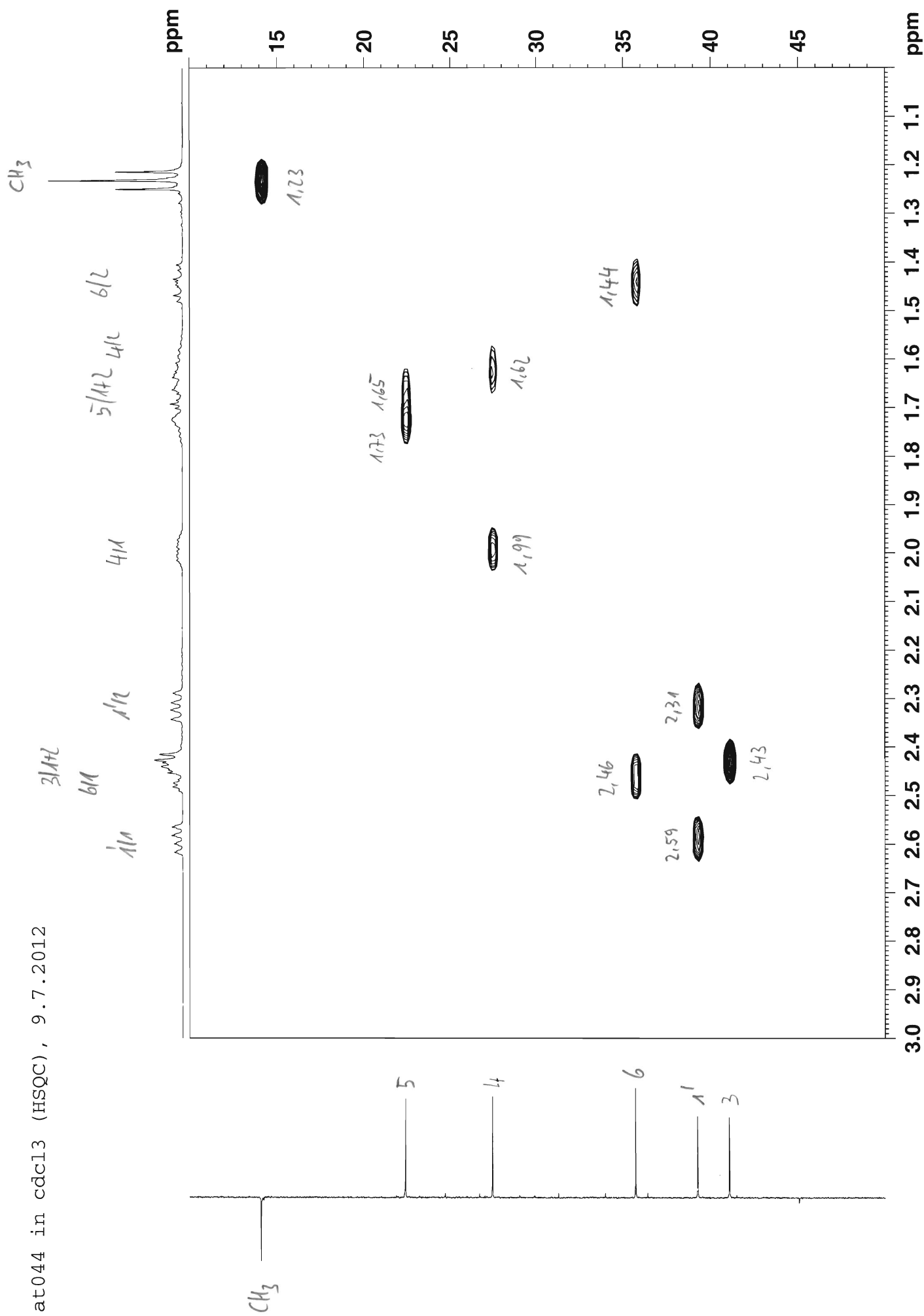
at044 in cdcl3 (HSQC), 9.7.2012



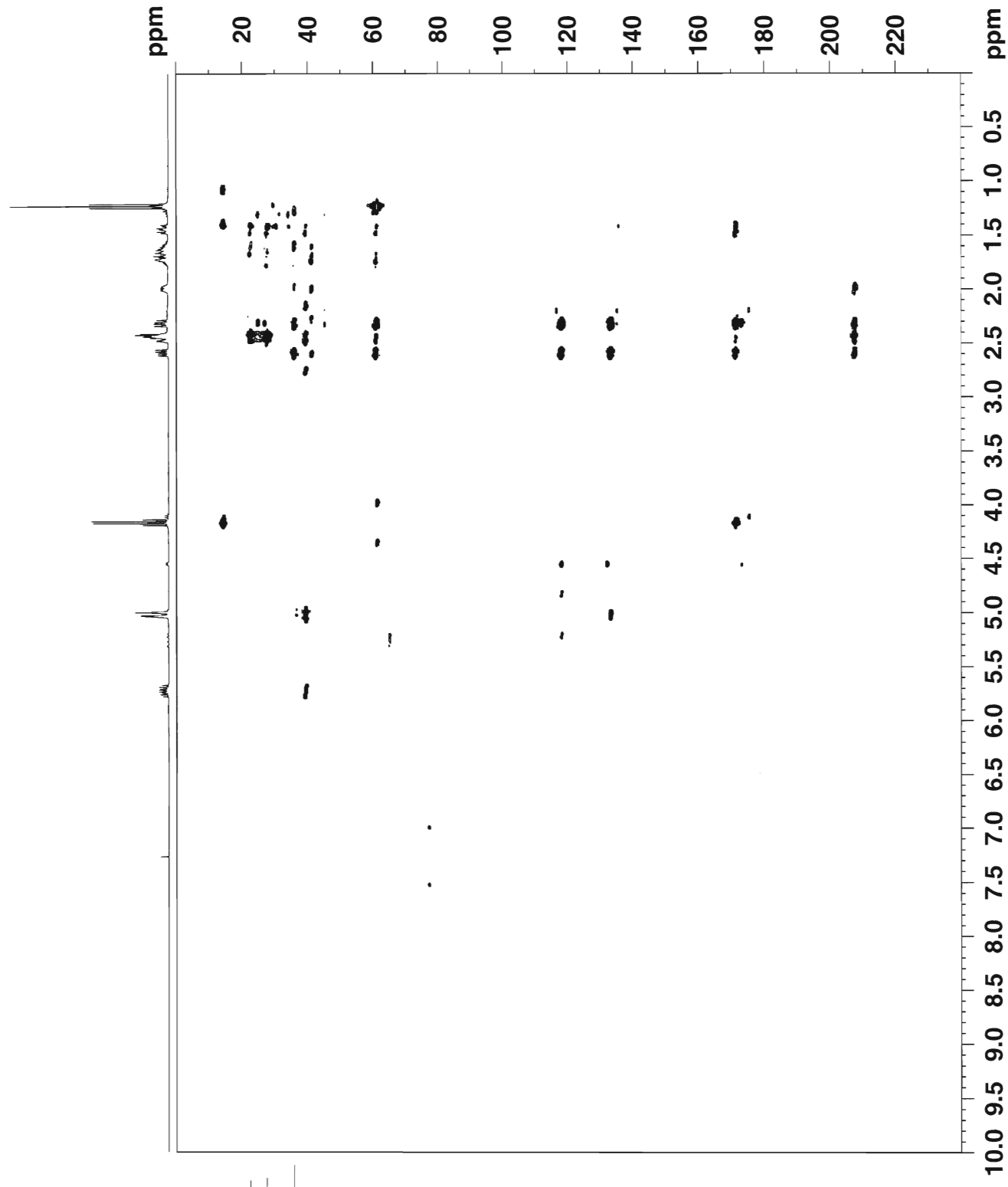
at044 in cdcl3 (HSQC), 9.7.2012



at044 in cdcl3 (HSQC), 9.7.2012

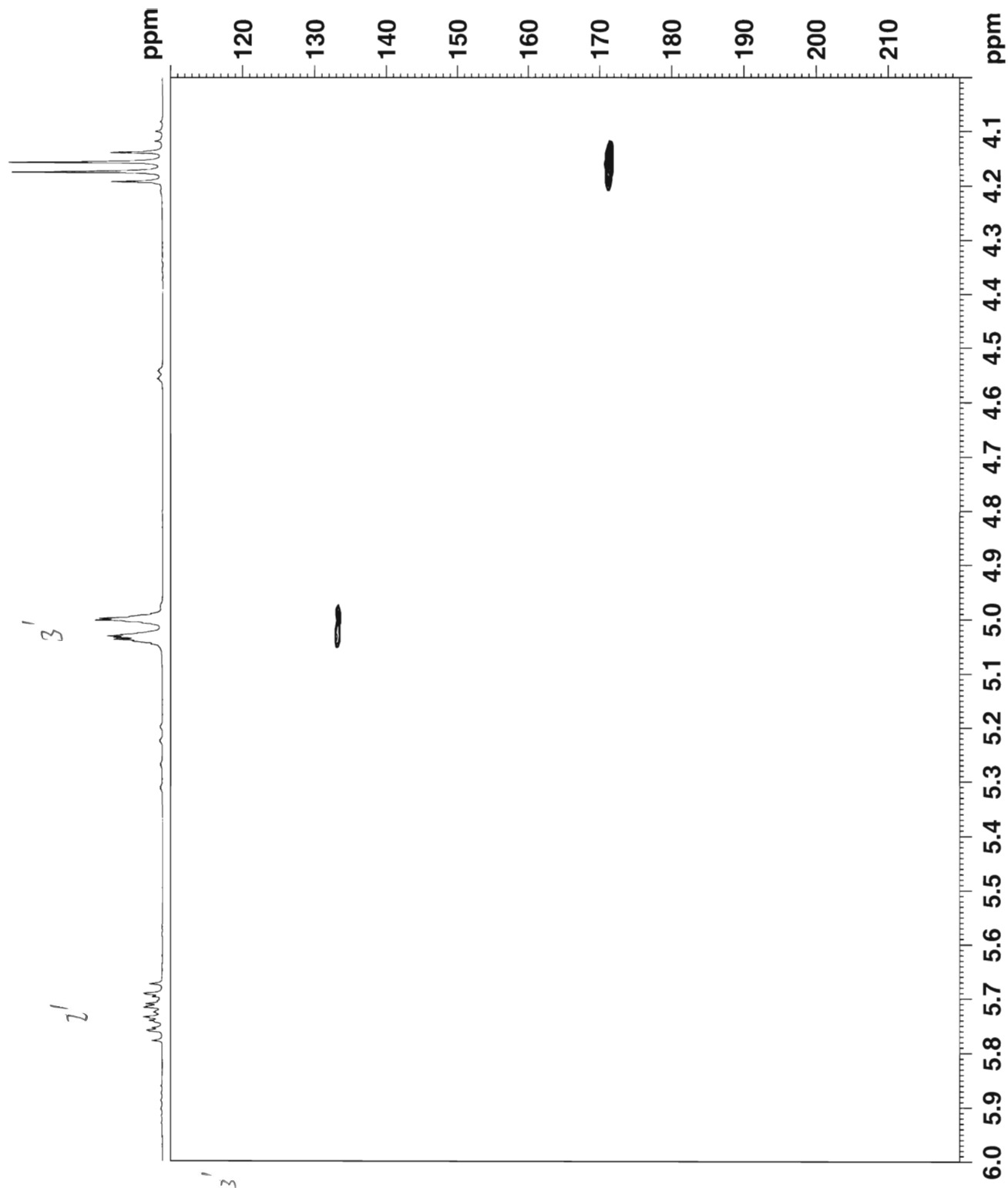


at044 in cdcl3 (HMBC), 9.7.2012

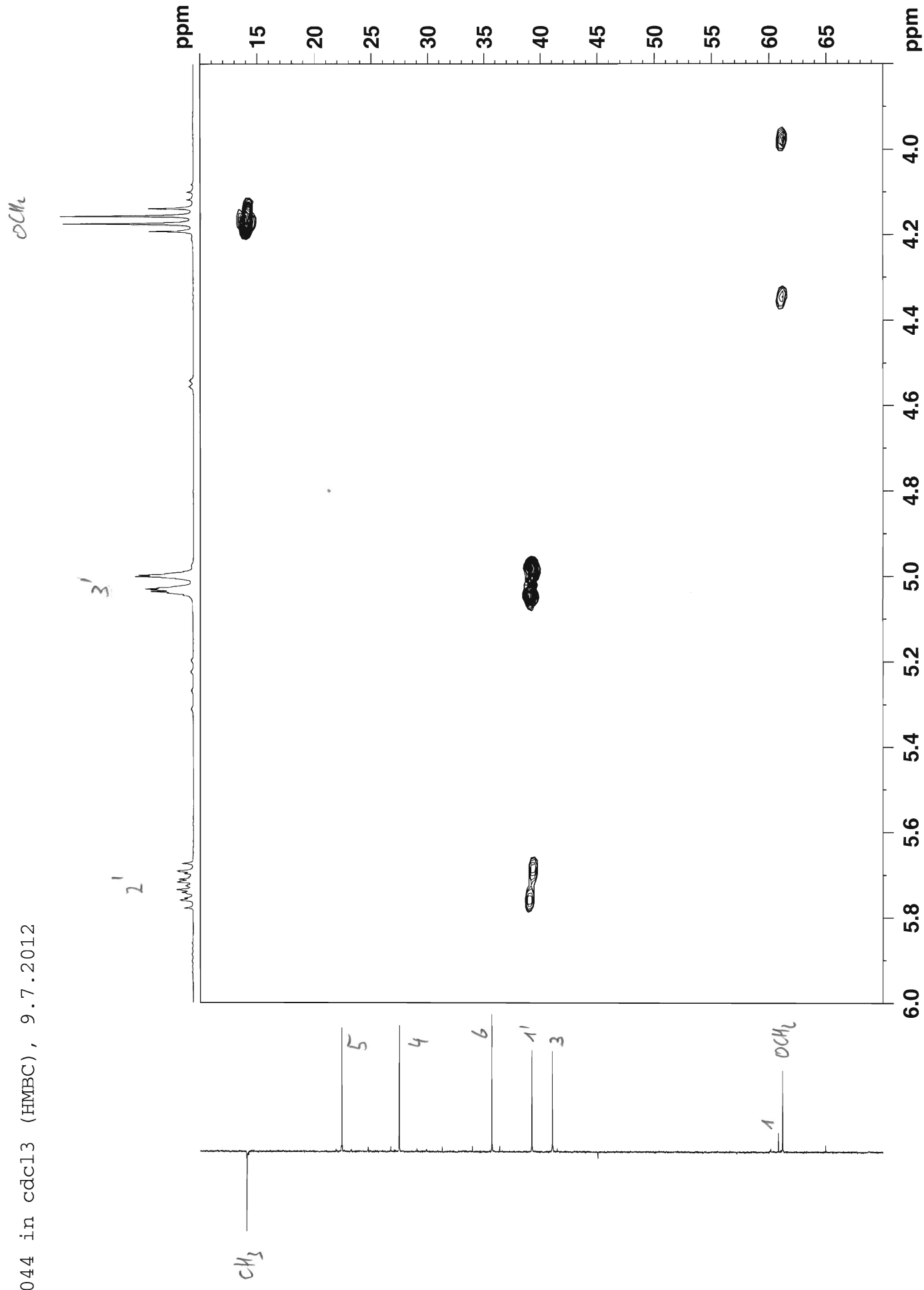


at044 in cdcl3 (HMBC), 9.7.2012

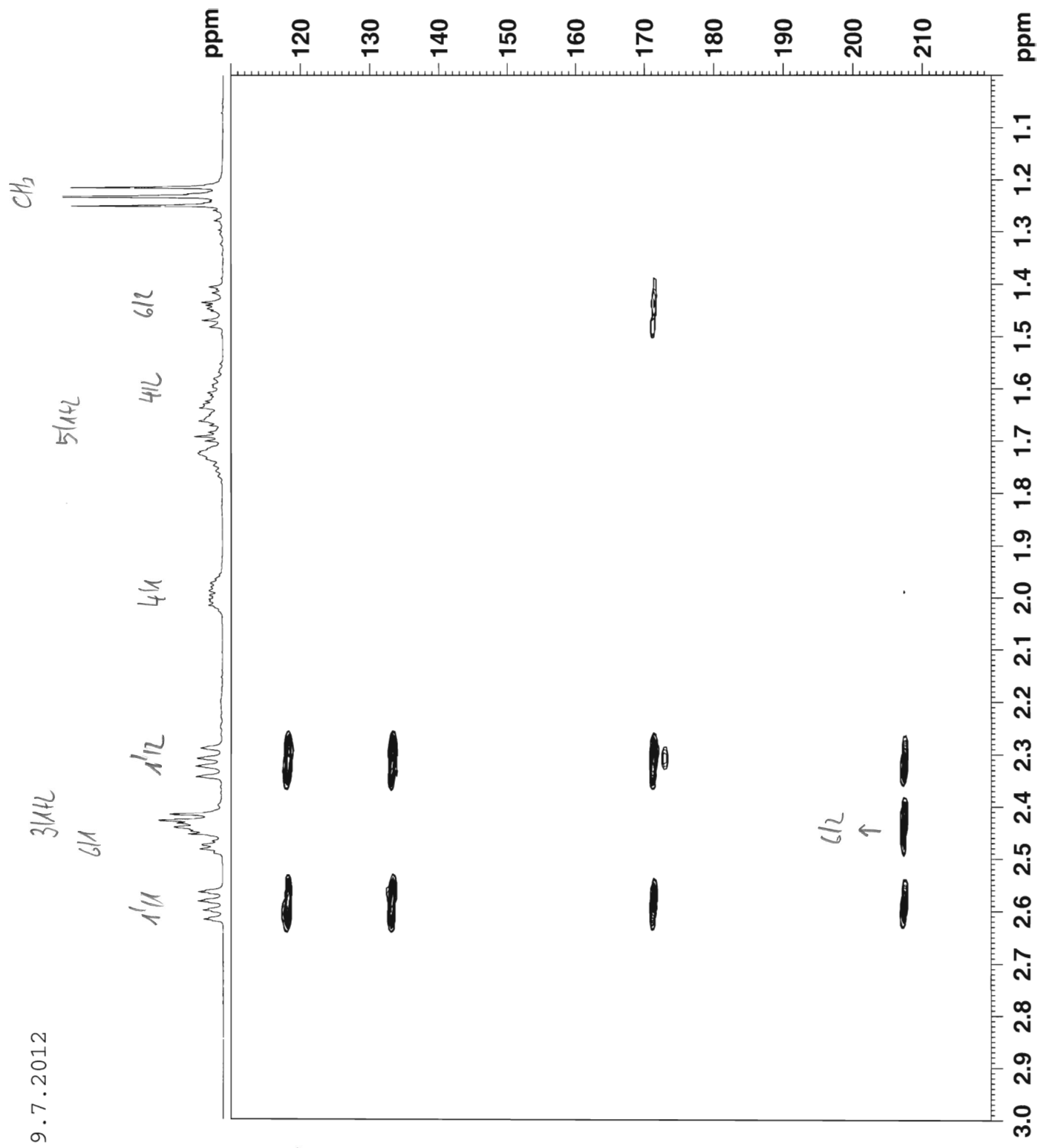
OCMe



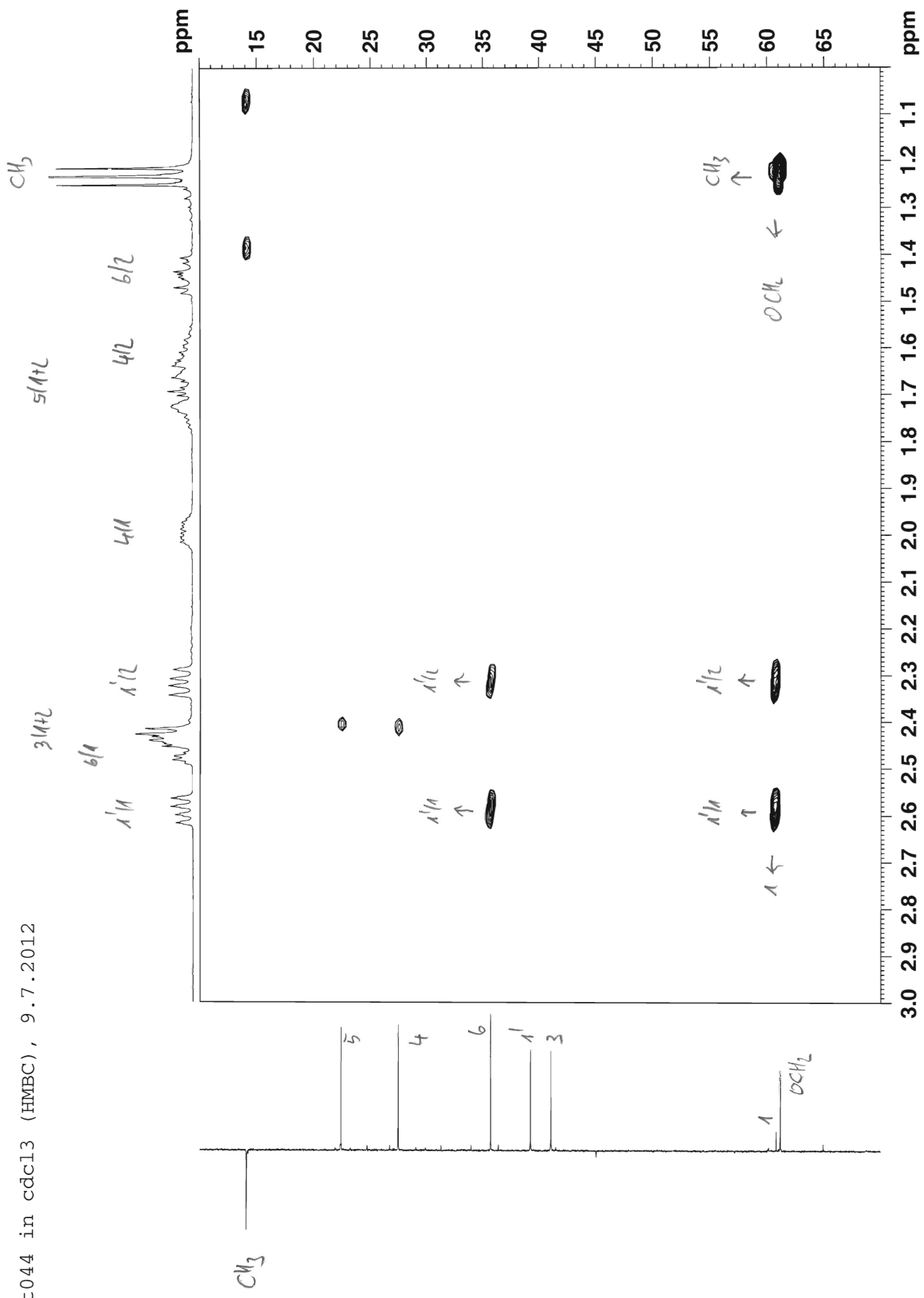
at044 in cdcl3 (HMBC), 9.7.2012

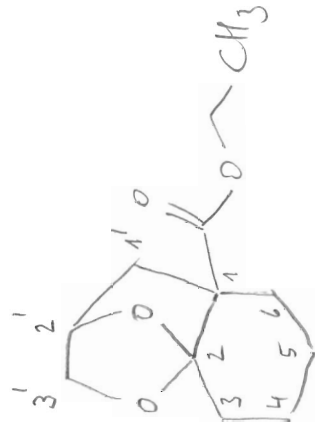


at044 in cdcl3 (HMBC), 9.7.2012



at044 in cdcl3 (HMBC), 9.7.2012



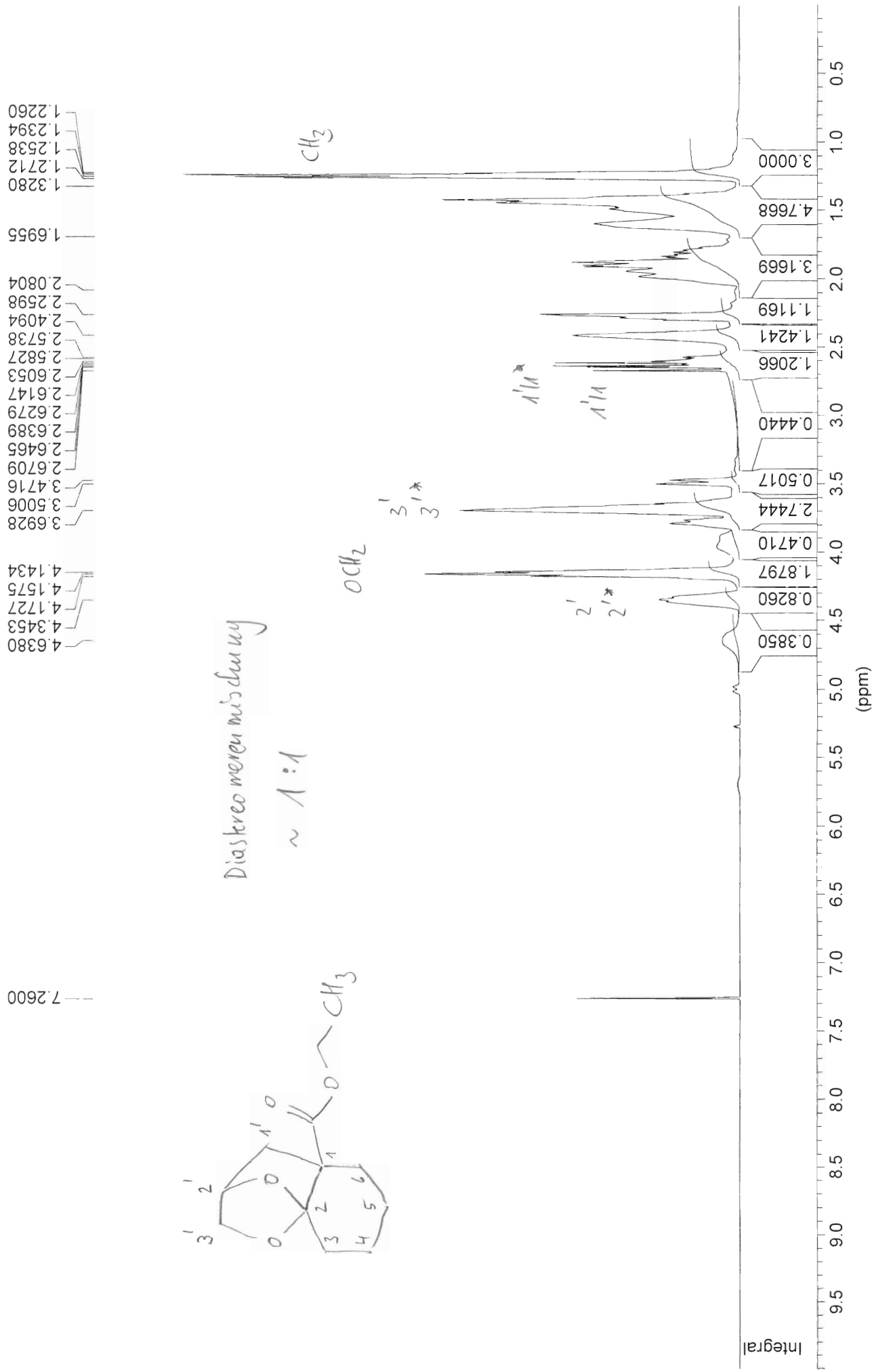


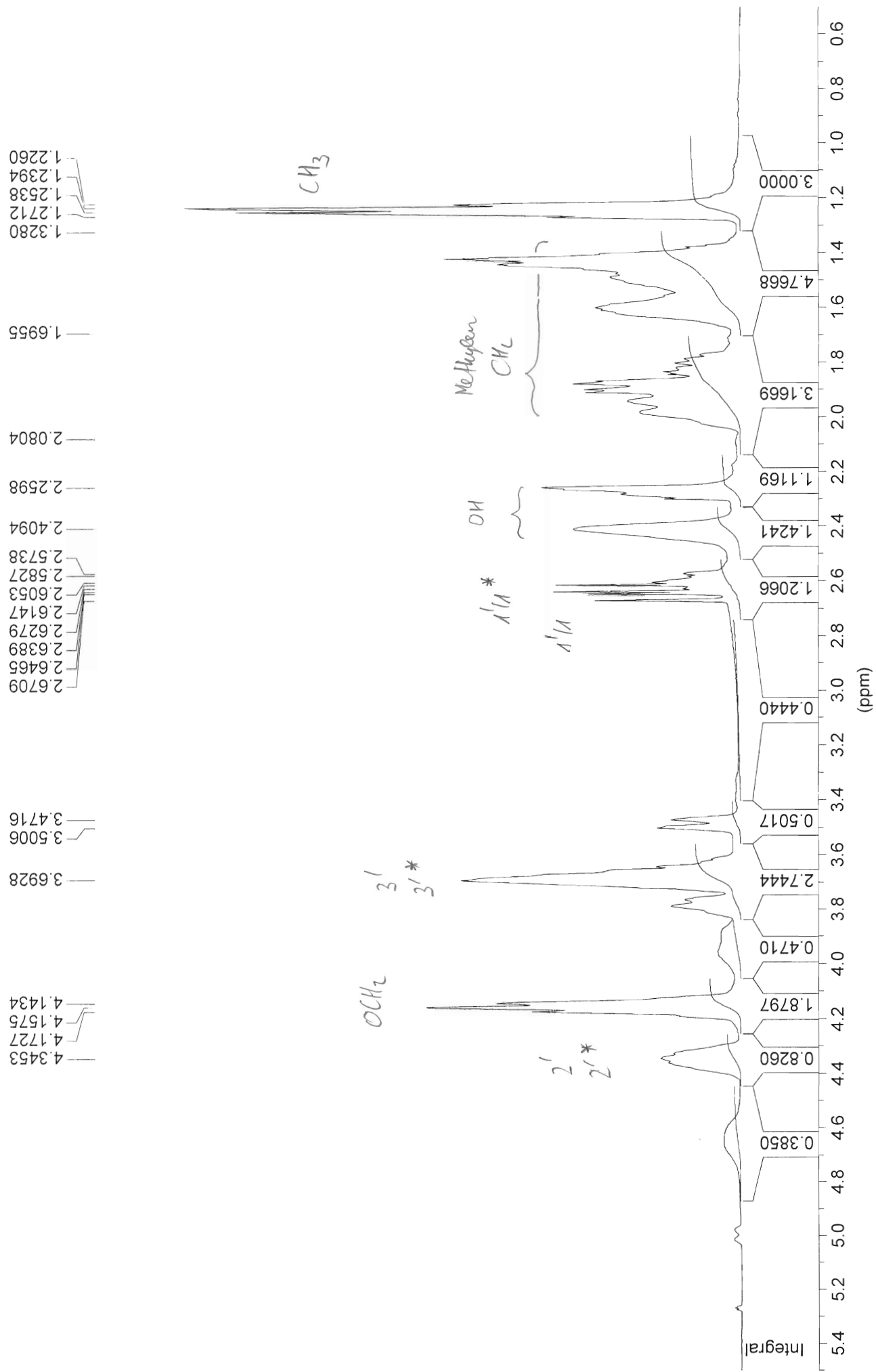
Diastereo meren misduing

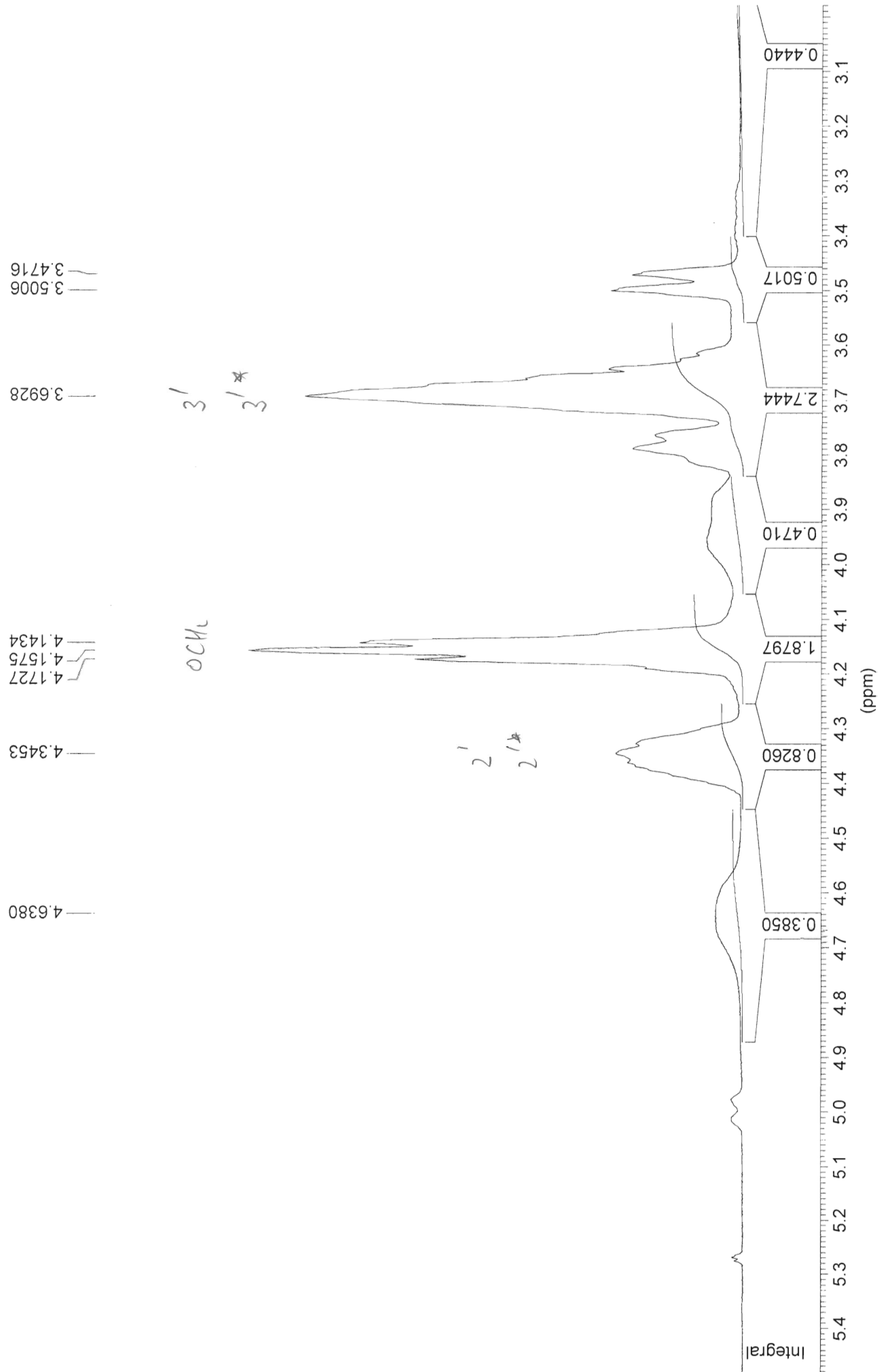
~ 1:1

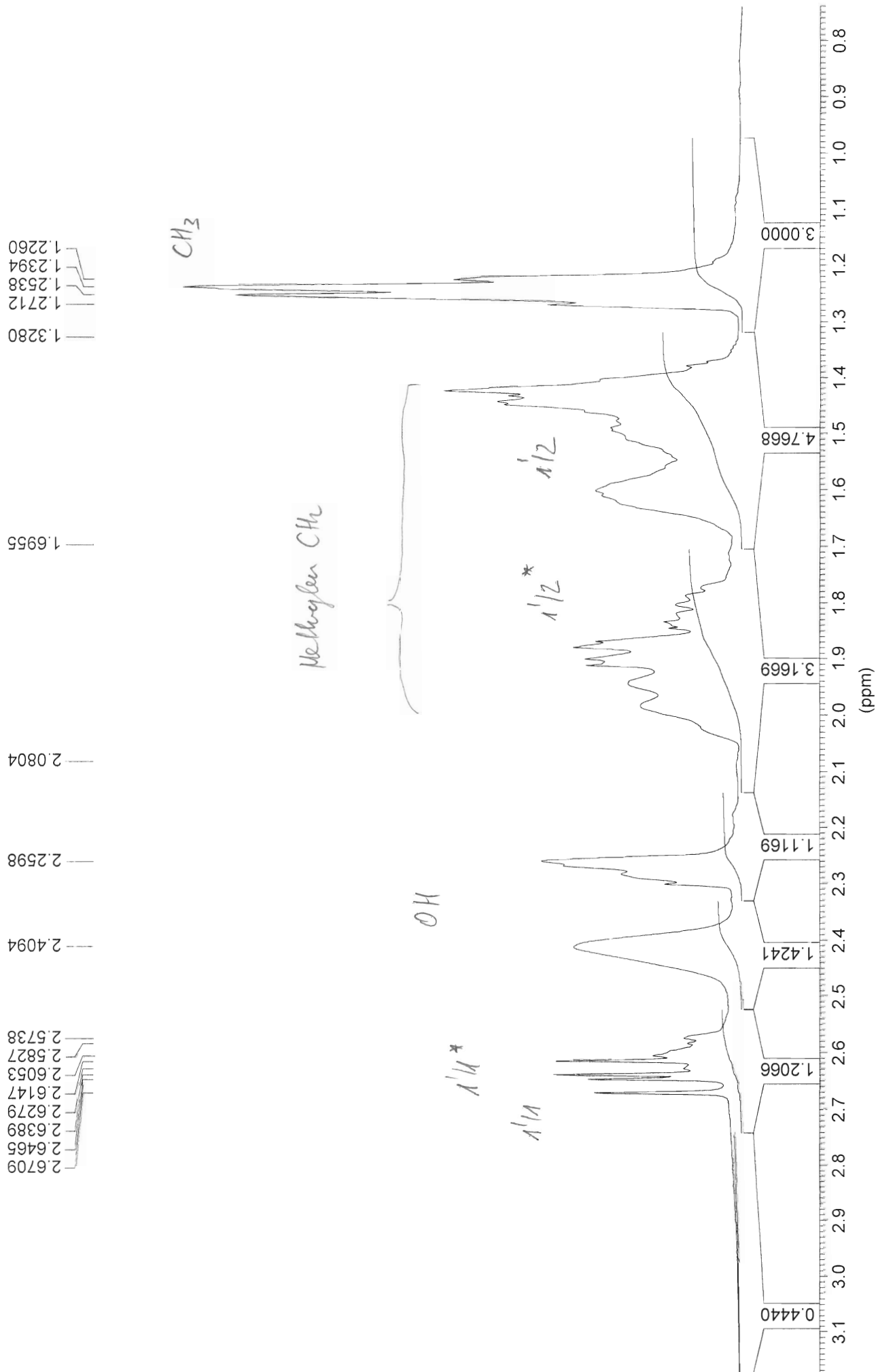
OCH₂

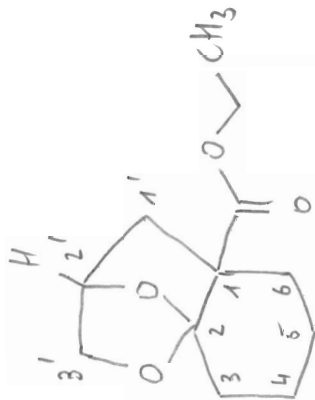
CH₃



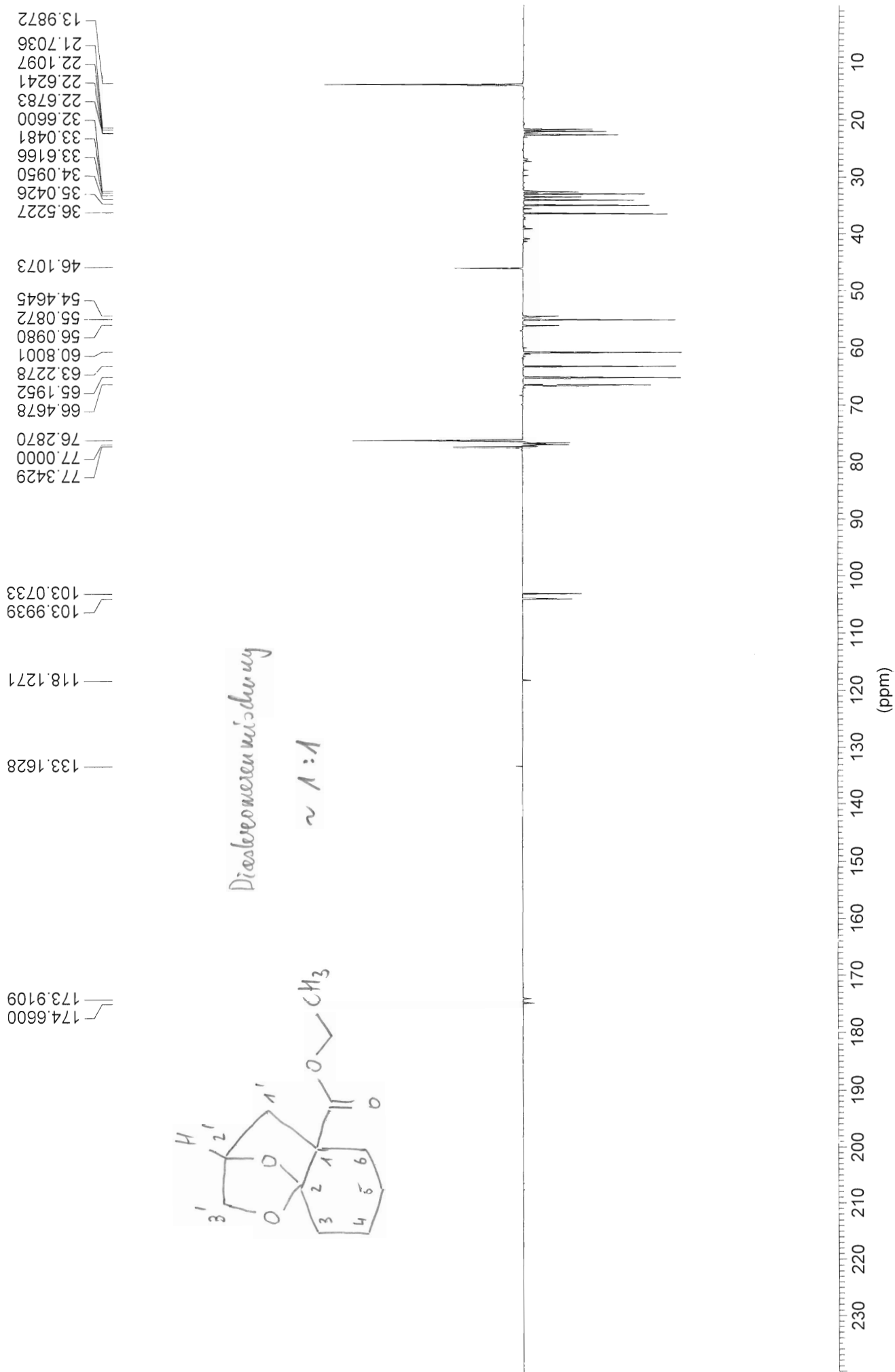




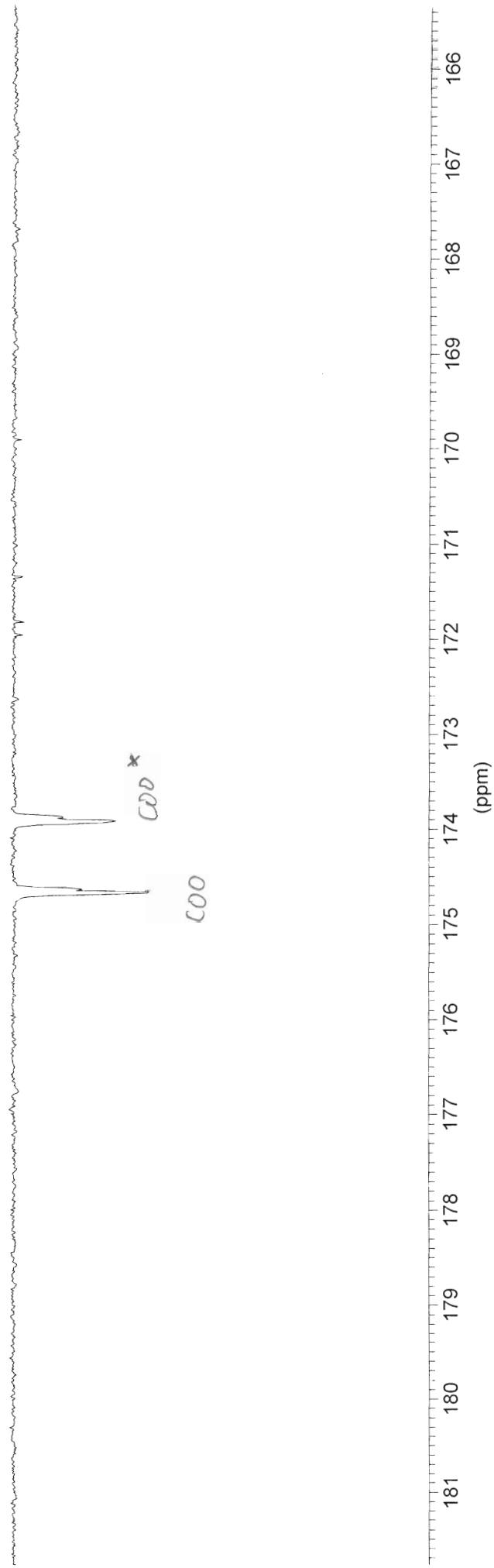




Diastereomerenmischung
~ 1:1

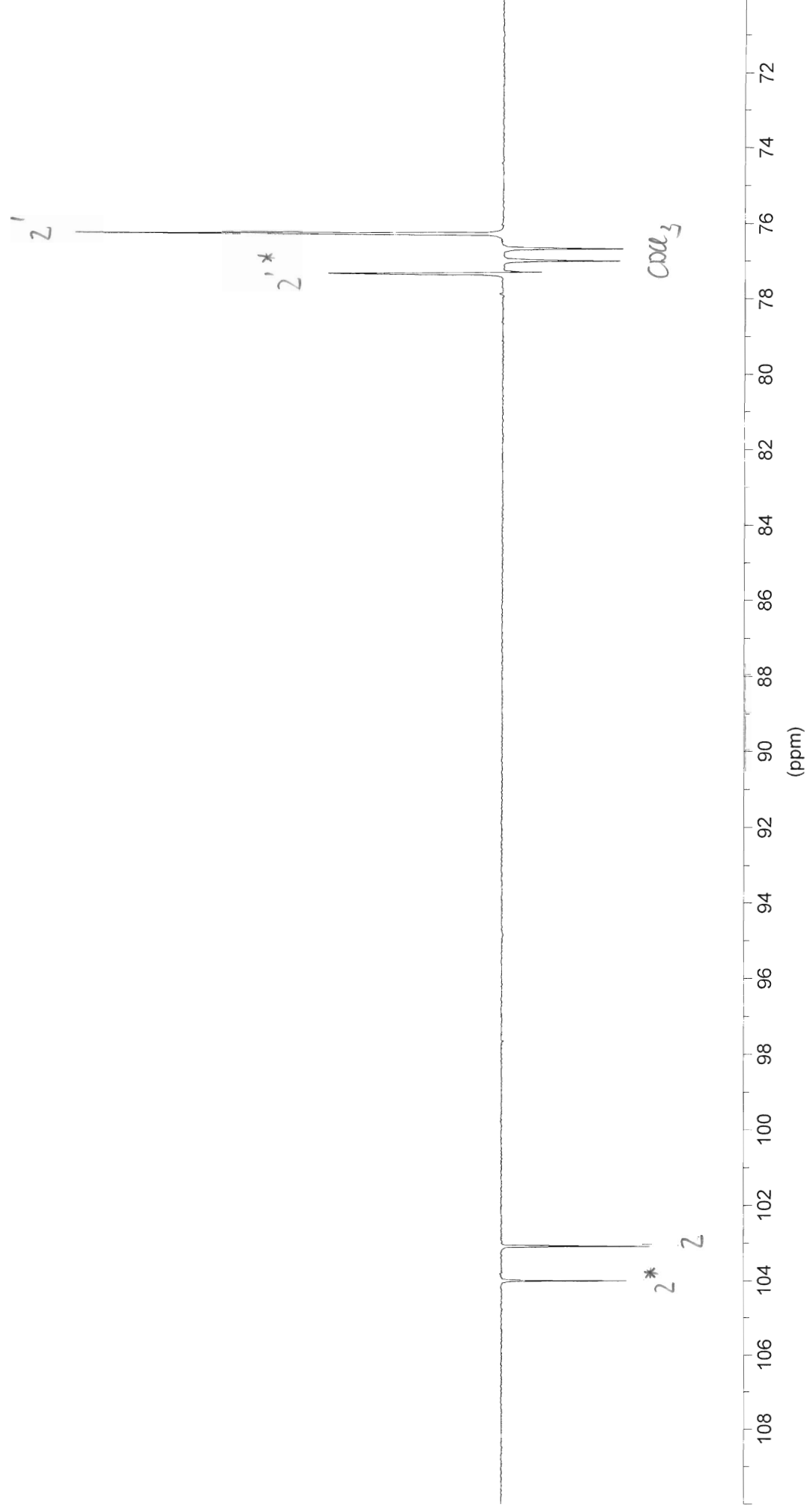


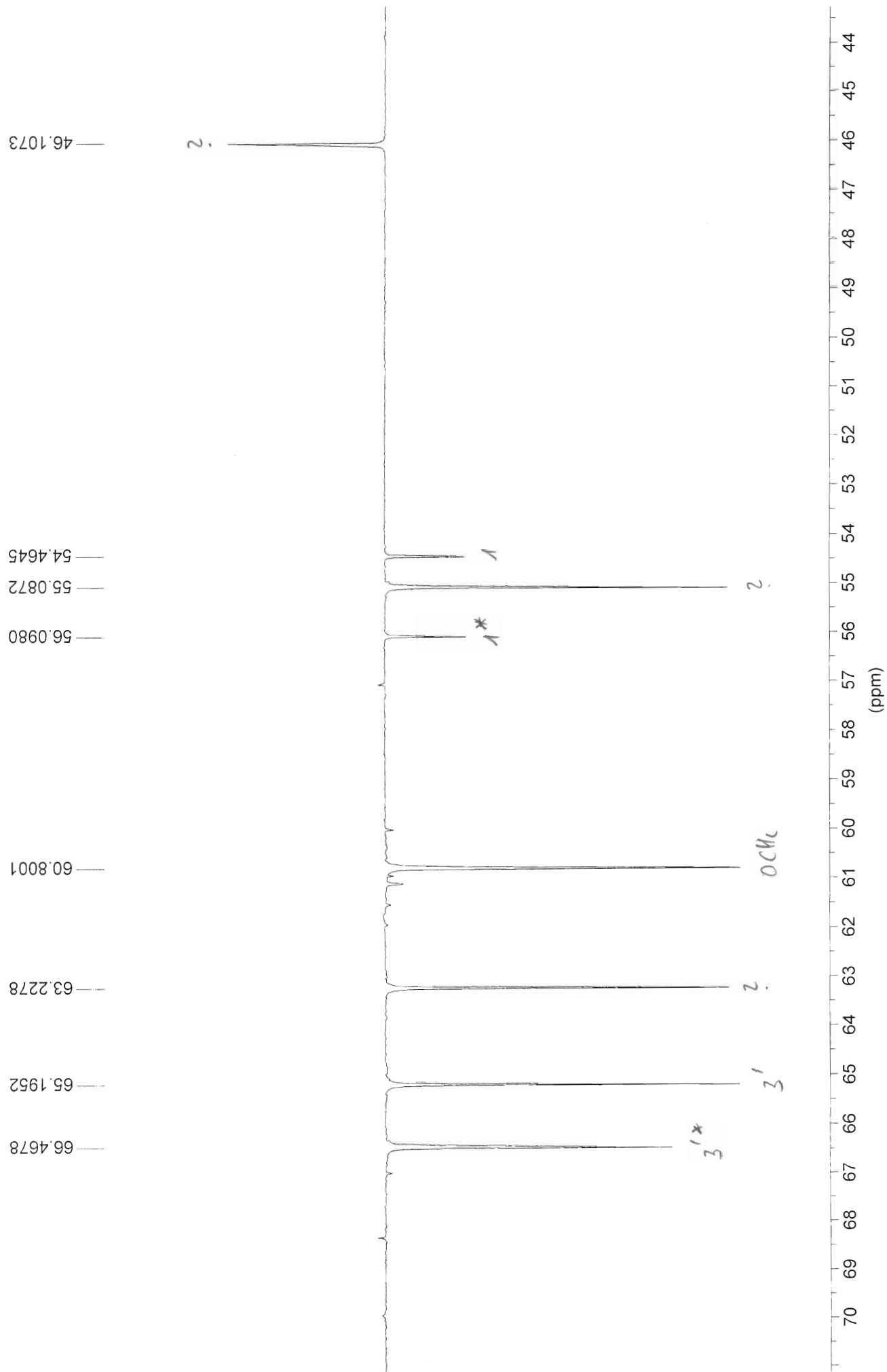
— 174.6600
— 173.9109

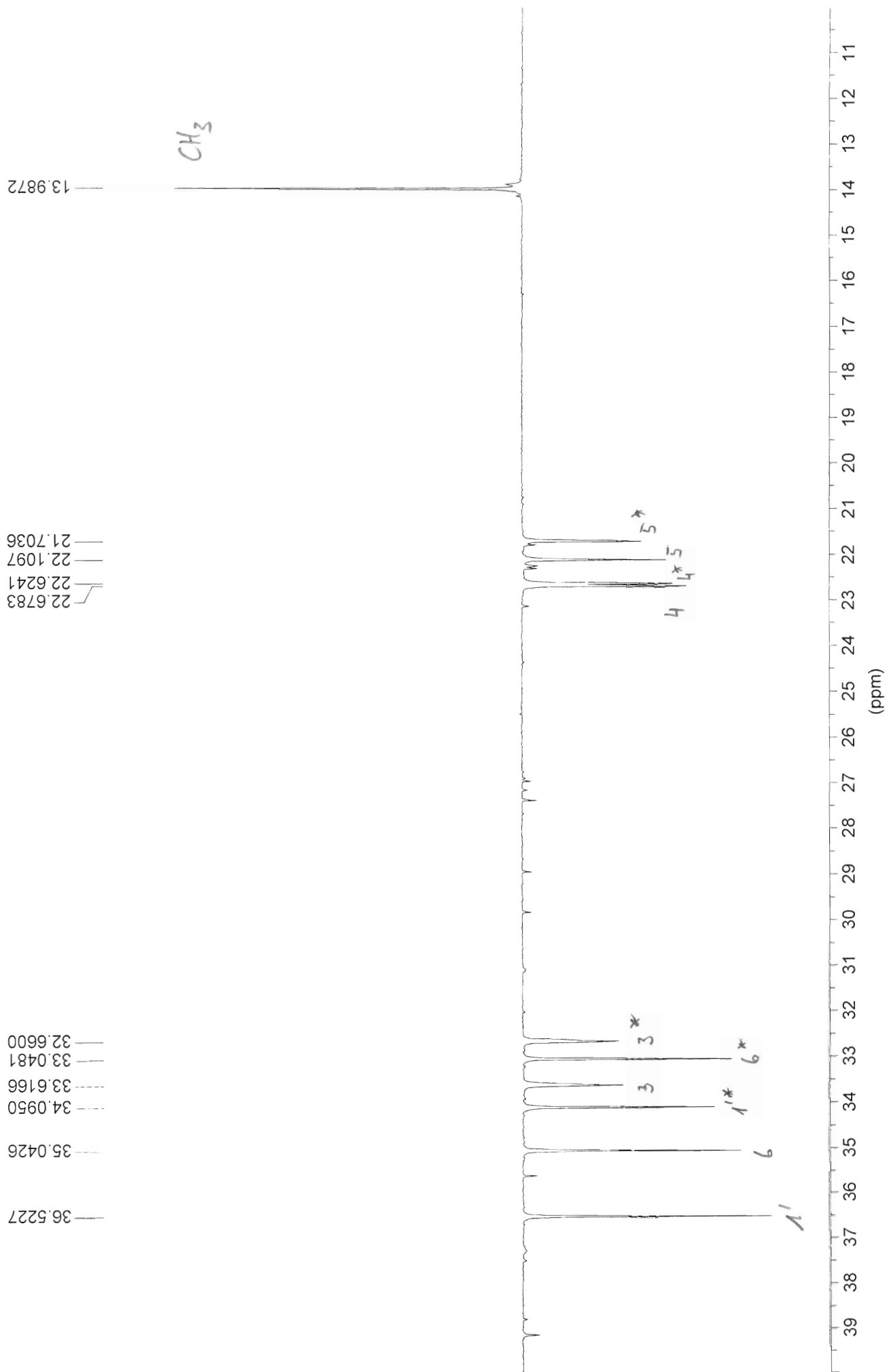


103.9939
103.0733

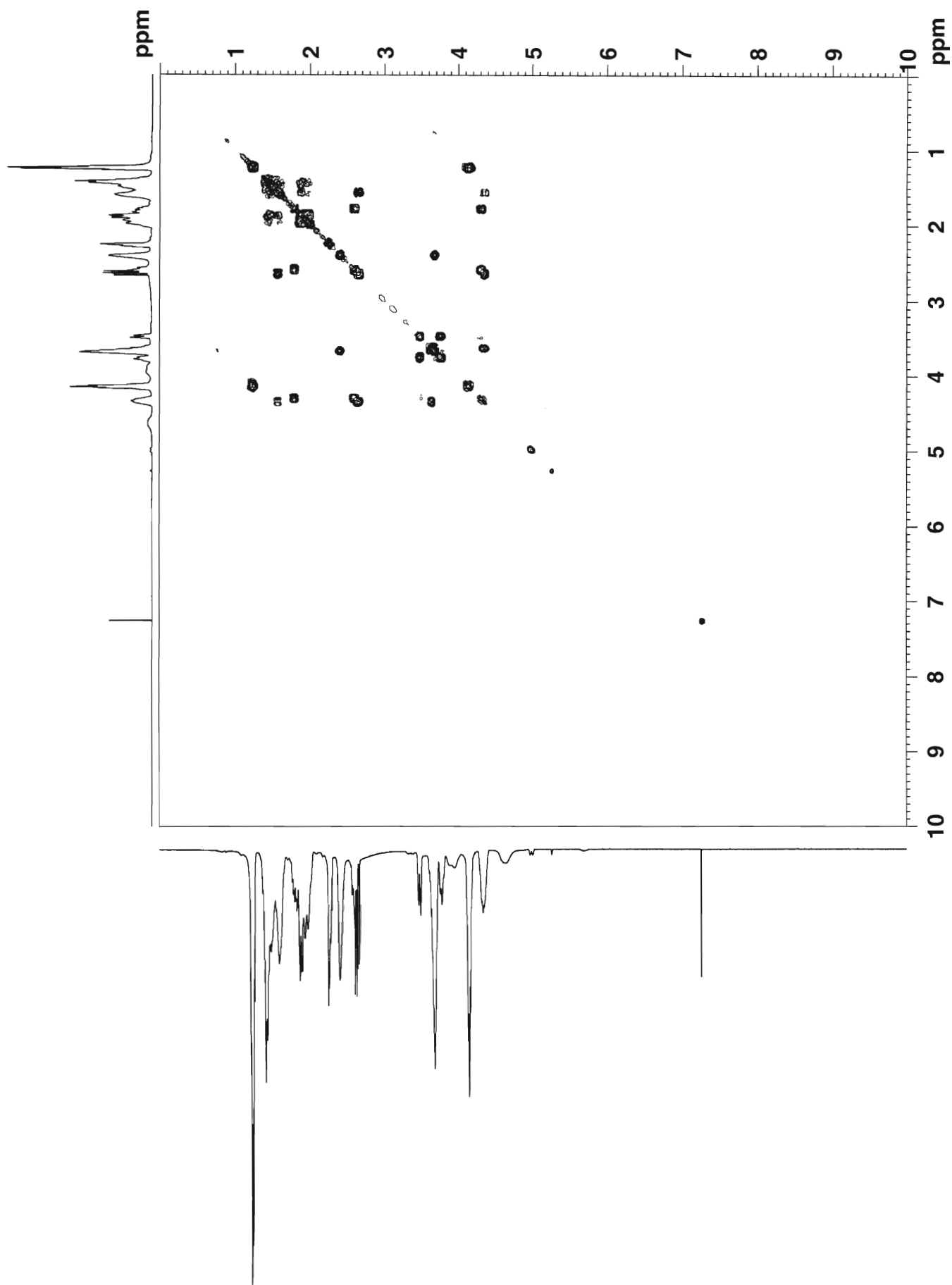
77.3429
77.0000
76.2870

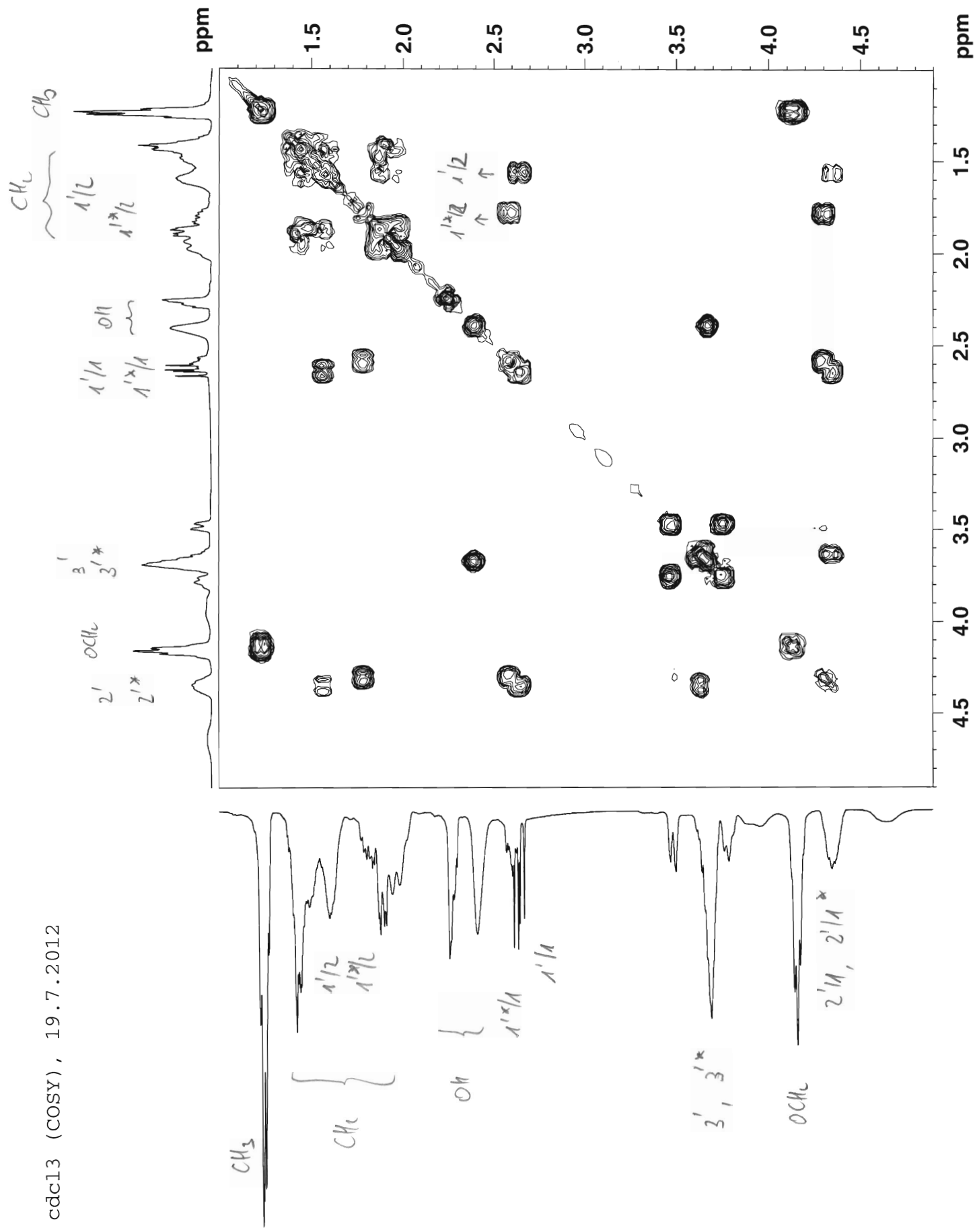




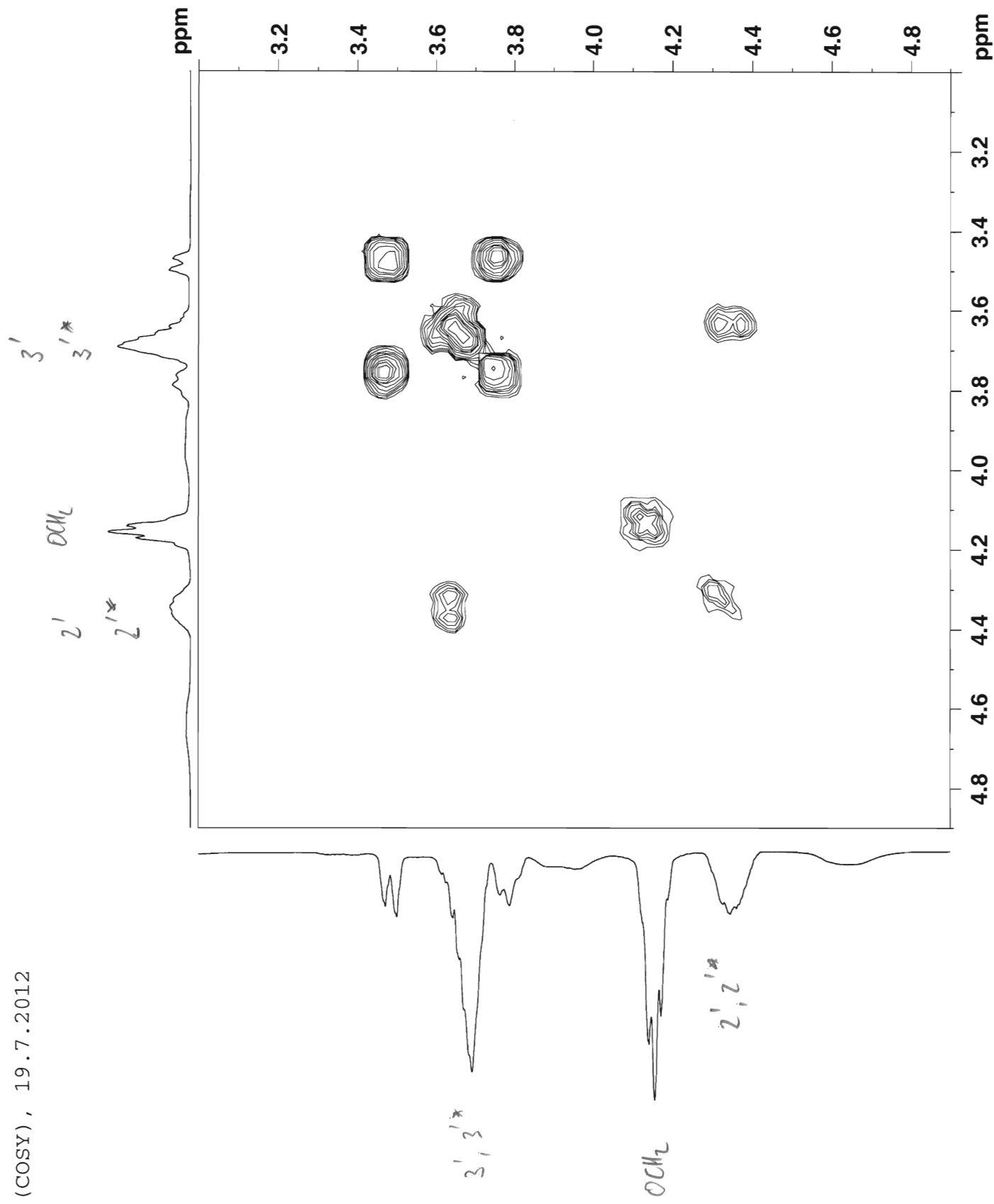


at045a in cdcl3 (COSY), 19.7.2012

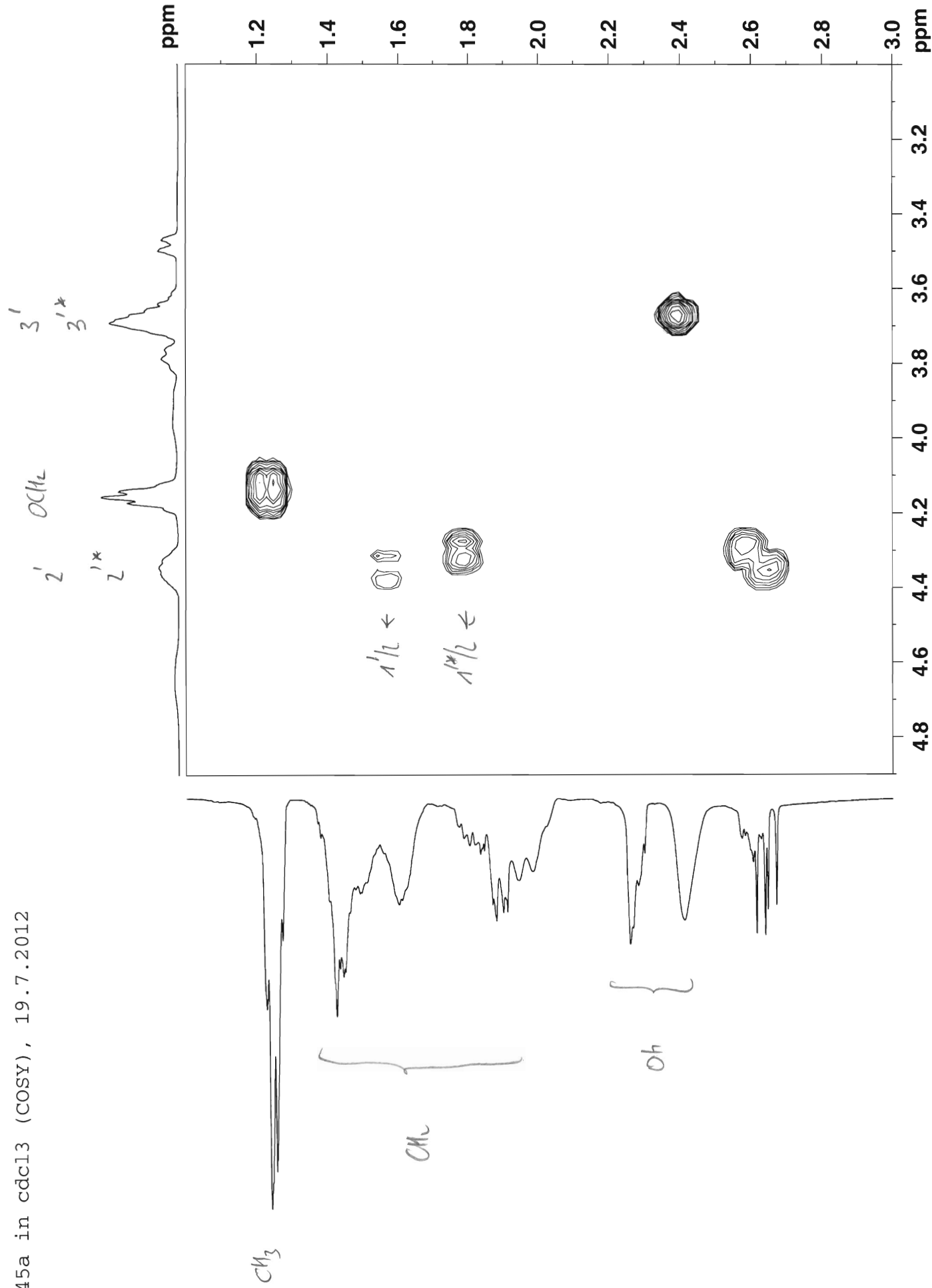




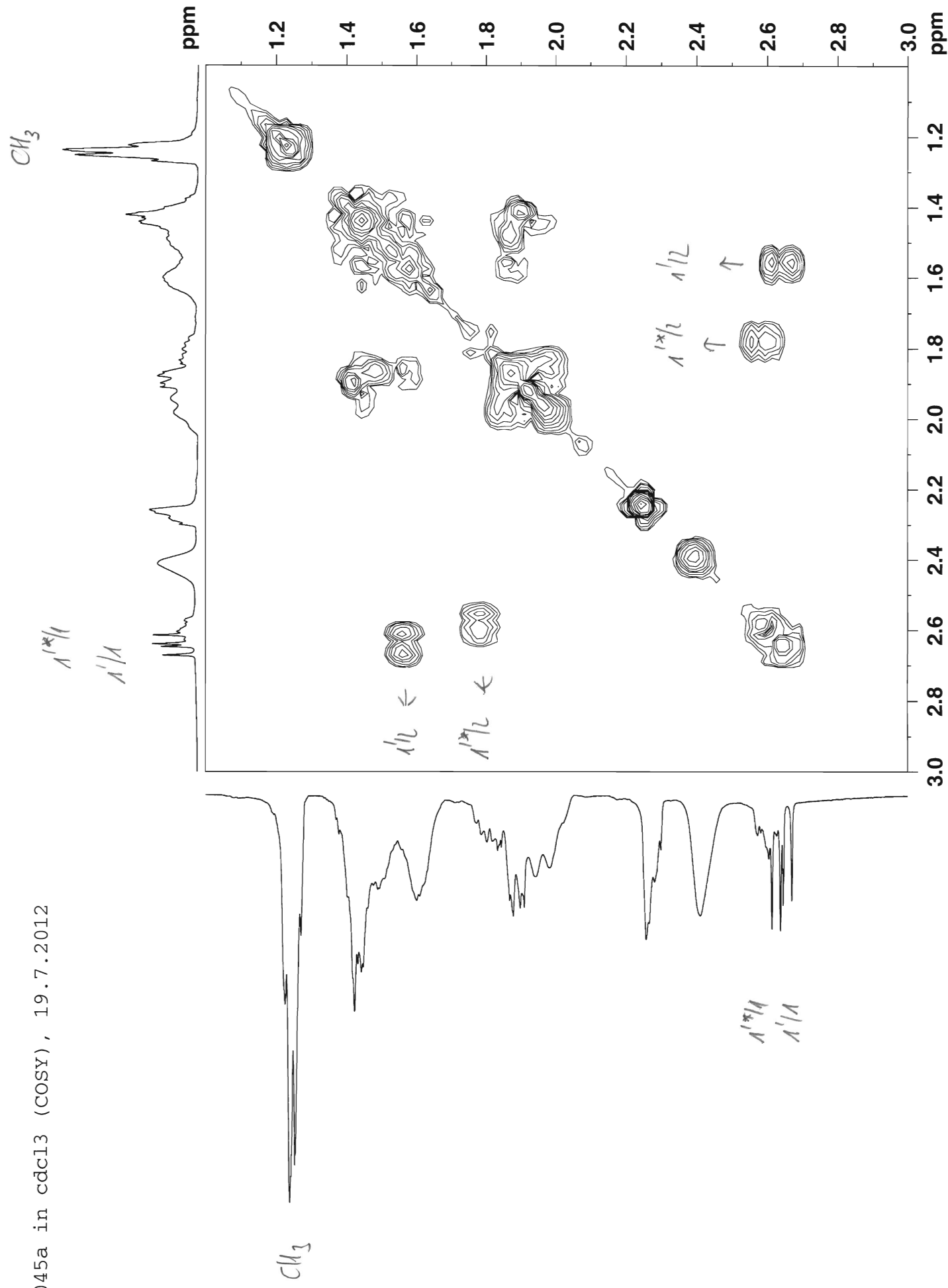
at045a in cdcl3 (COSY), 19.7.2012



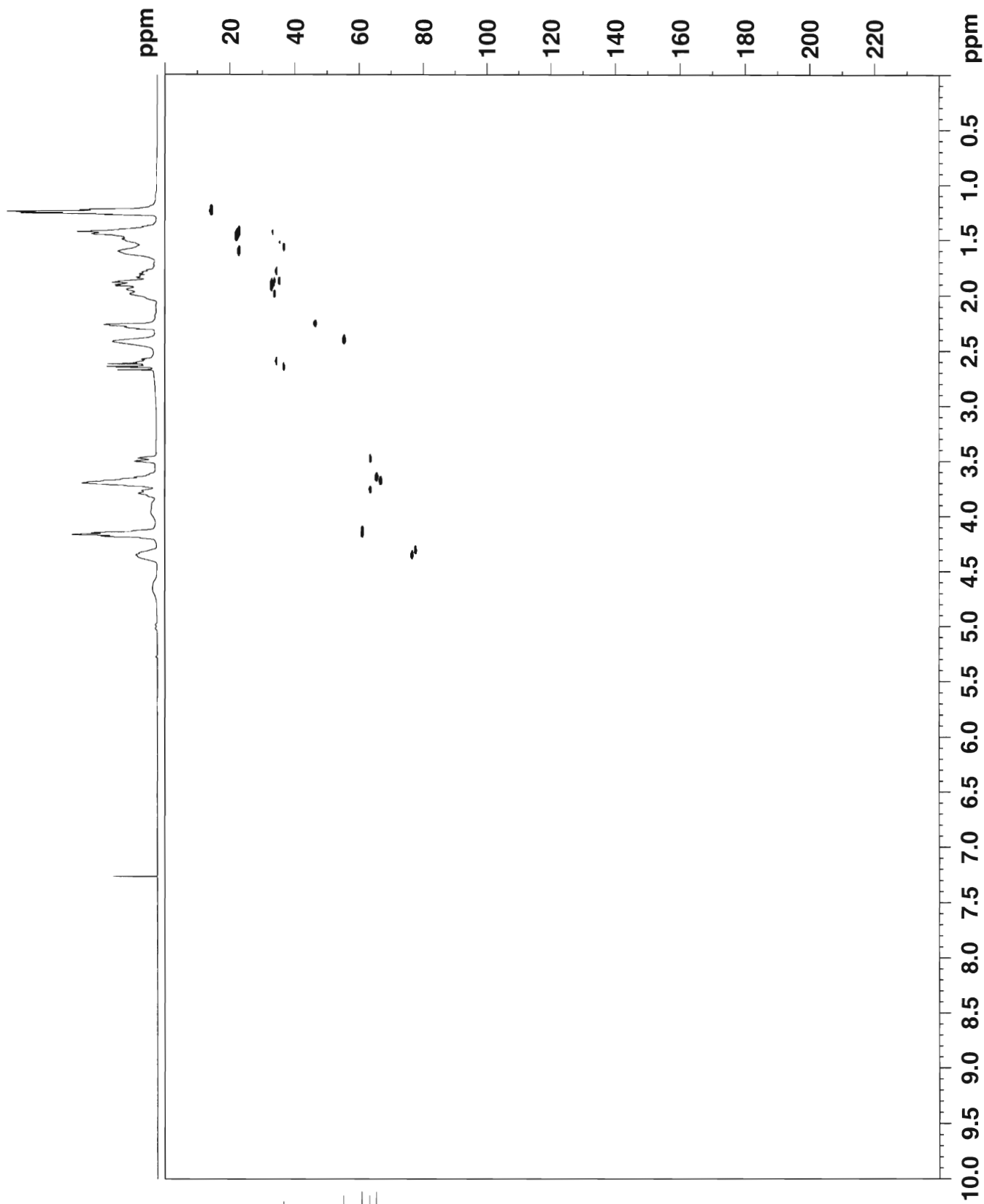
at045a in cdcl3 (COSY), 19.7.2012



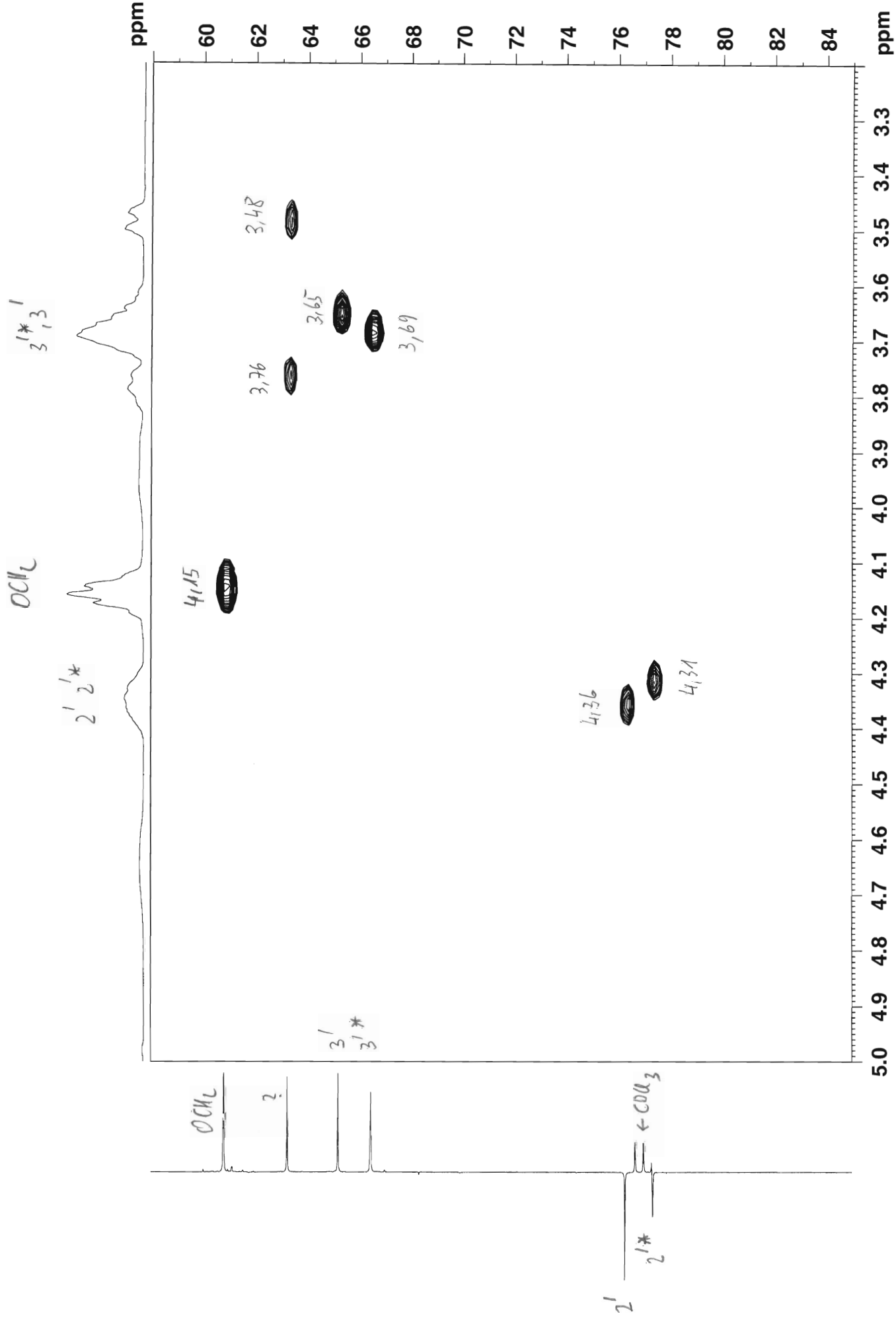
at045a in cdcl3 (COSY), 19.7.2012



at045a in cdcl3 (HSQC), 19.7.2012

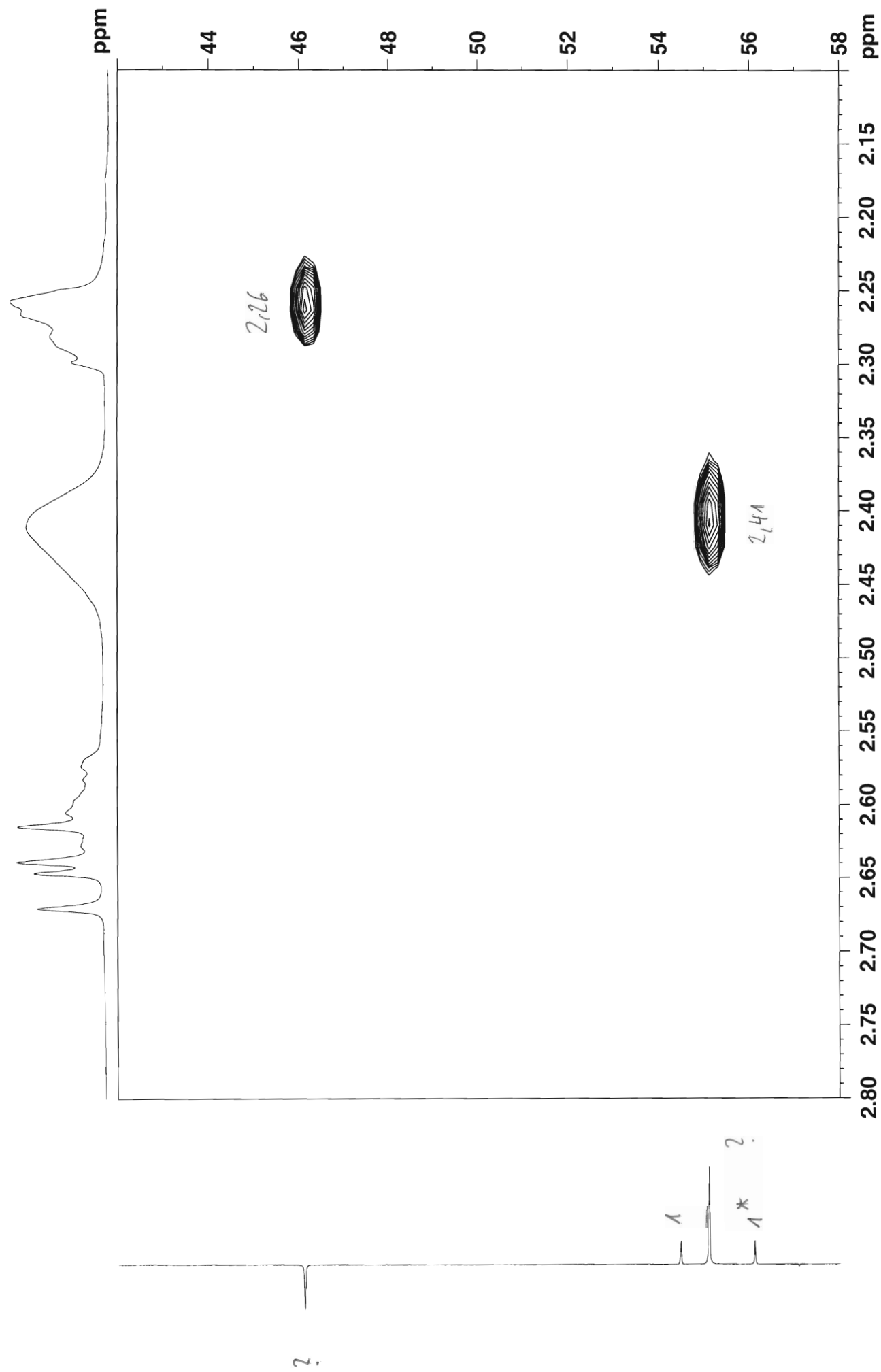


at045a in cdcl3 (HSQC), 19.7.2012

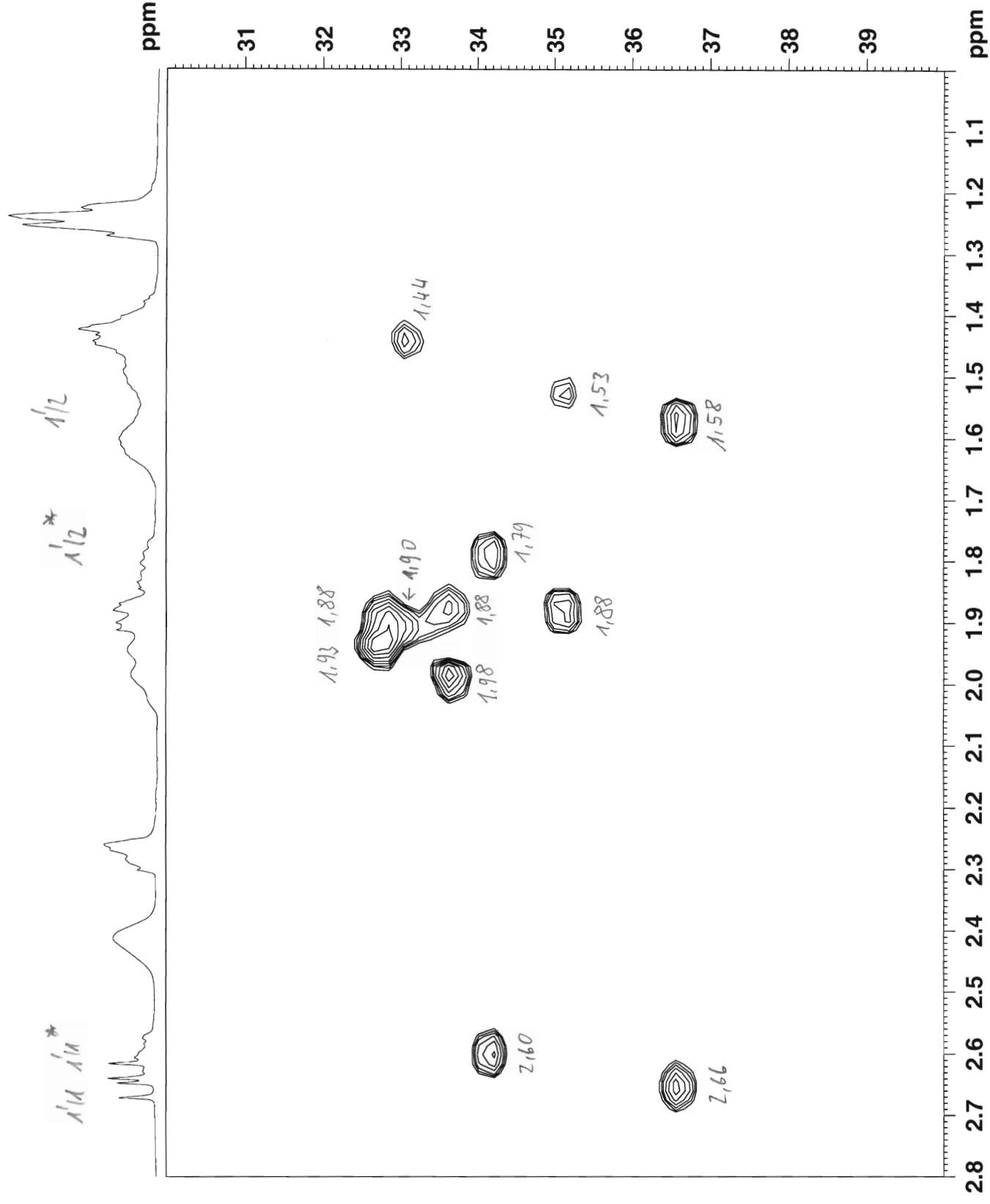


1^1H^*
 1^1H

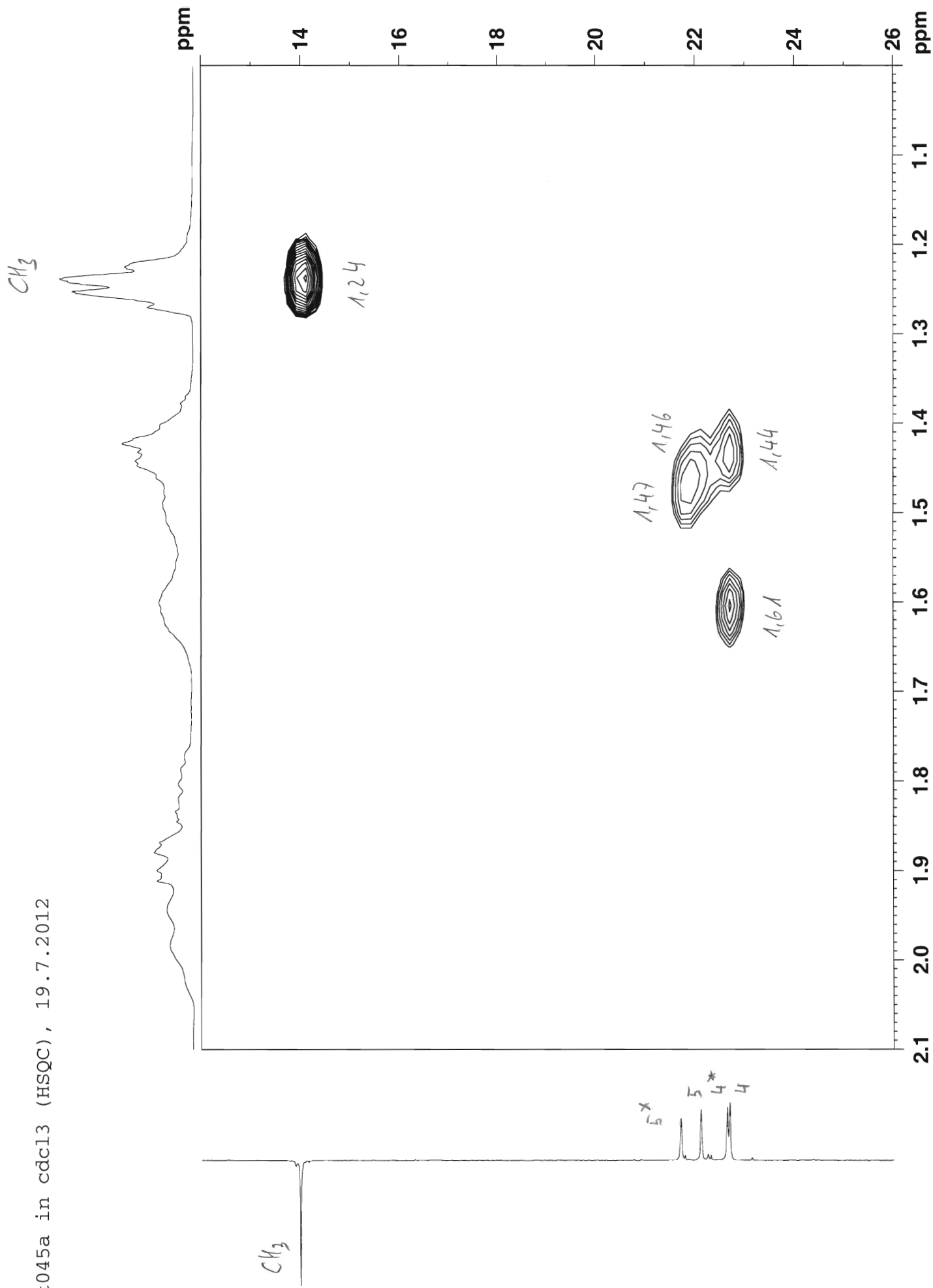
at045a in cdcl3 (HSQC), 19.7.2012



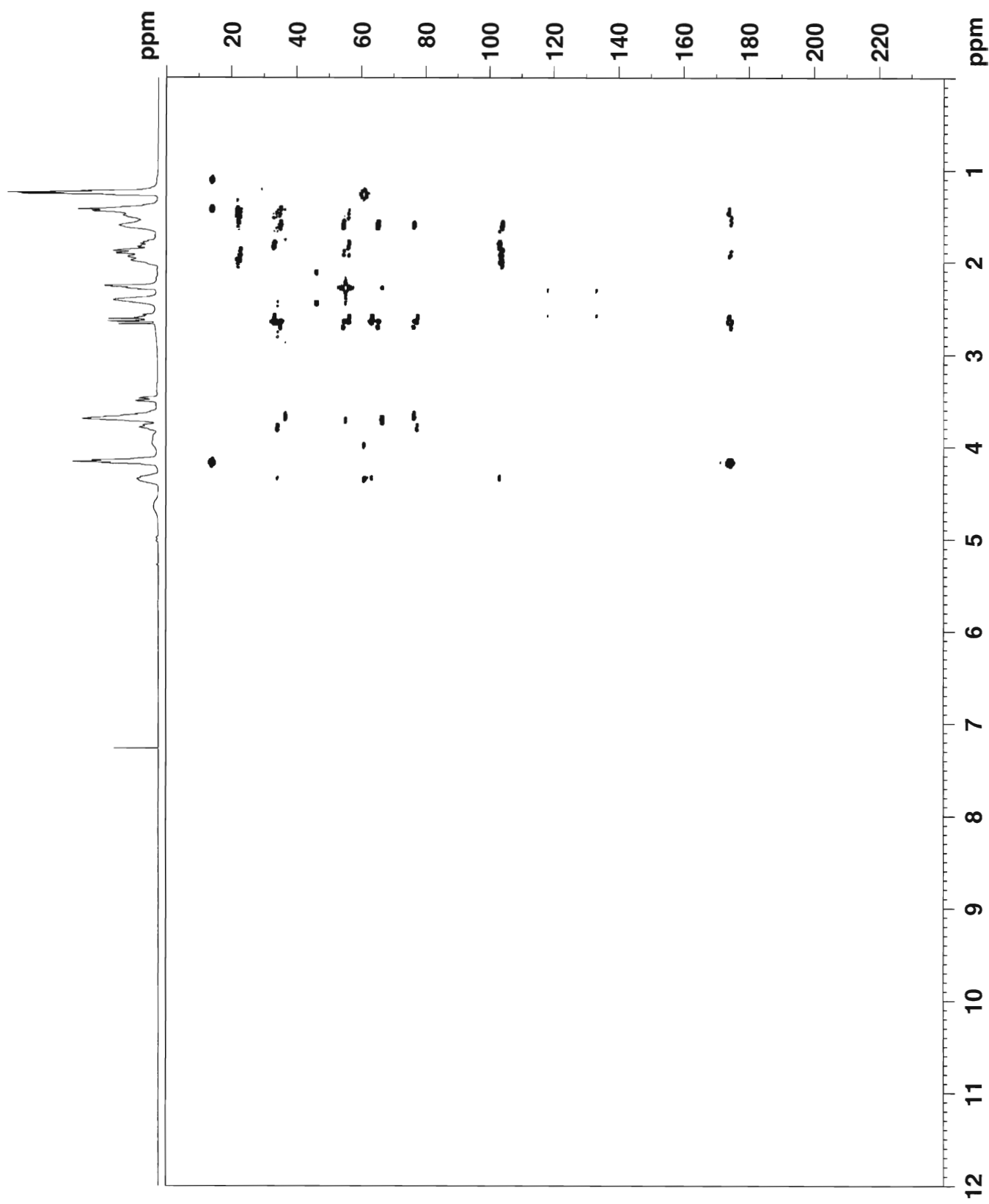
at045a in cdcl3 (HSQC), 19.7.2012

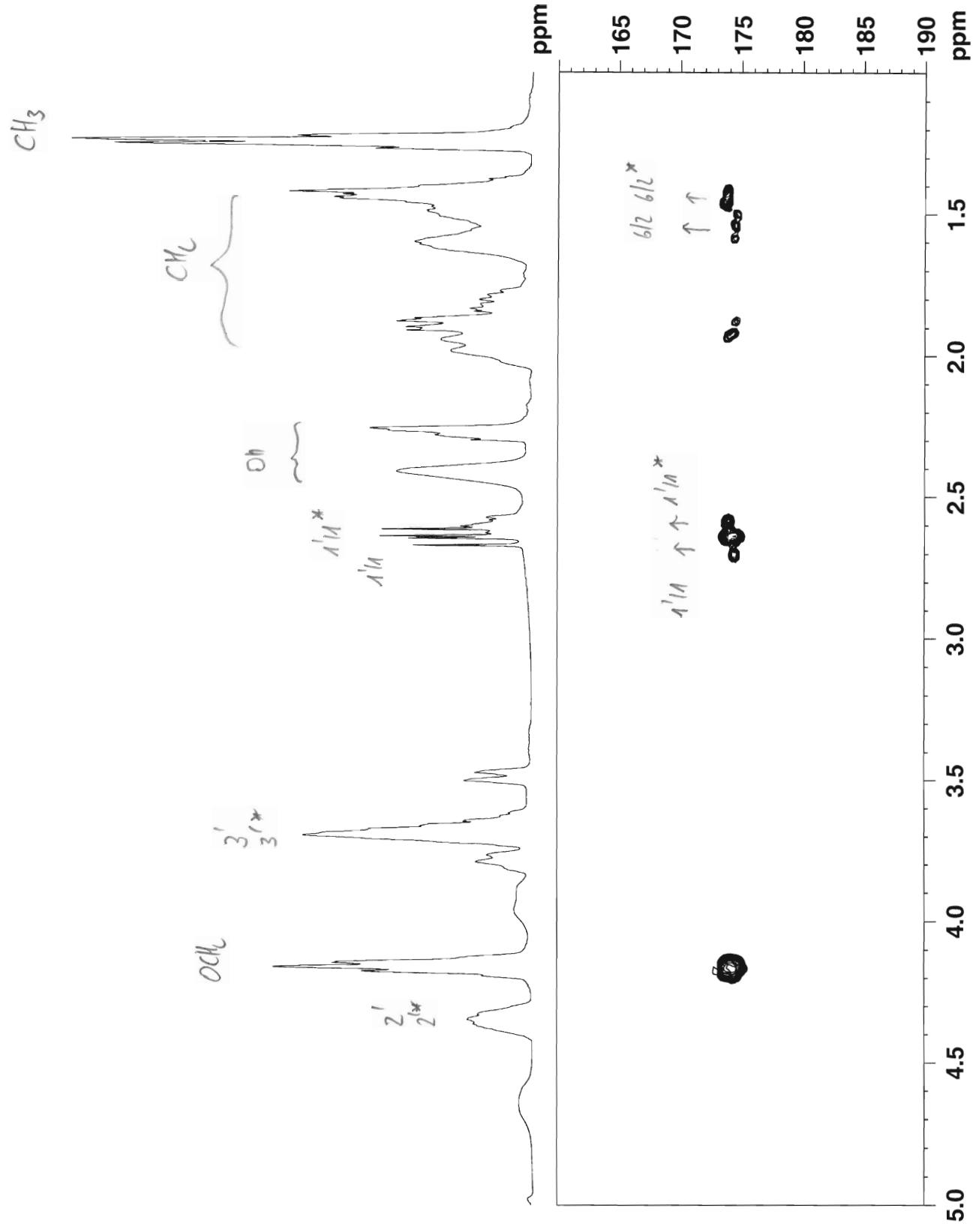


at045a in cdcl3 (HSQC), 19.7.2012

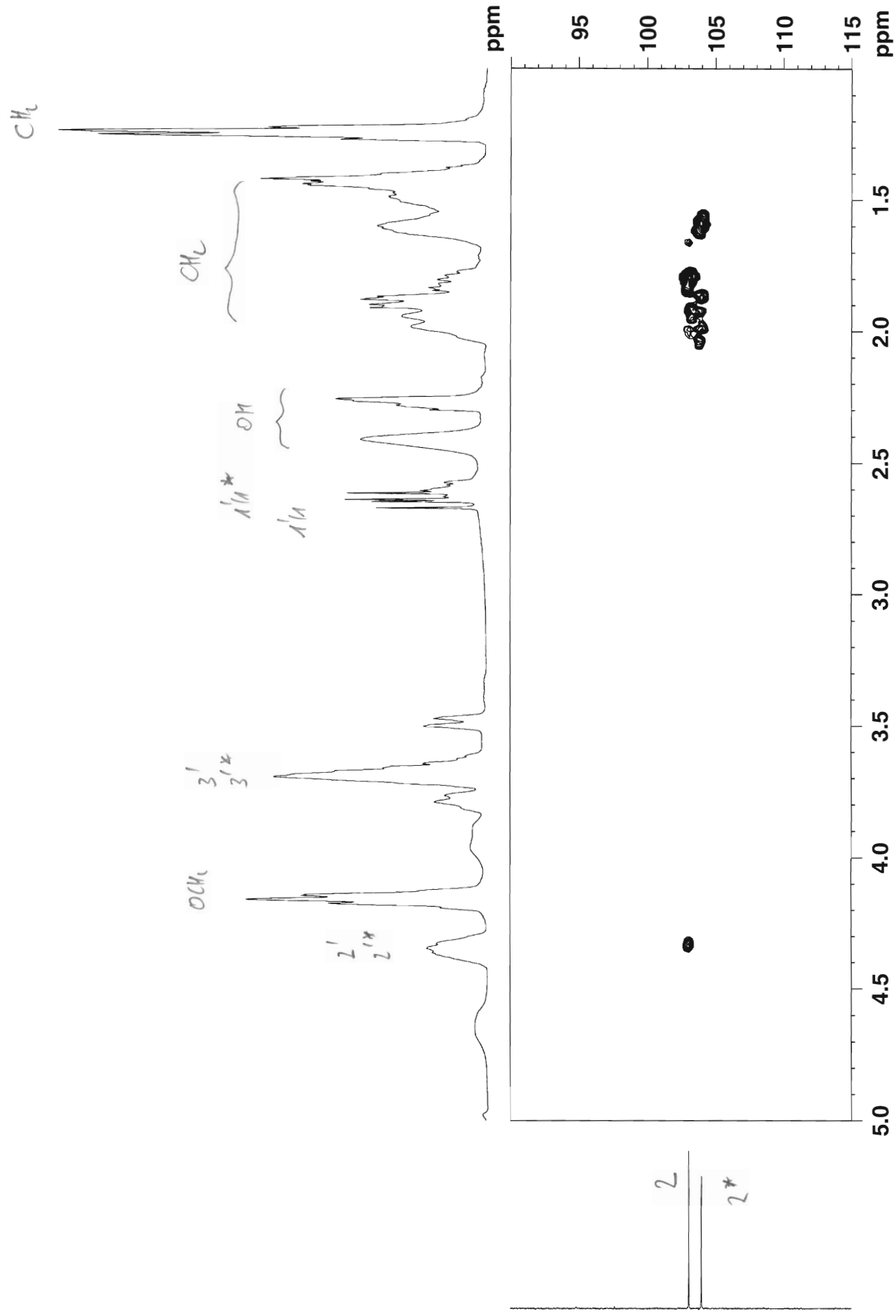


at045a in cdcl3 (HMBC), 19.7.2012

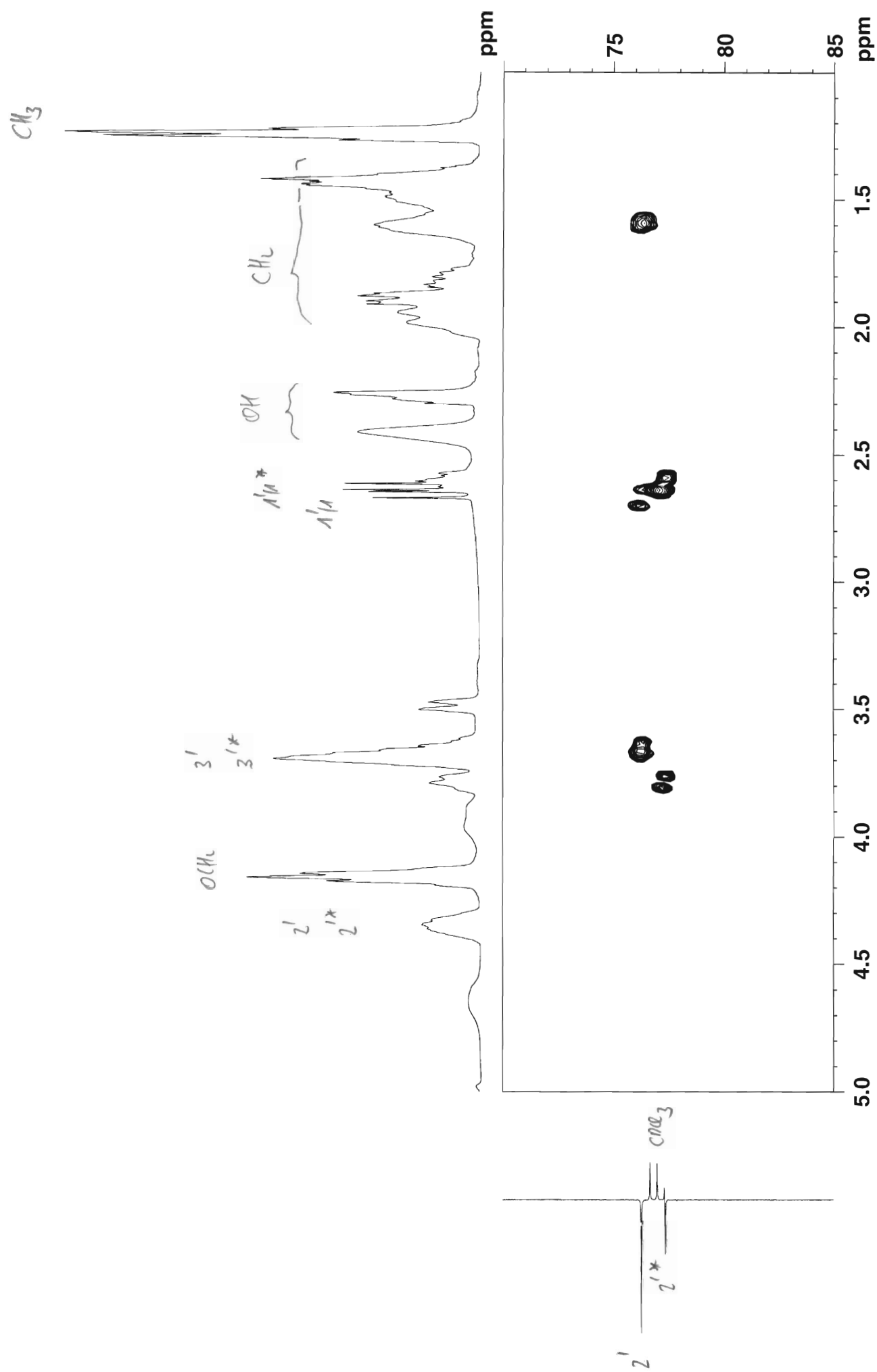


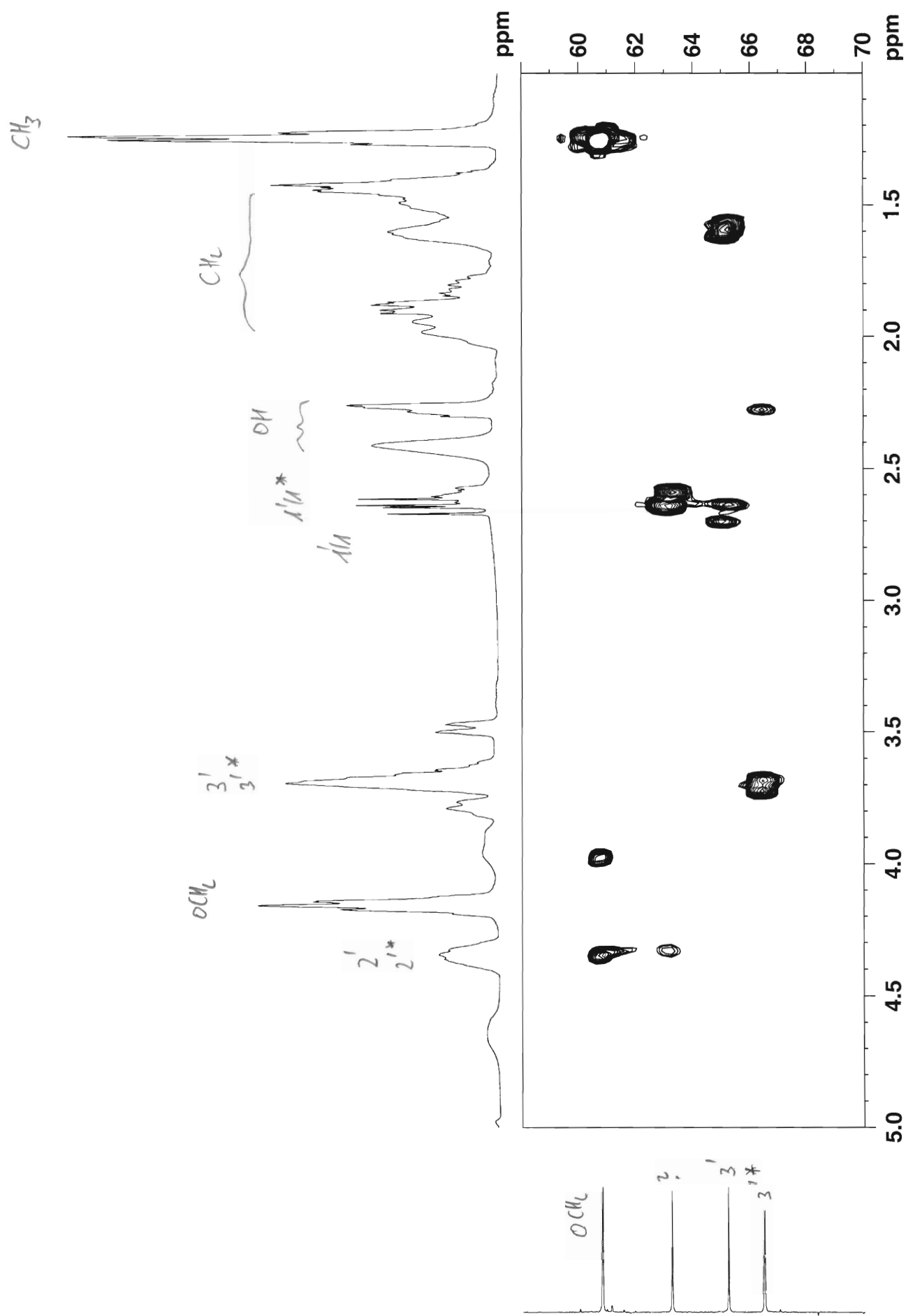


at045a in cdcl3 (HMBC), 19.7.2012

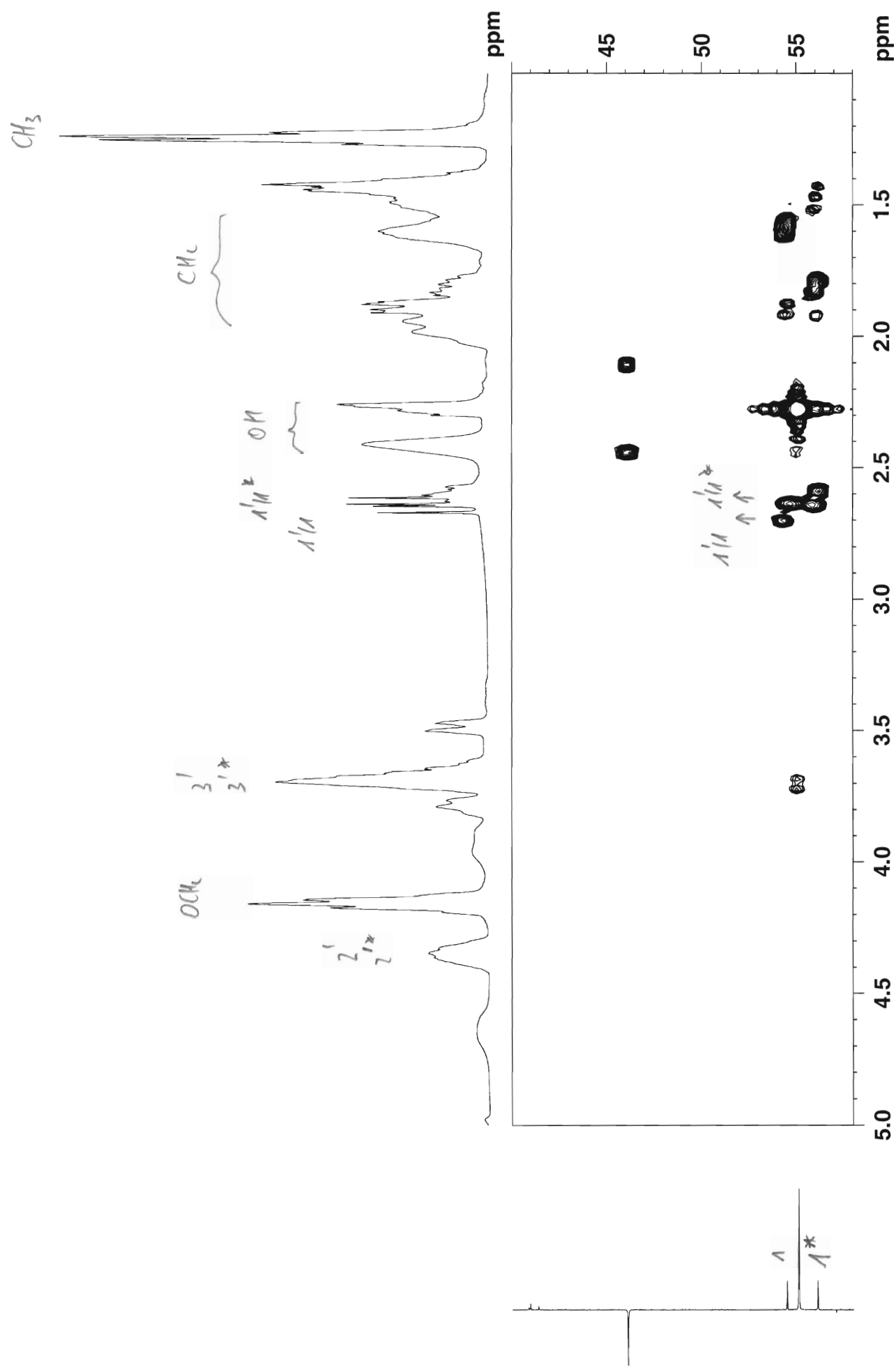


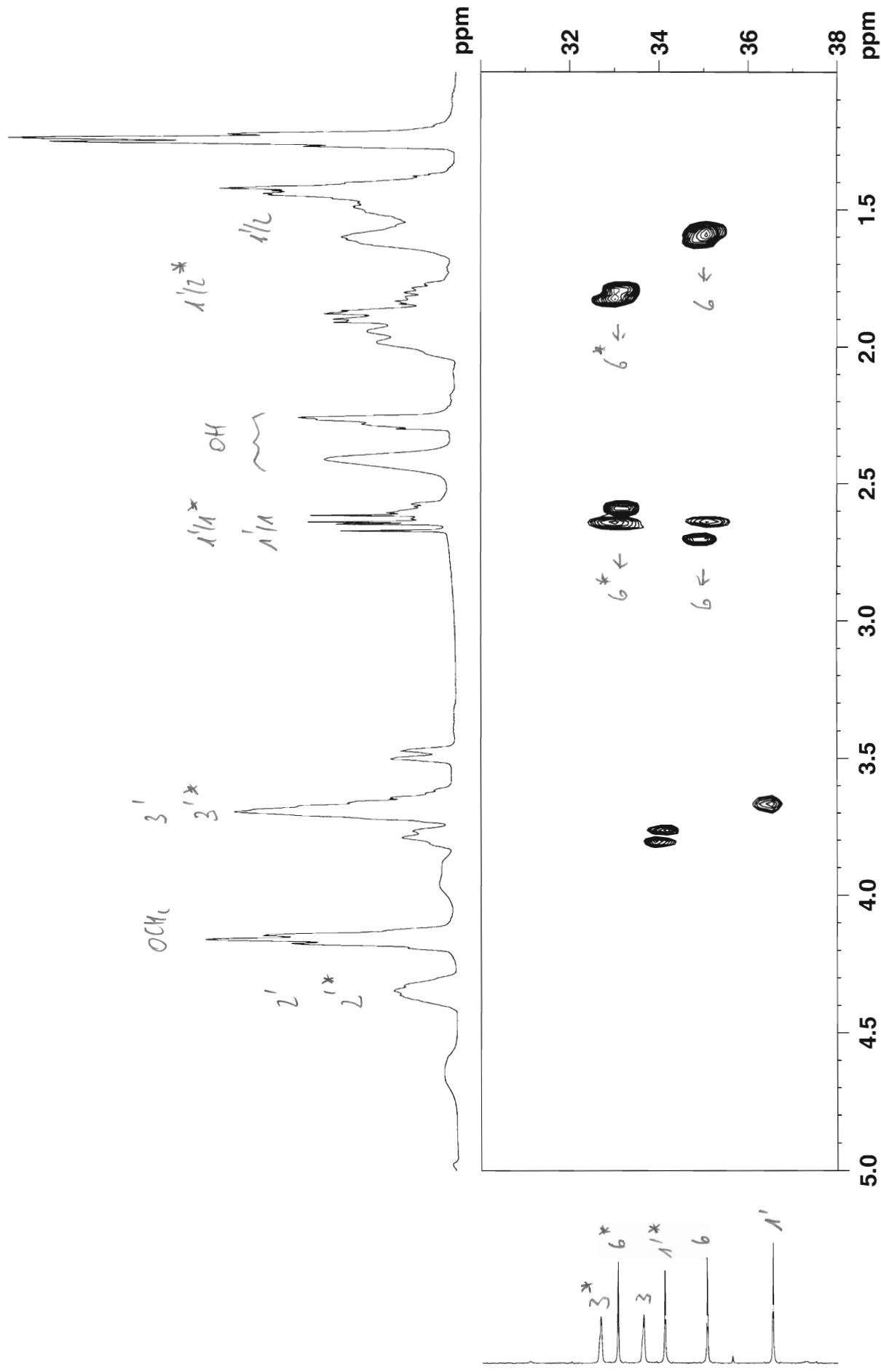
at045a in cdcl3 (HMBC), 19.7.2012



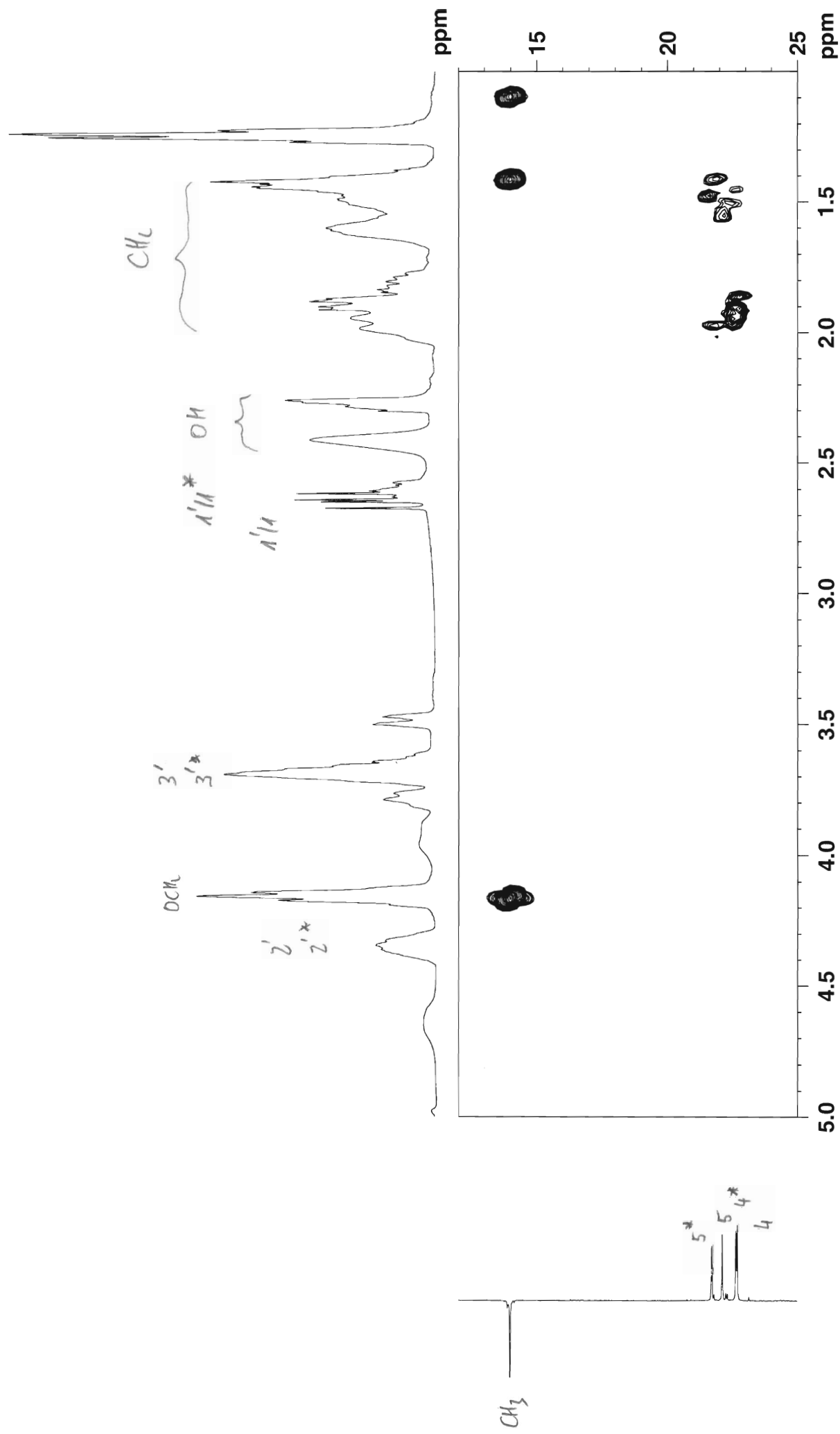


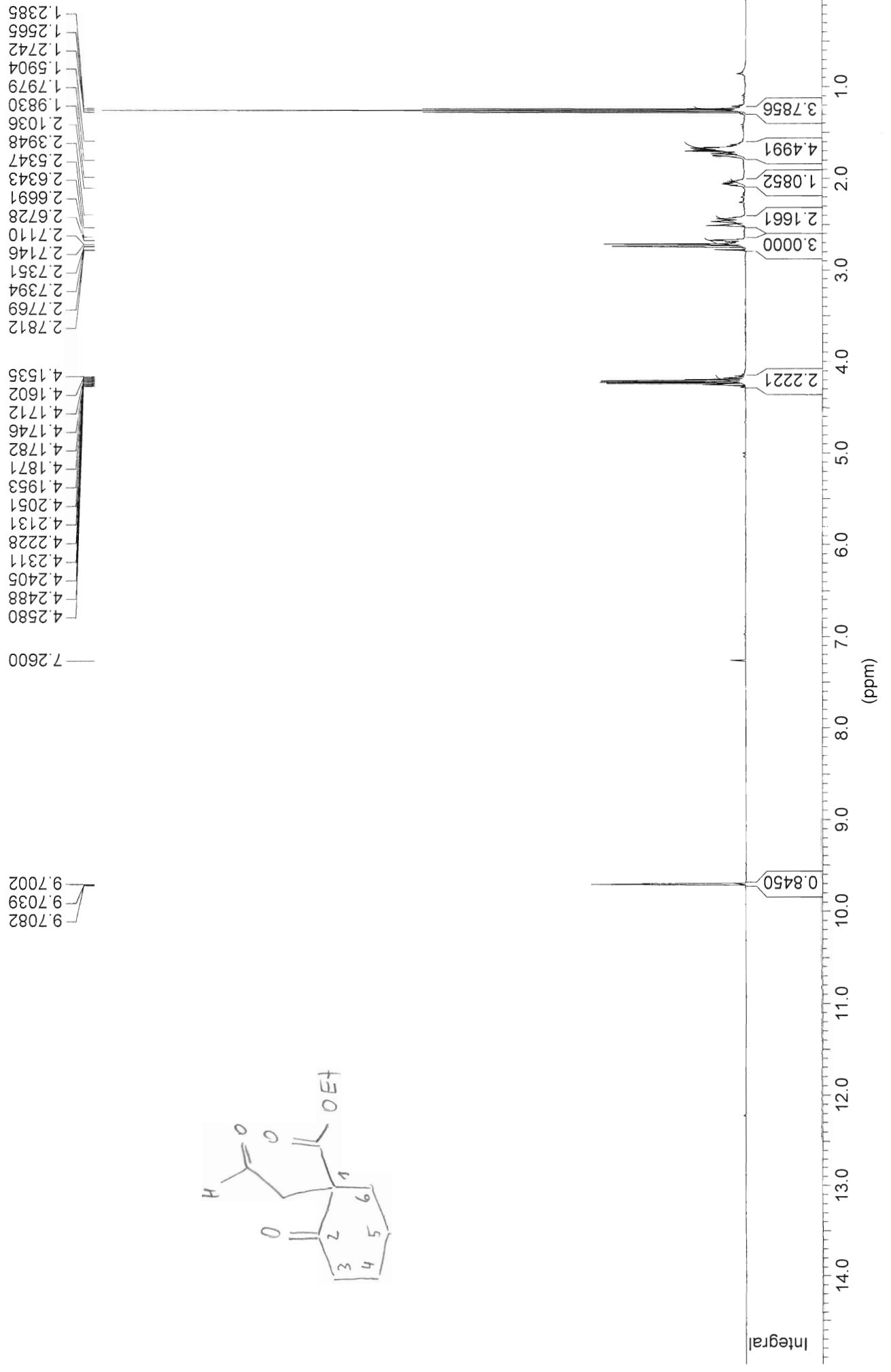
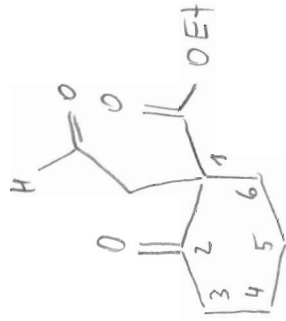
at045a in cdcl3 (HMBC), 19.7.2012

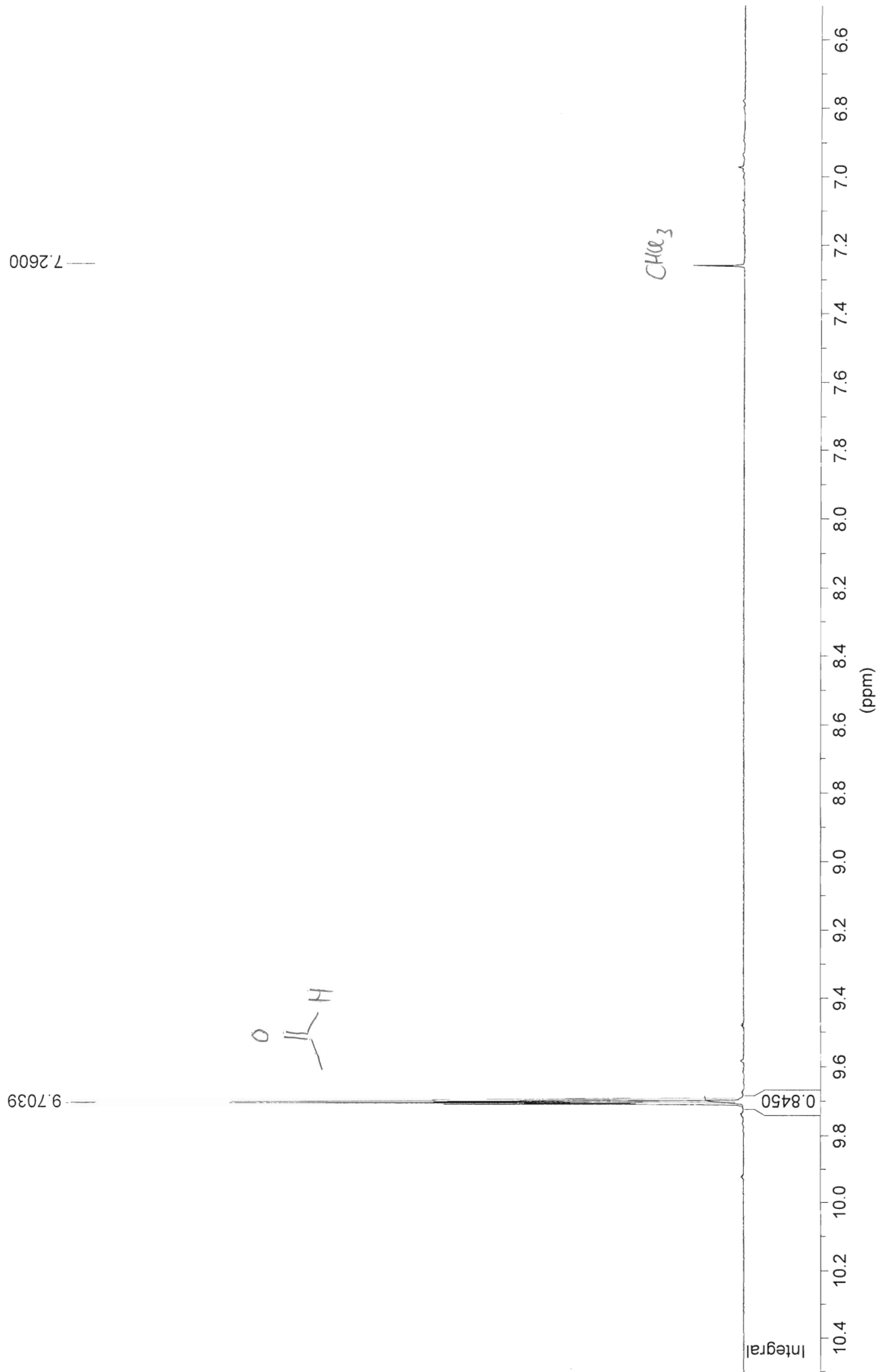


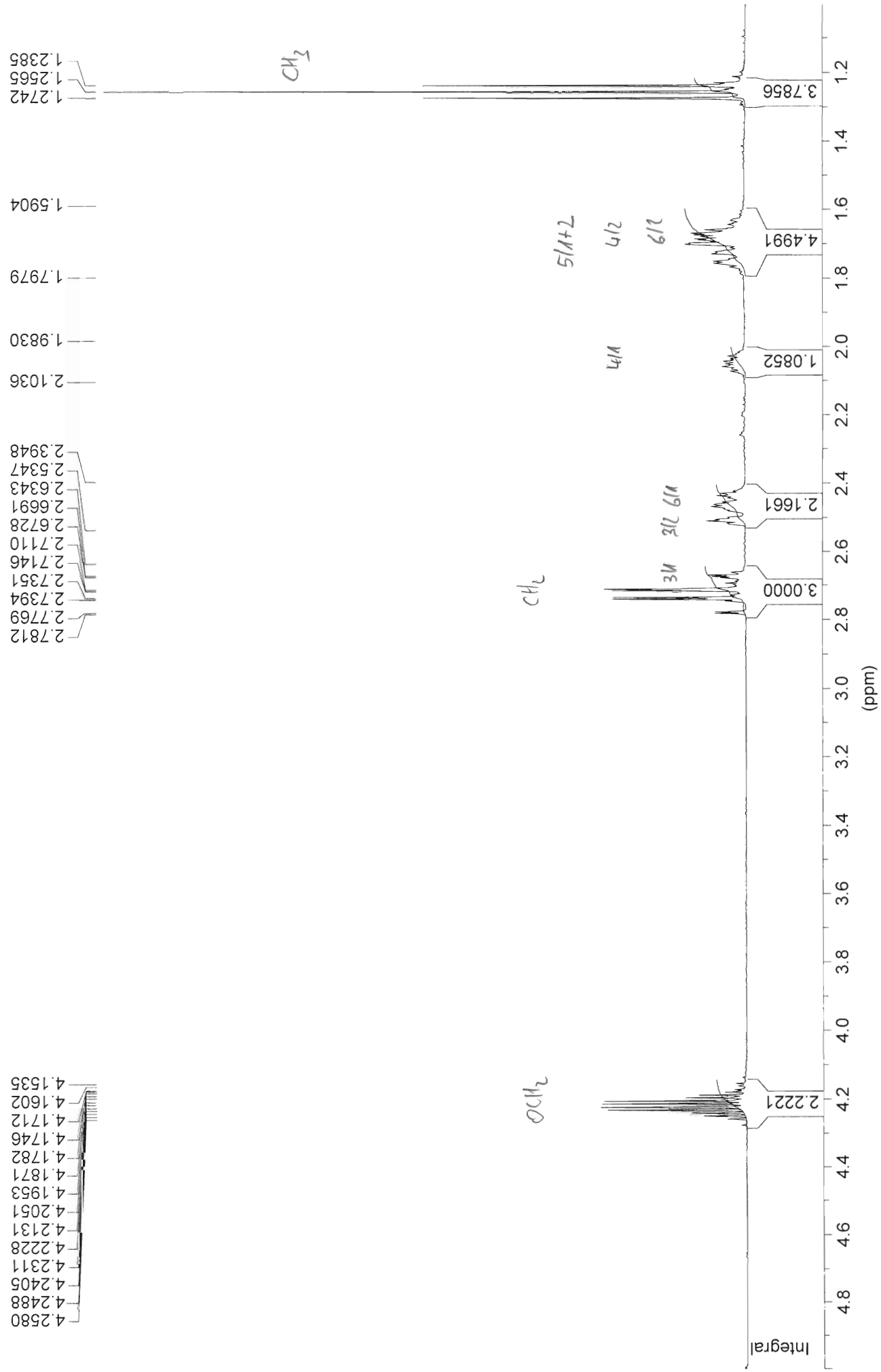


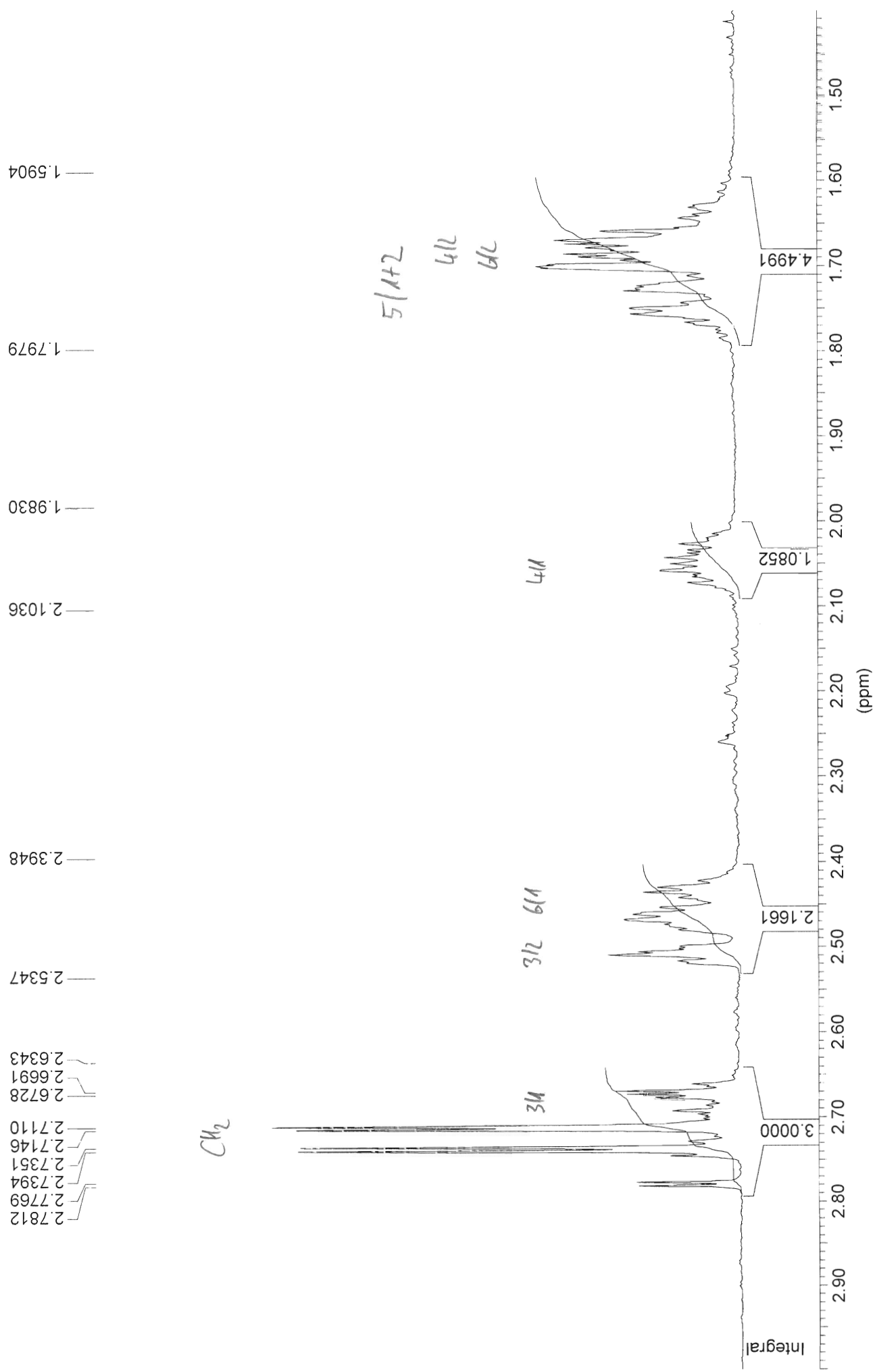
at045a in cdcl3 (HMBC), 19.7.2012

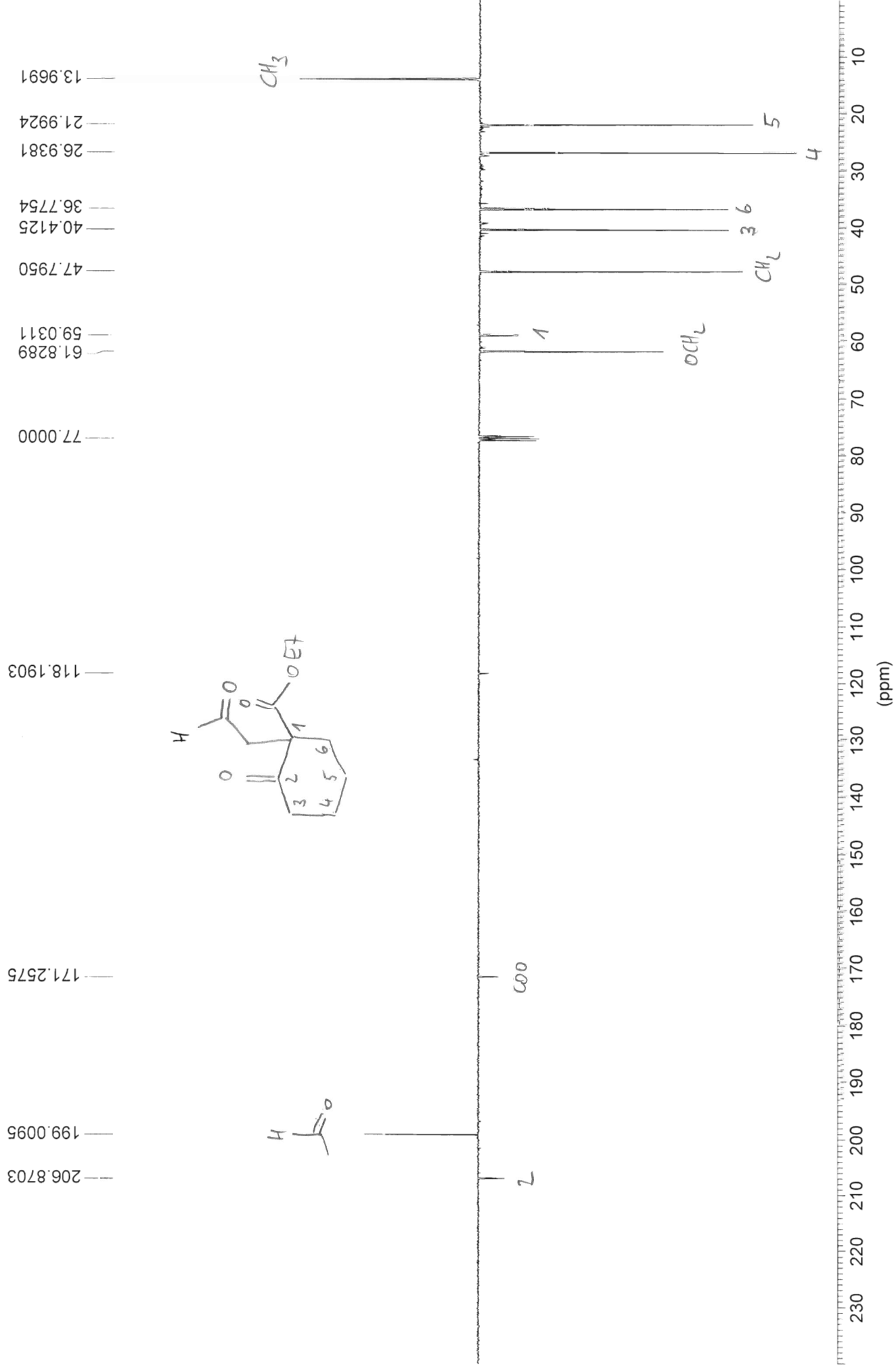


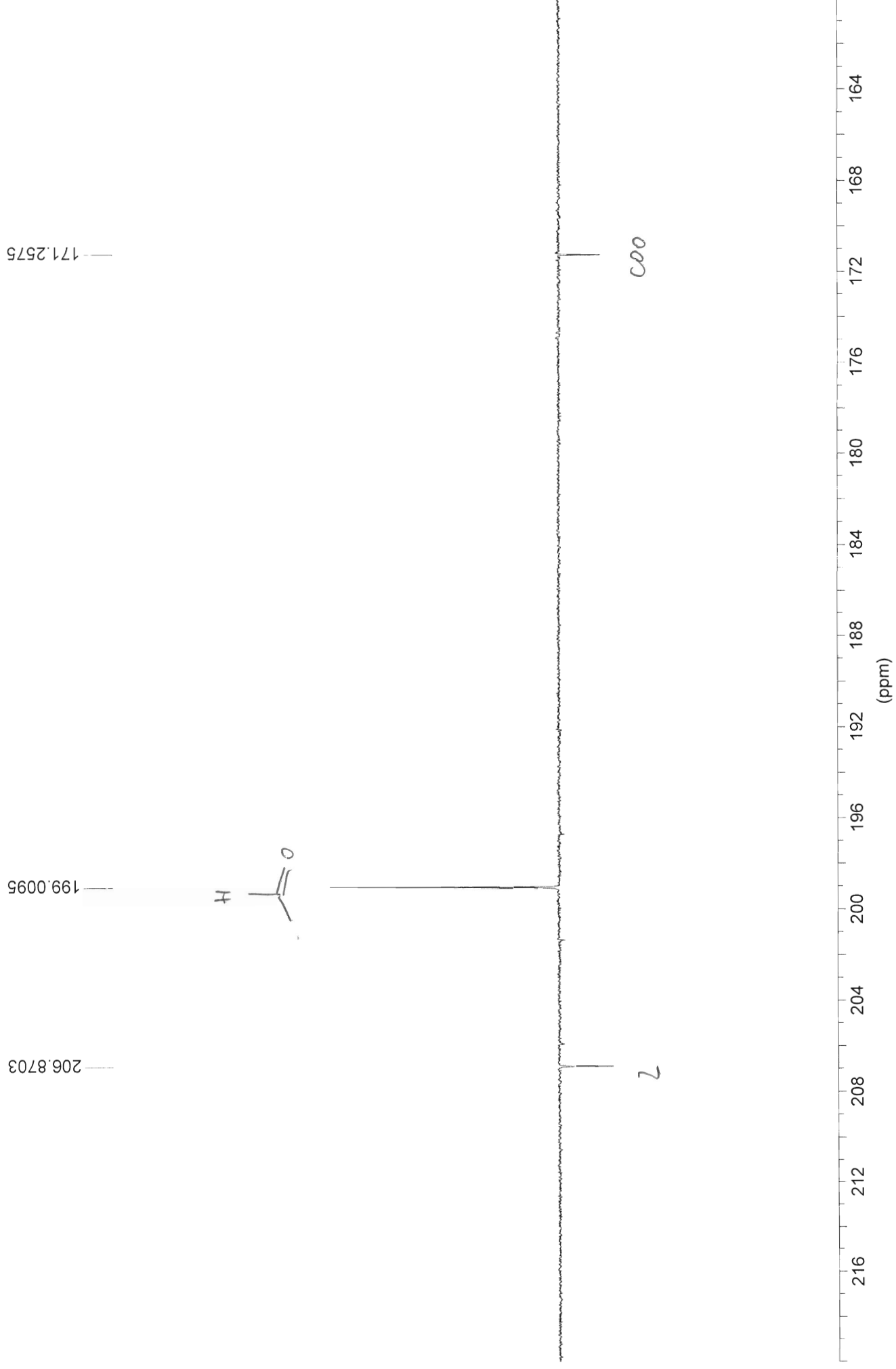


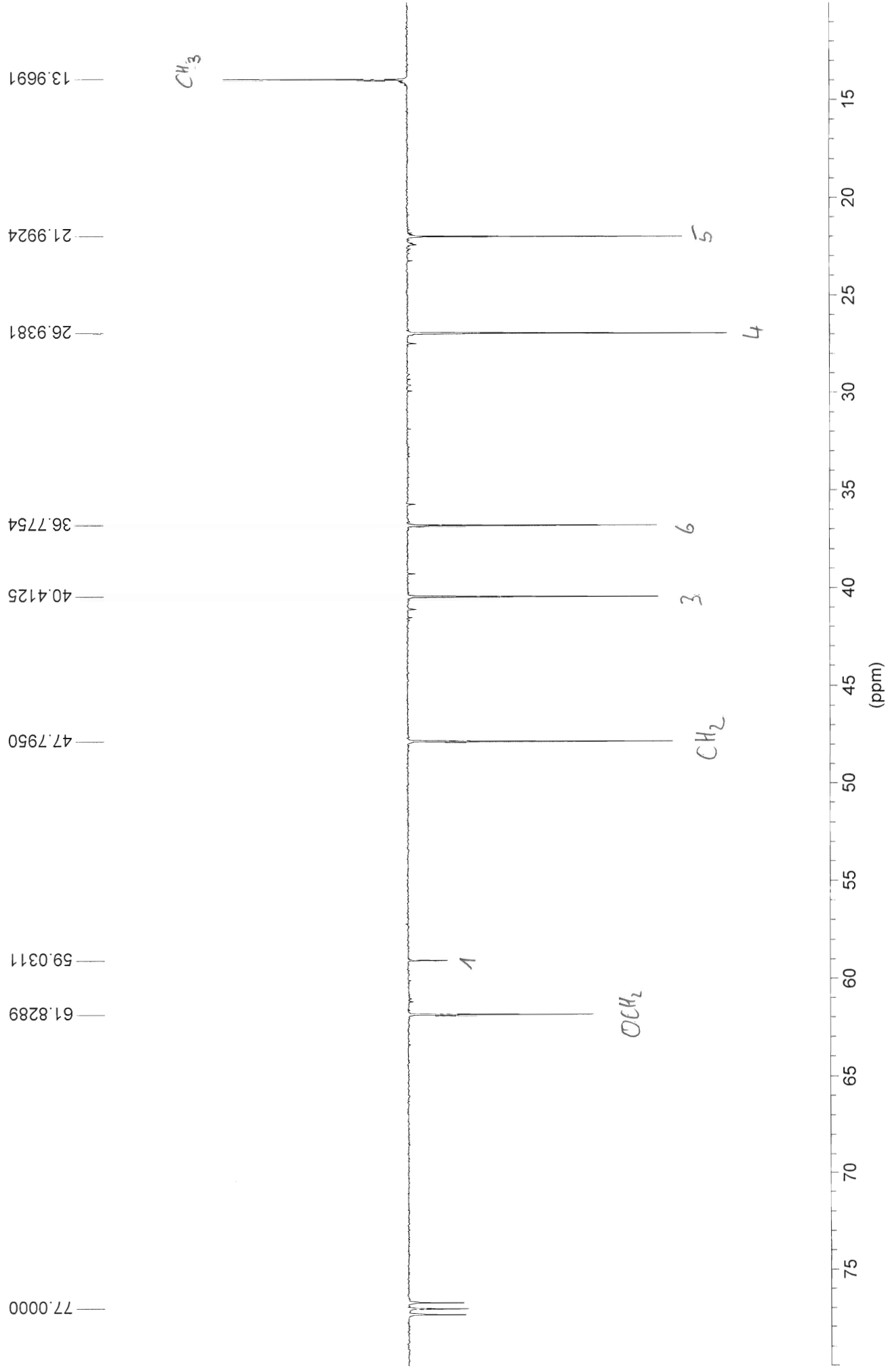




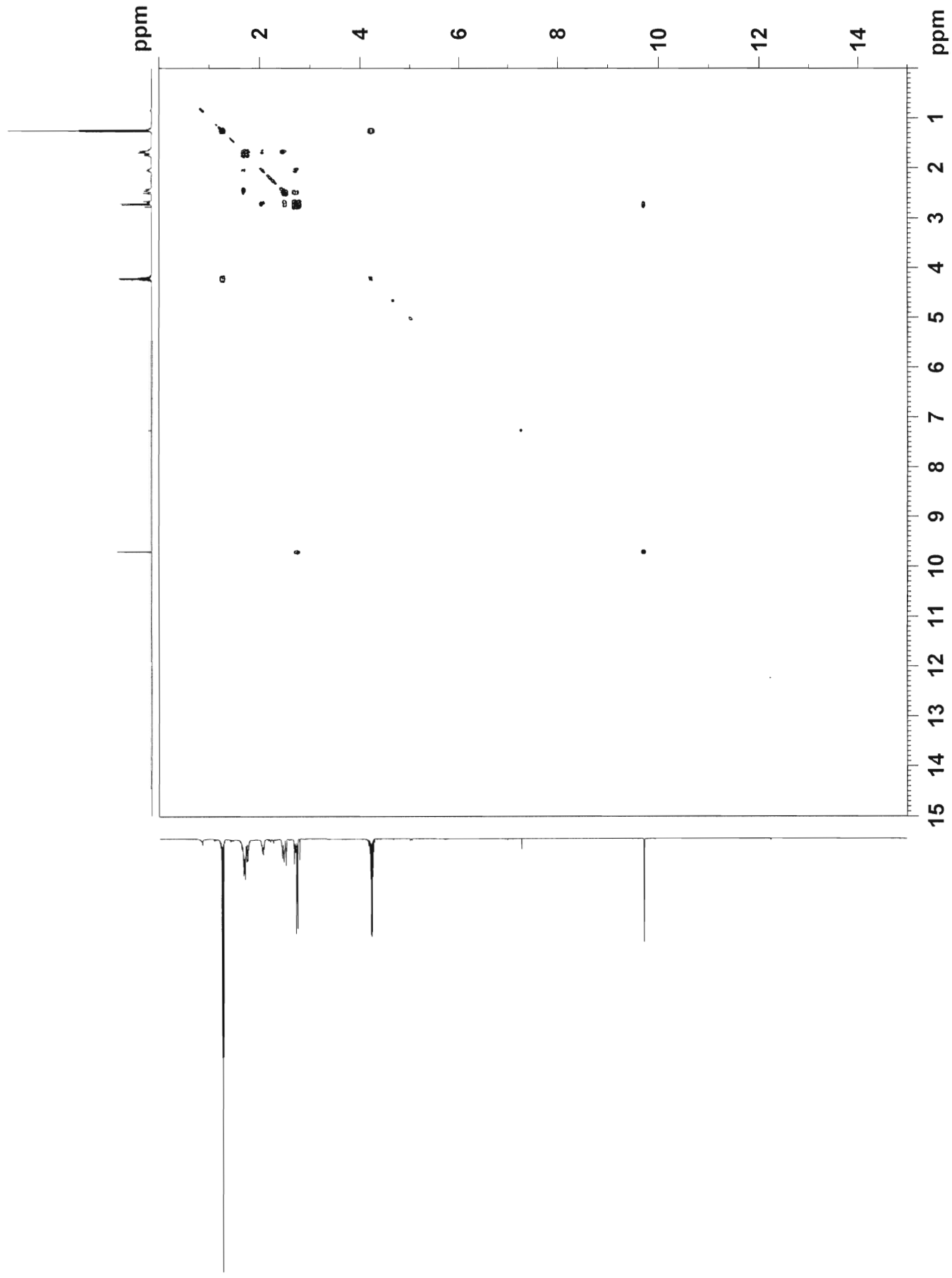


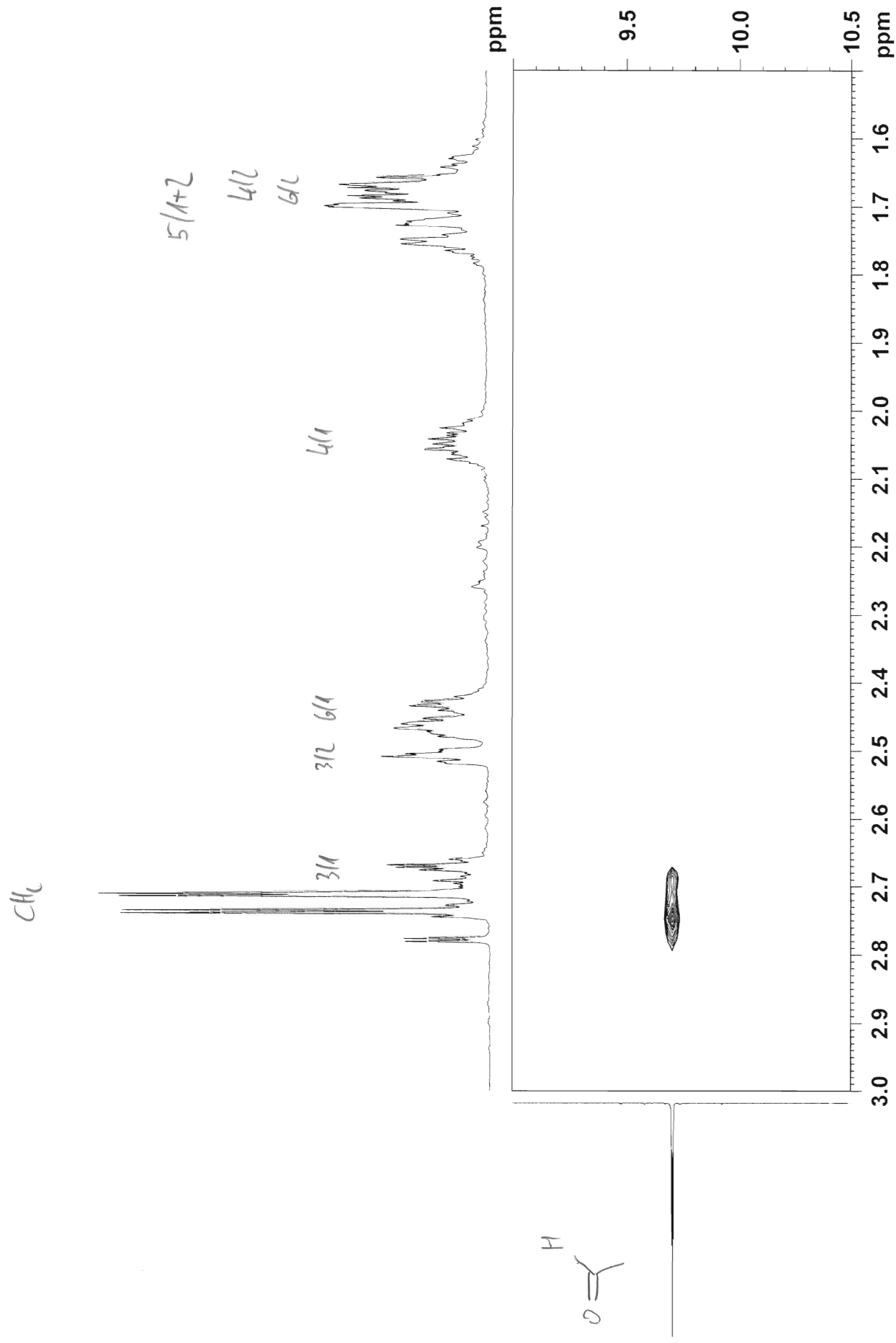


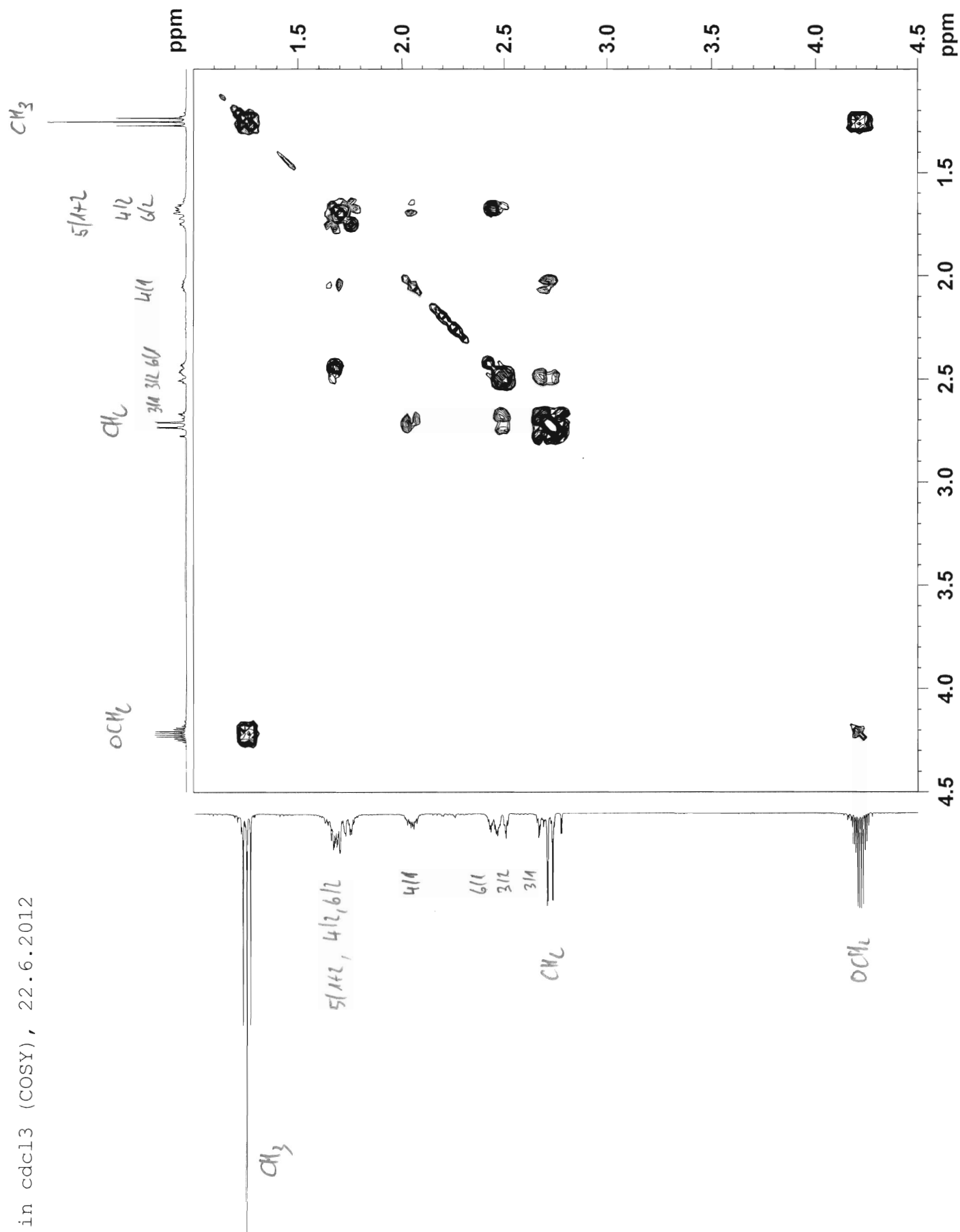


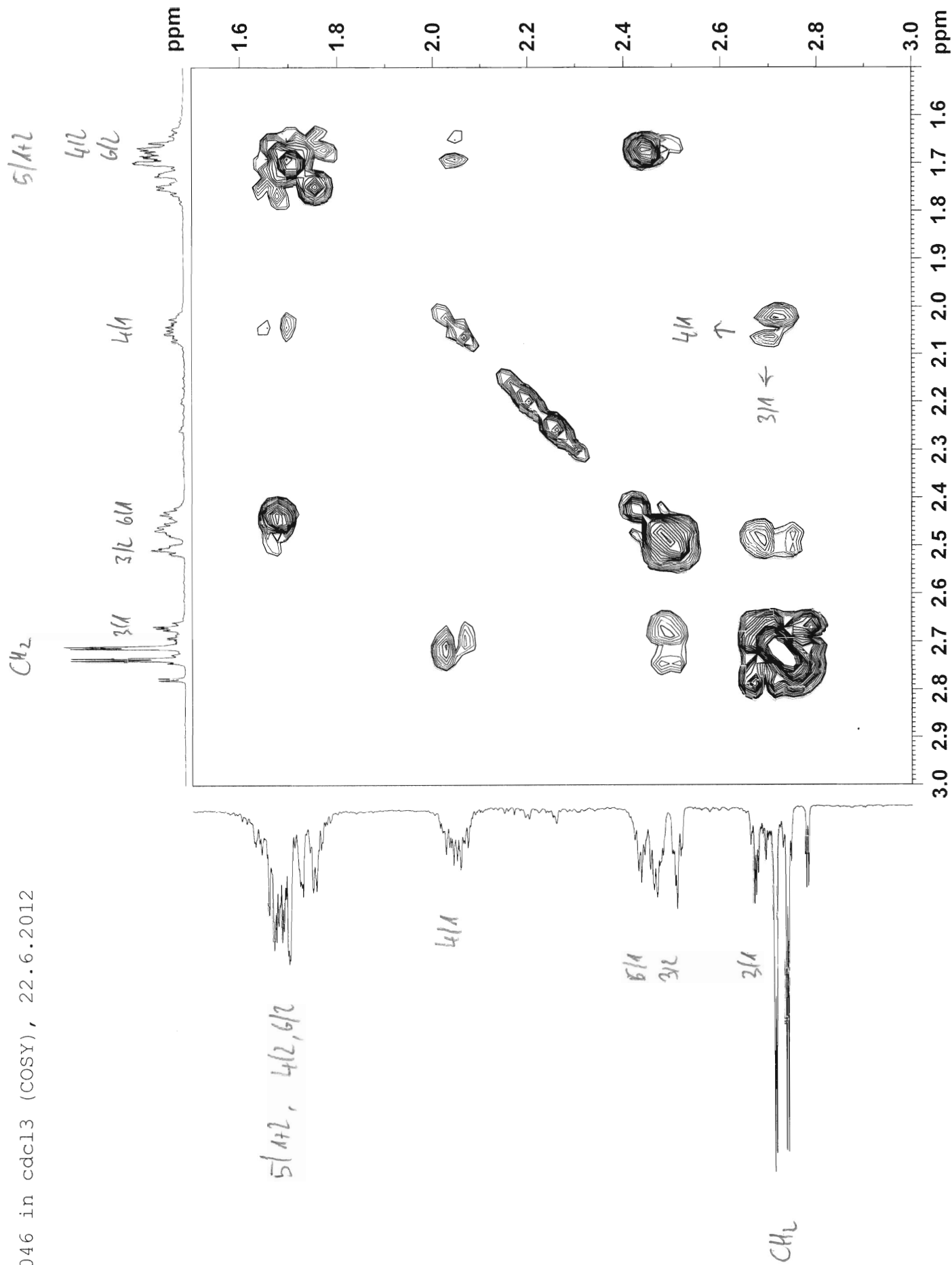


at046 in cdcl3 (COSY), 22.6.2012

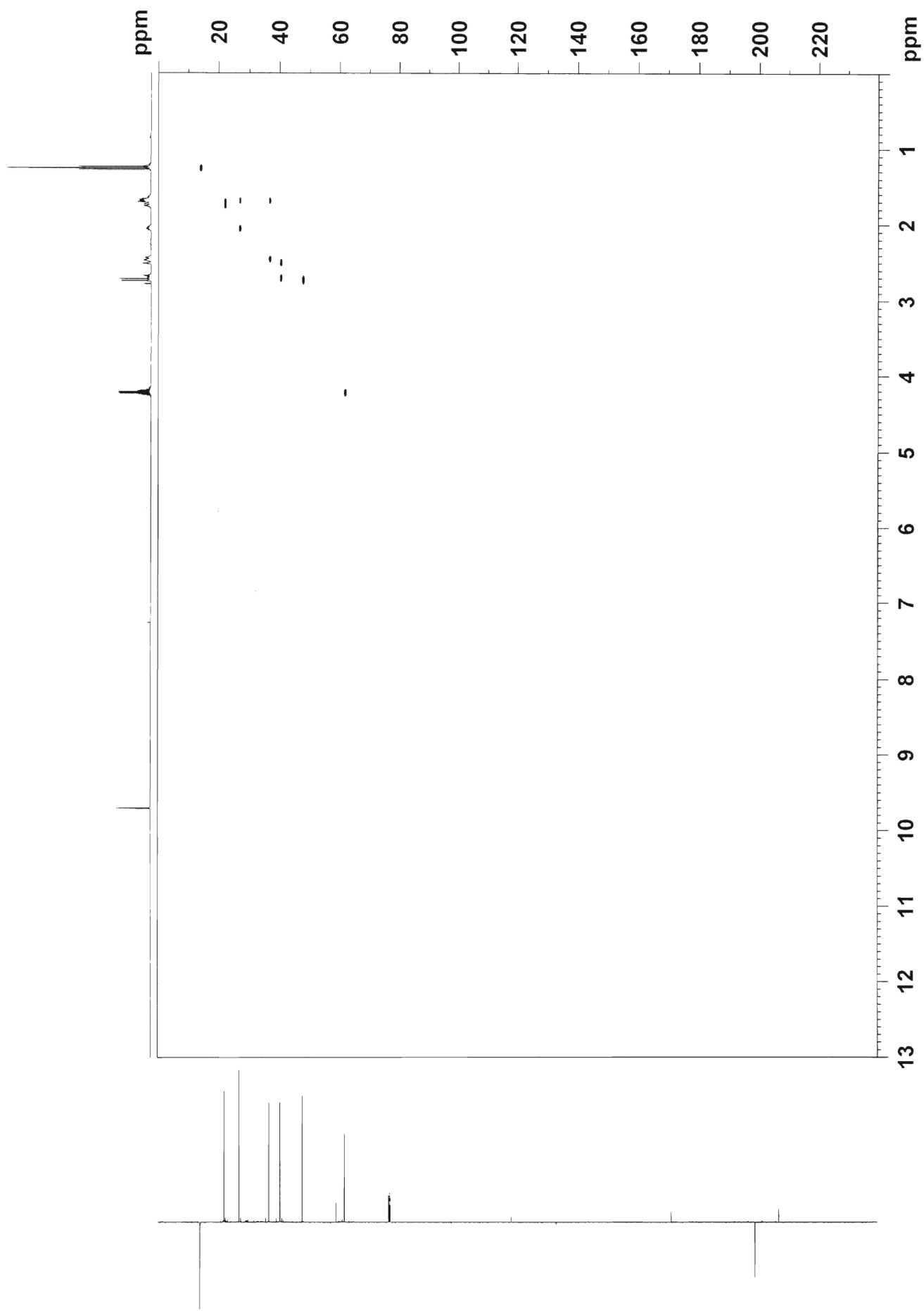




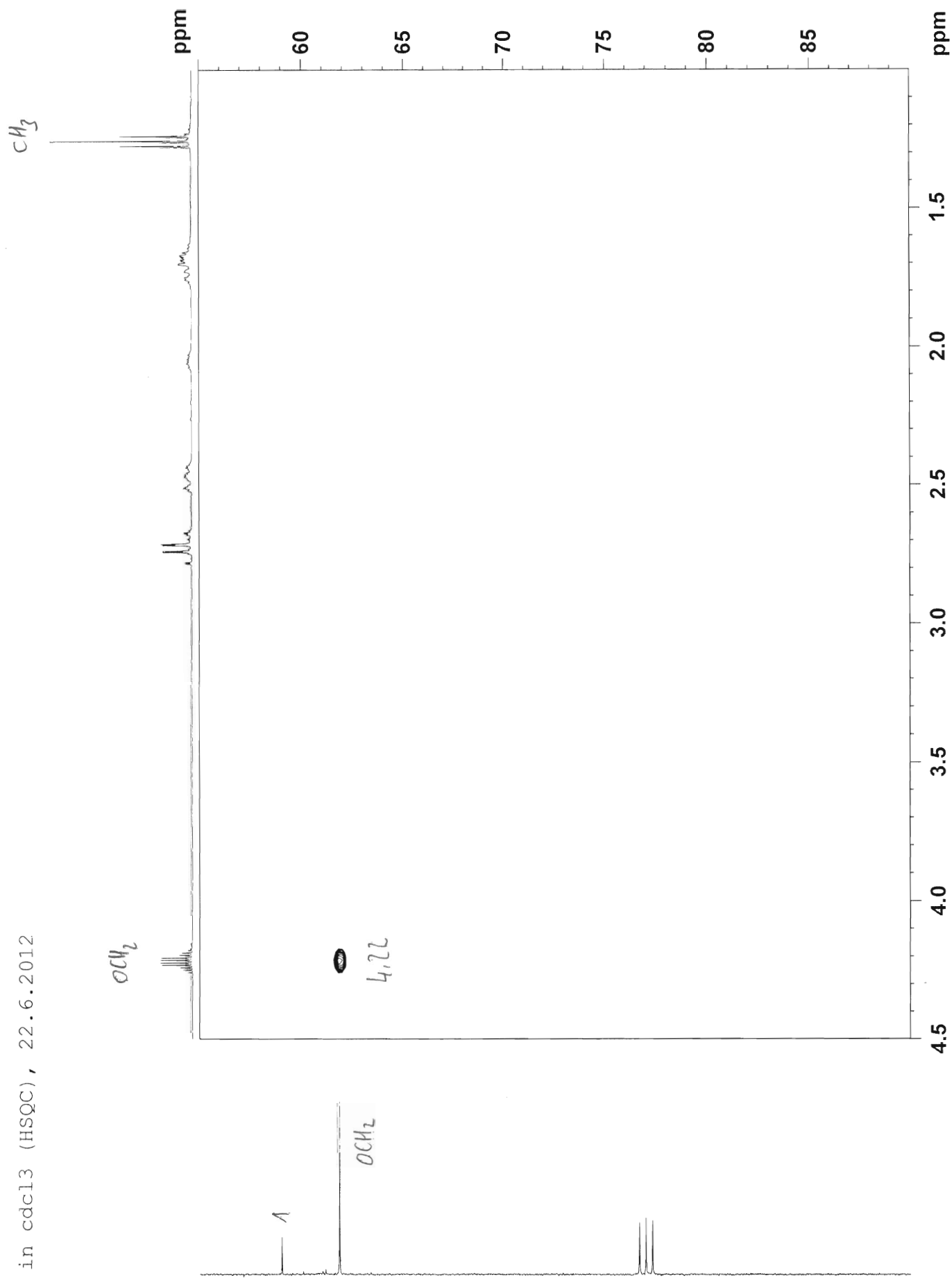




at046 in cdcl3 (HSQC), 22.6.2012

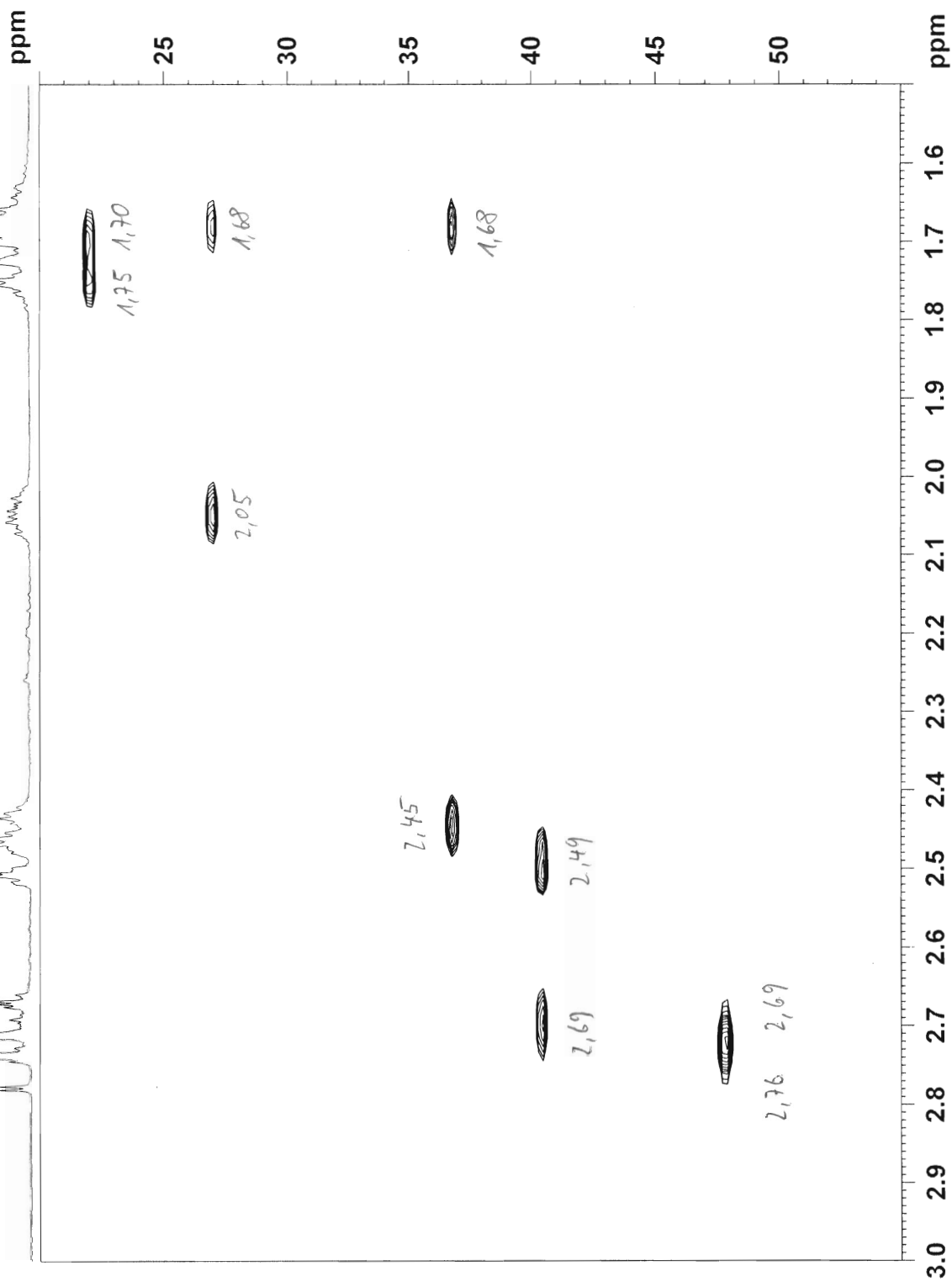


at046 in cdcl3 (HSQC), 22.6.2012



3/1
3/2 6/1

4/1



5

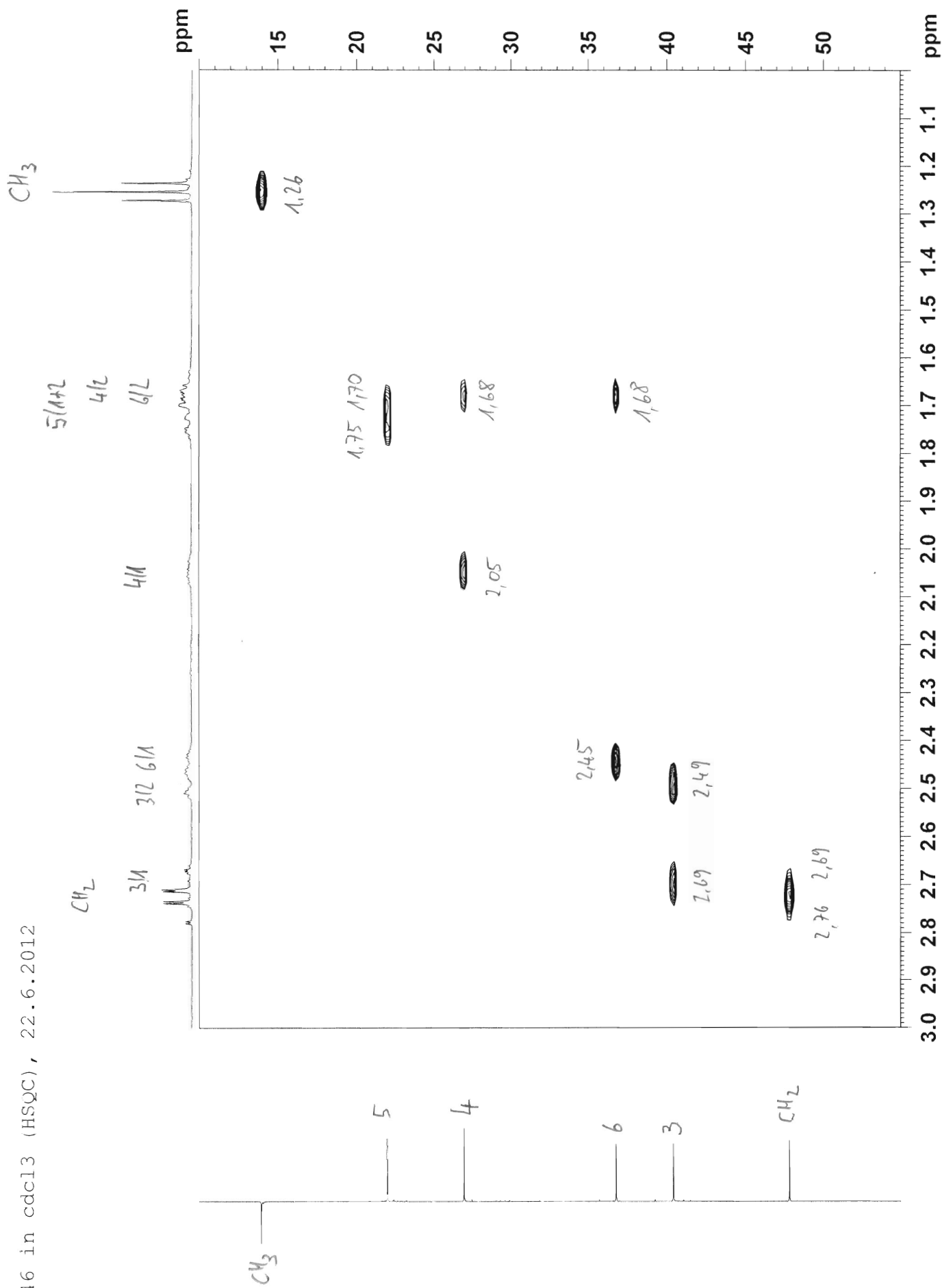
4

6

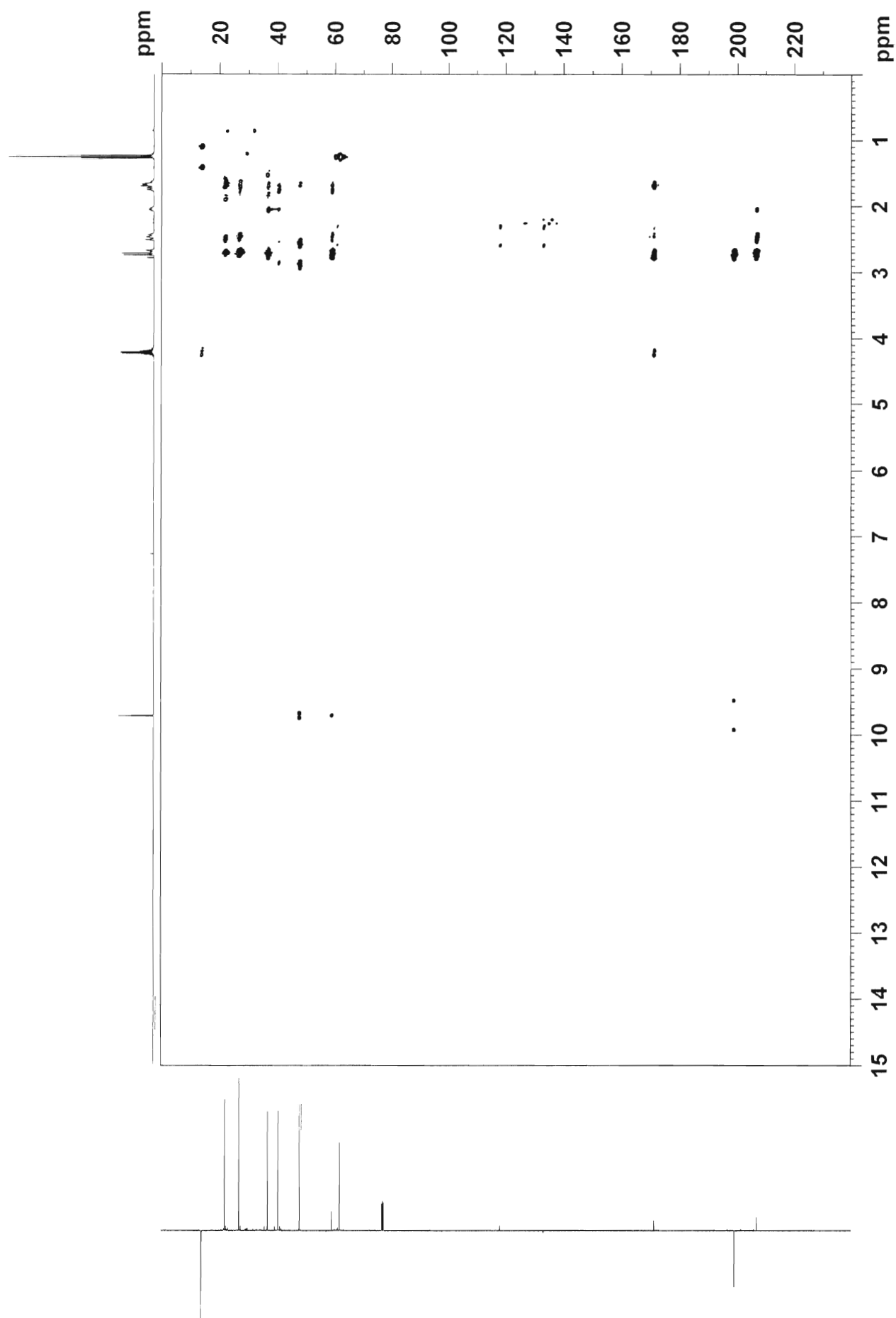
3

CH₂

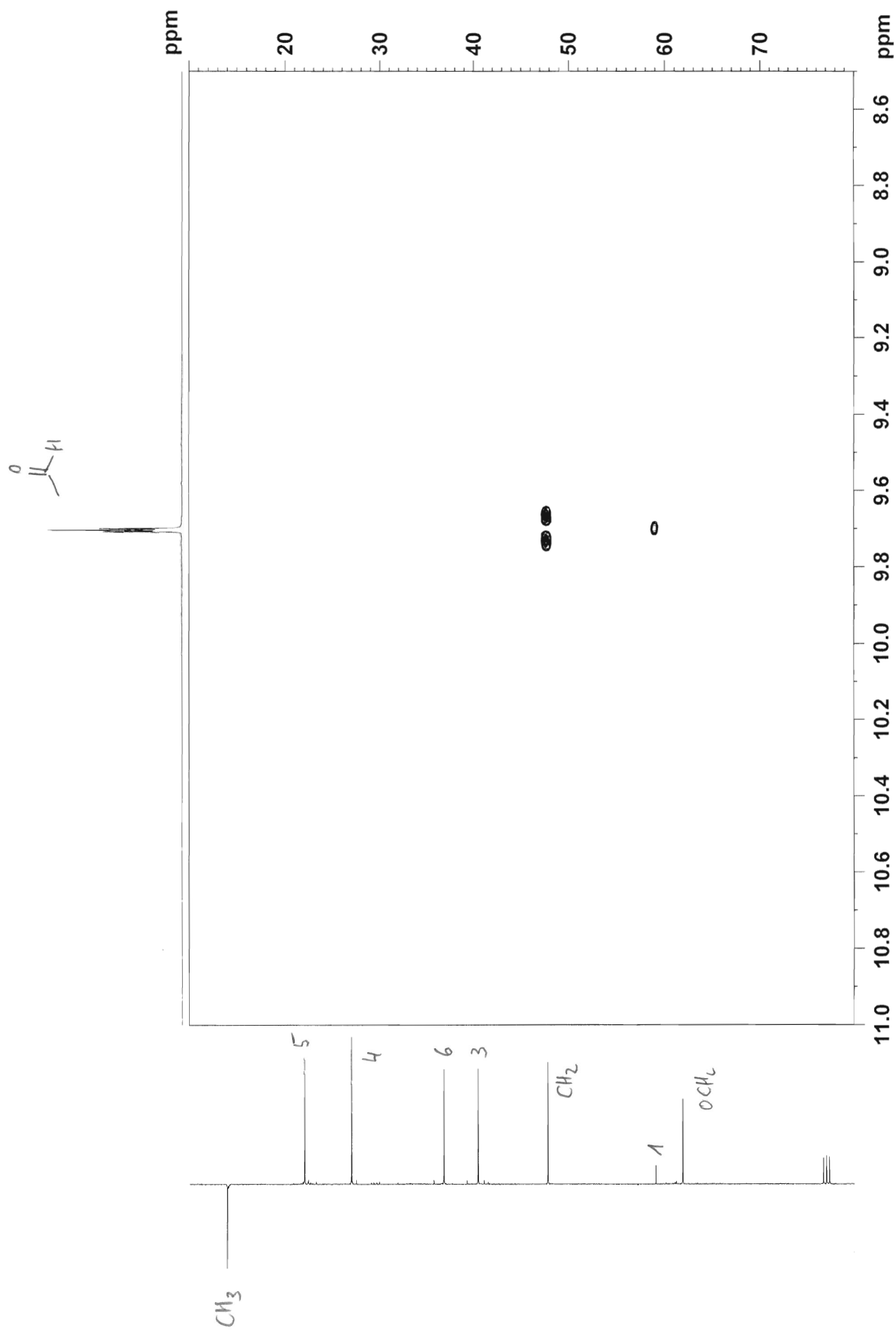
at046 in cdcl3 (HSQC), 22.6.2012

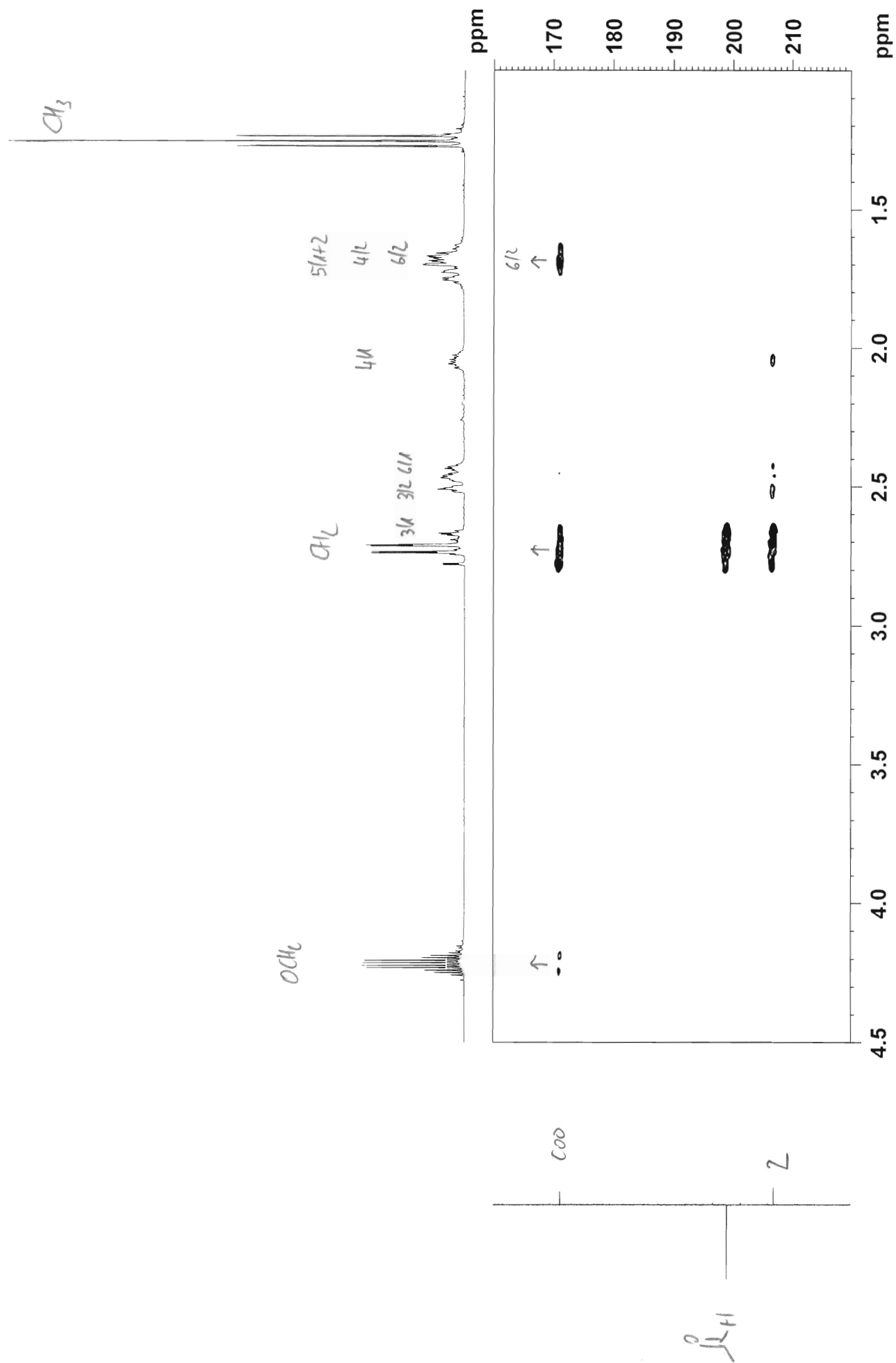


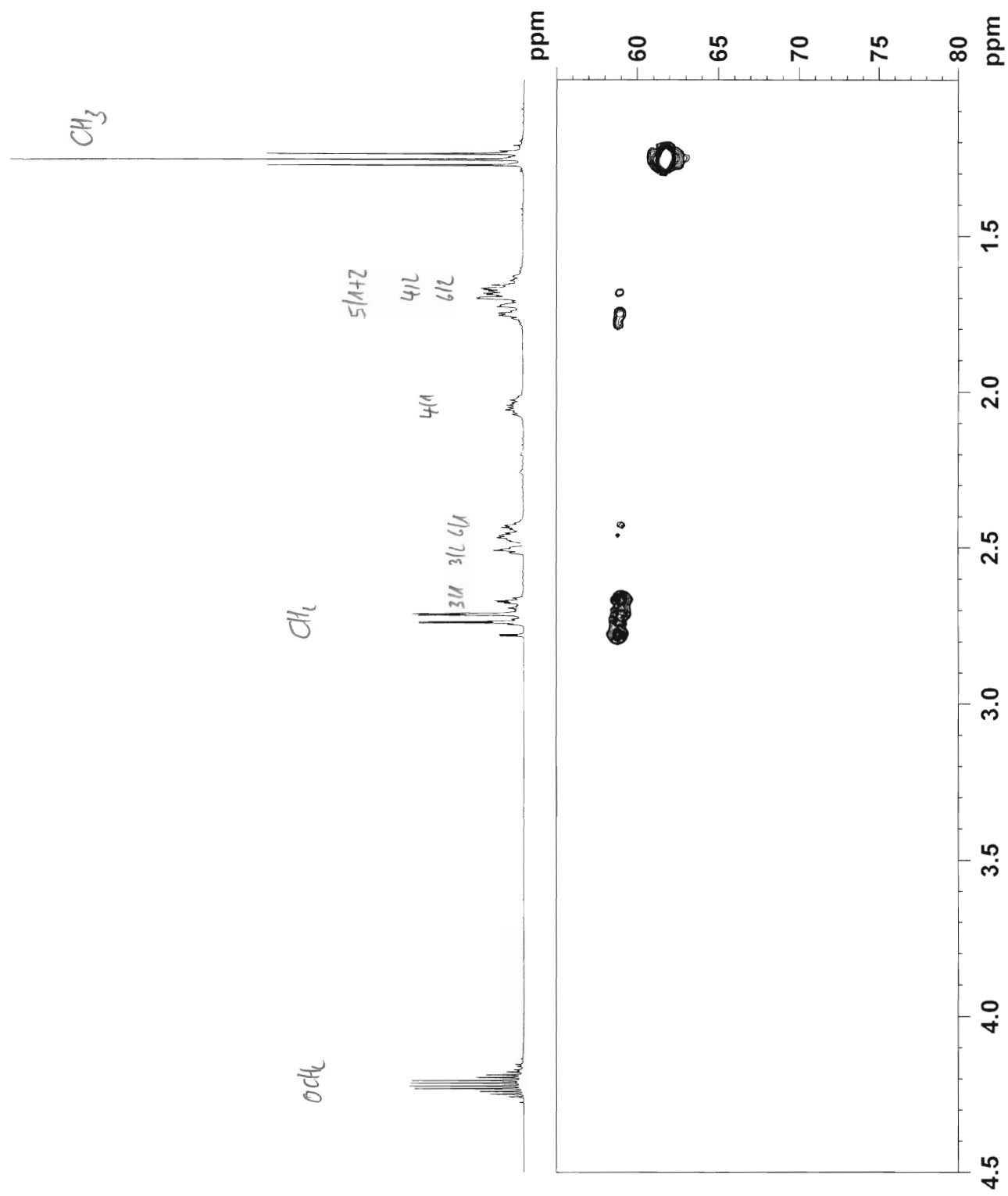
at046 in cdcl3 (HMBC), 22.6.2012

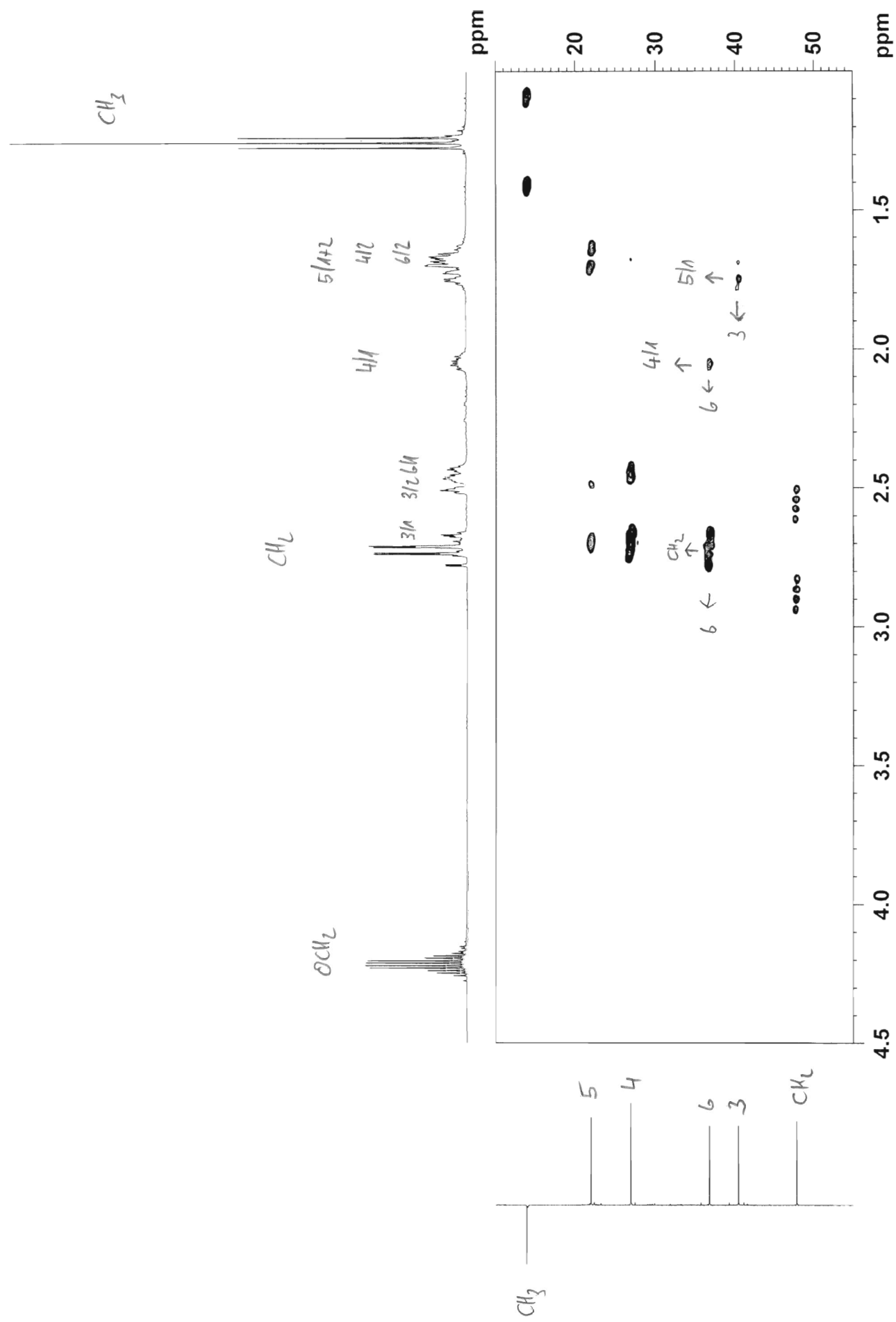


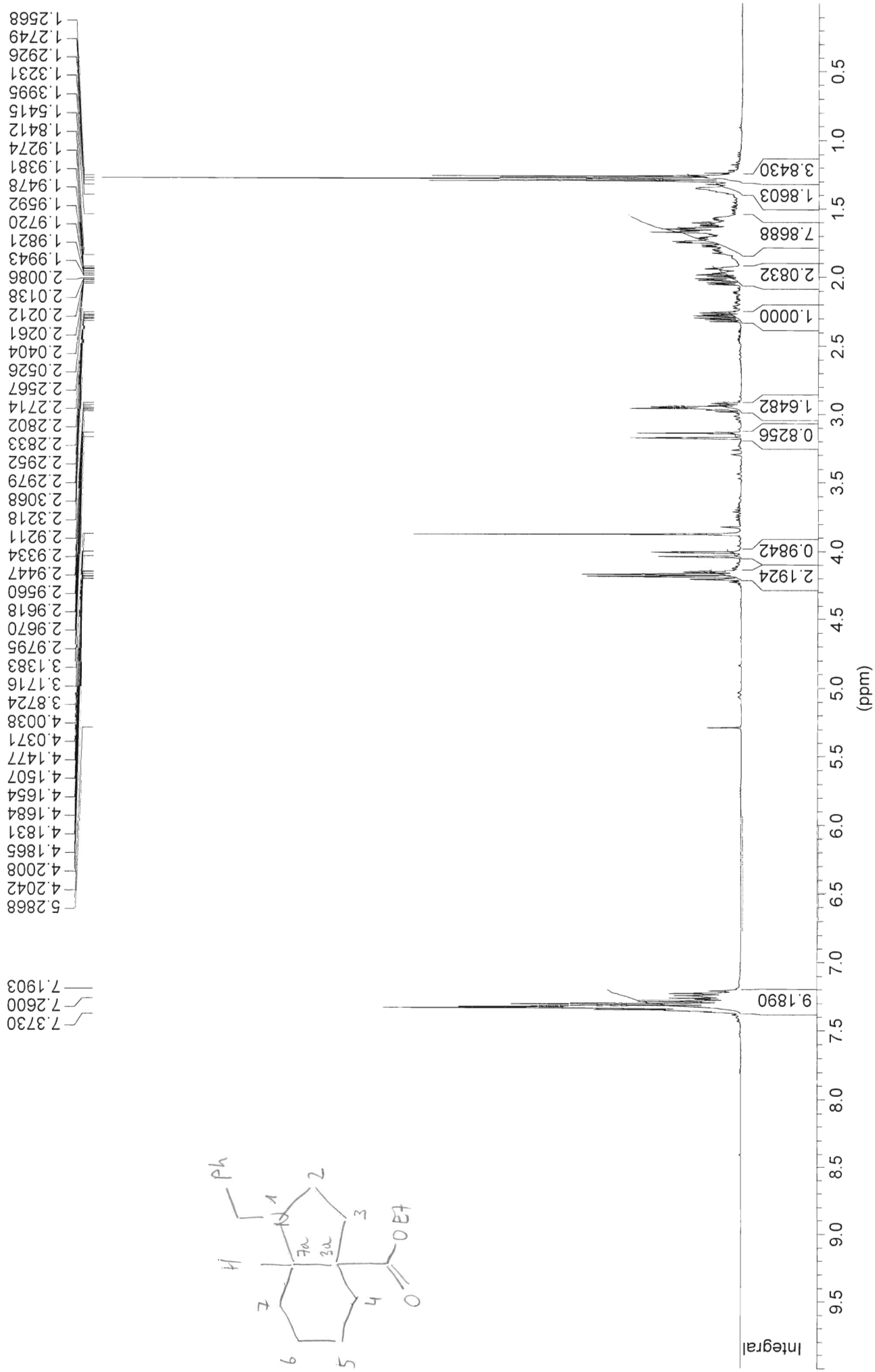
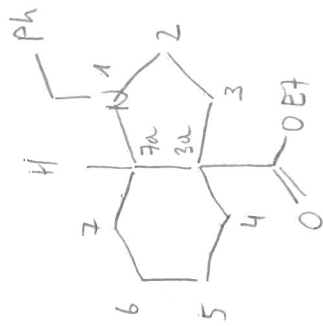
at046 in cdcl3 (HMBC), 22.6.2012









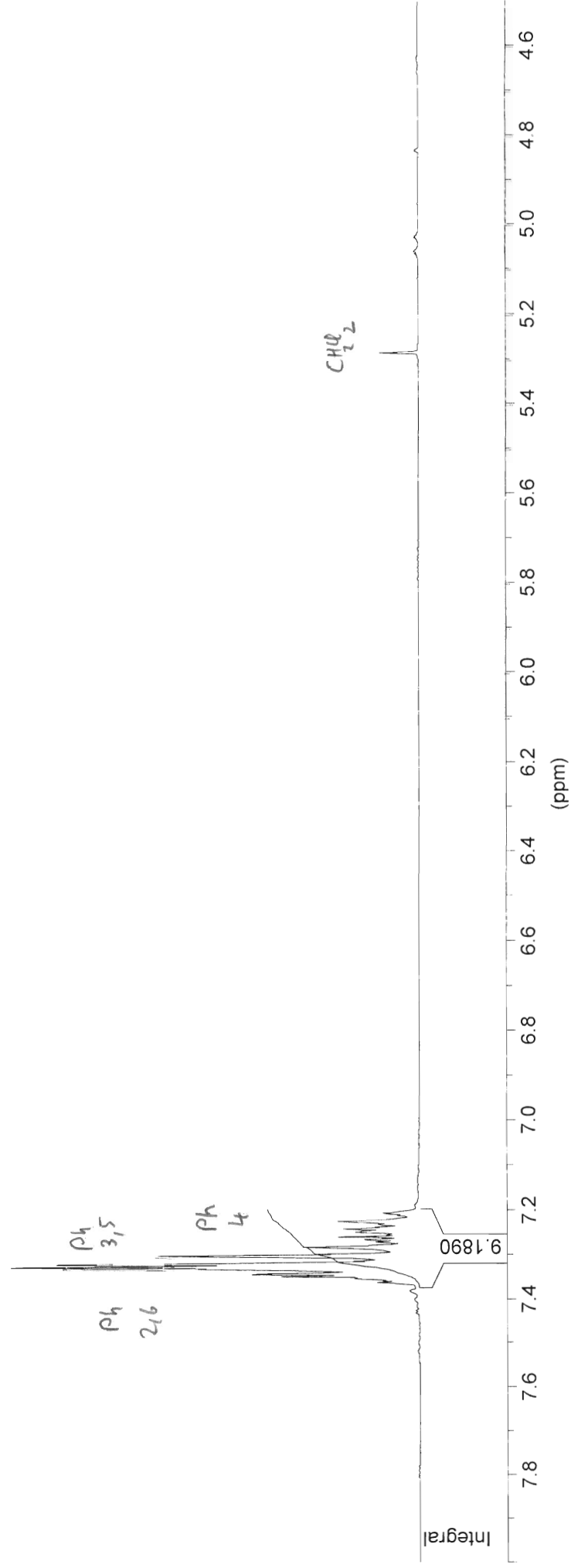


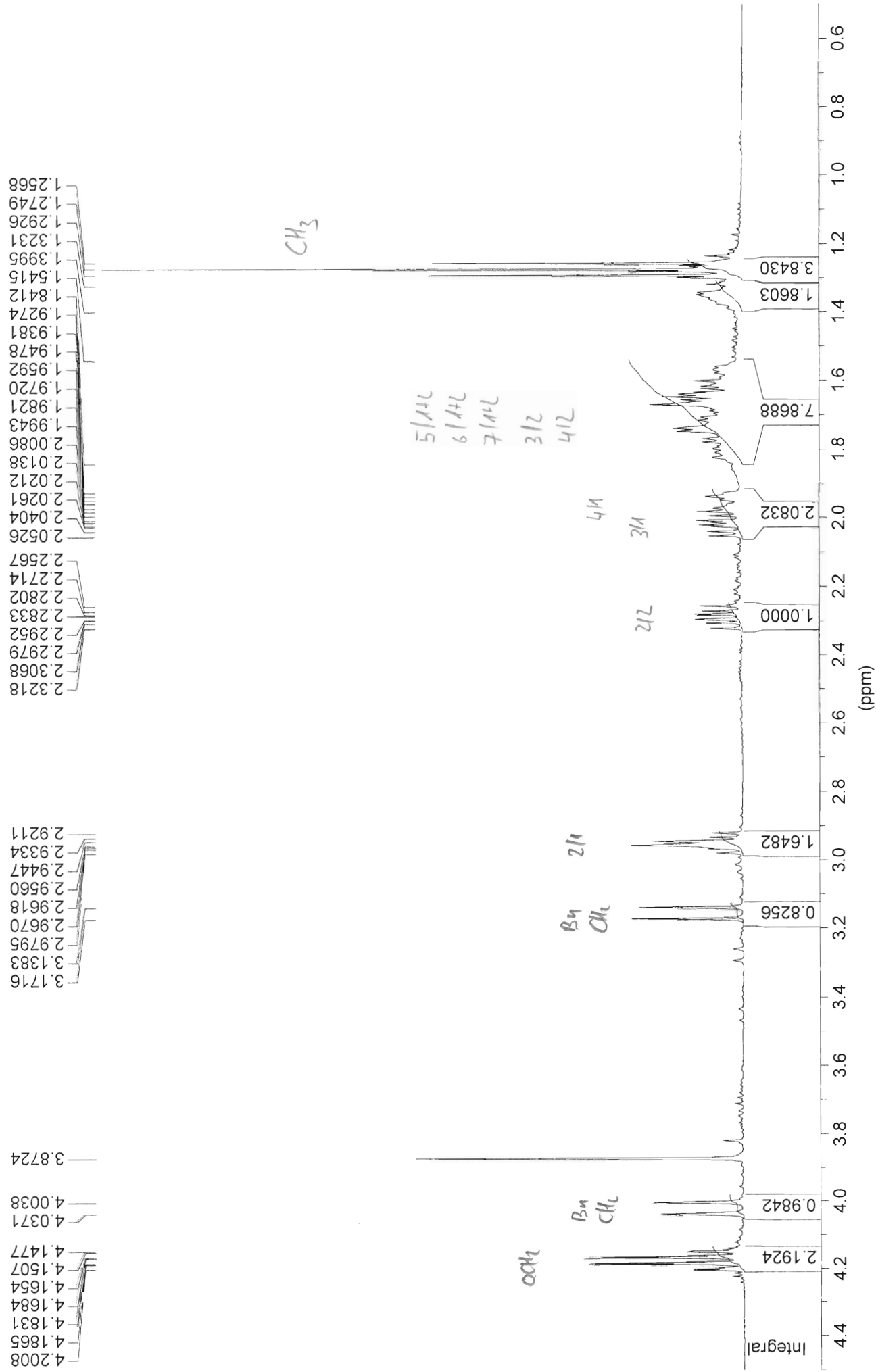
— 5.2868

— 7.1903

— 7.2600

— 7.3730





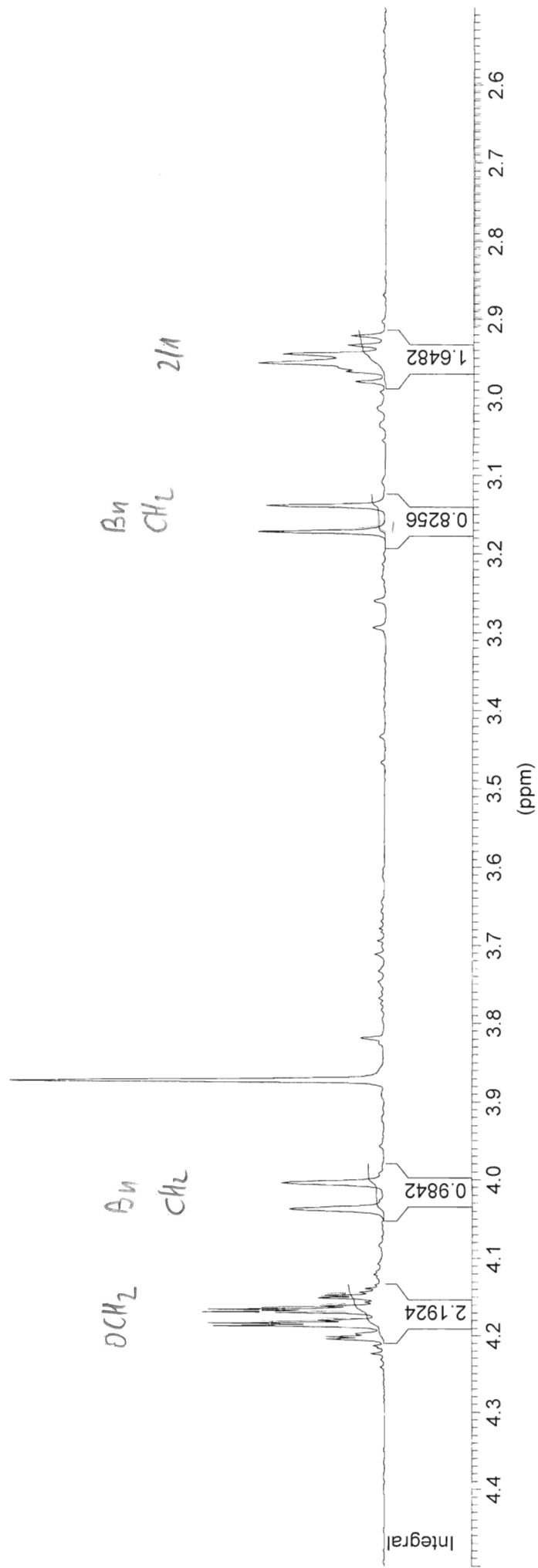
2.9795
2.9670
2.9618
2.9560
2.9447
2.9334
2.9211

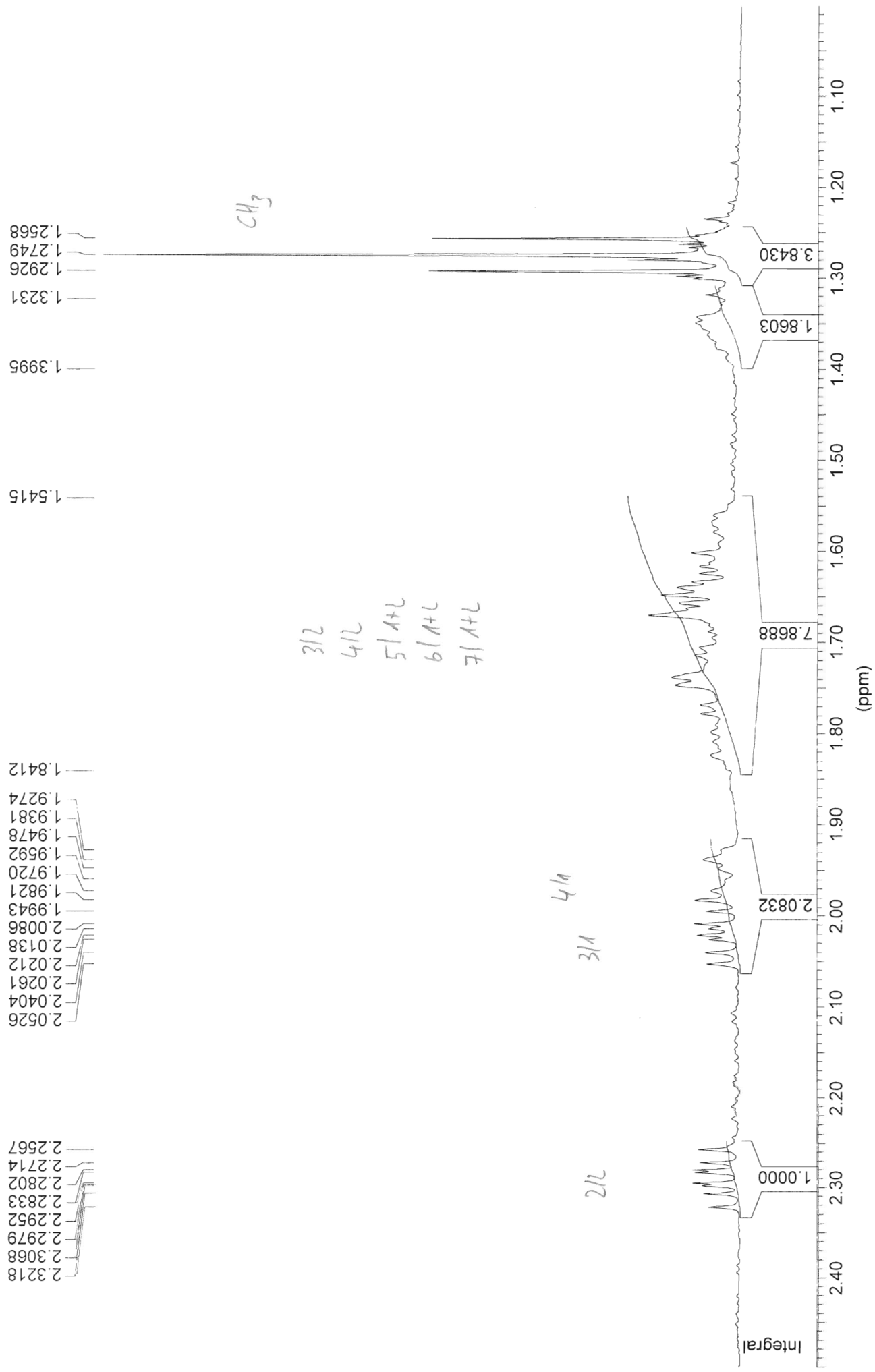
3.1716
3.1383

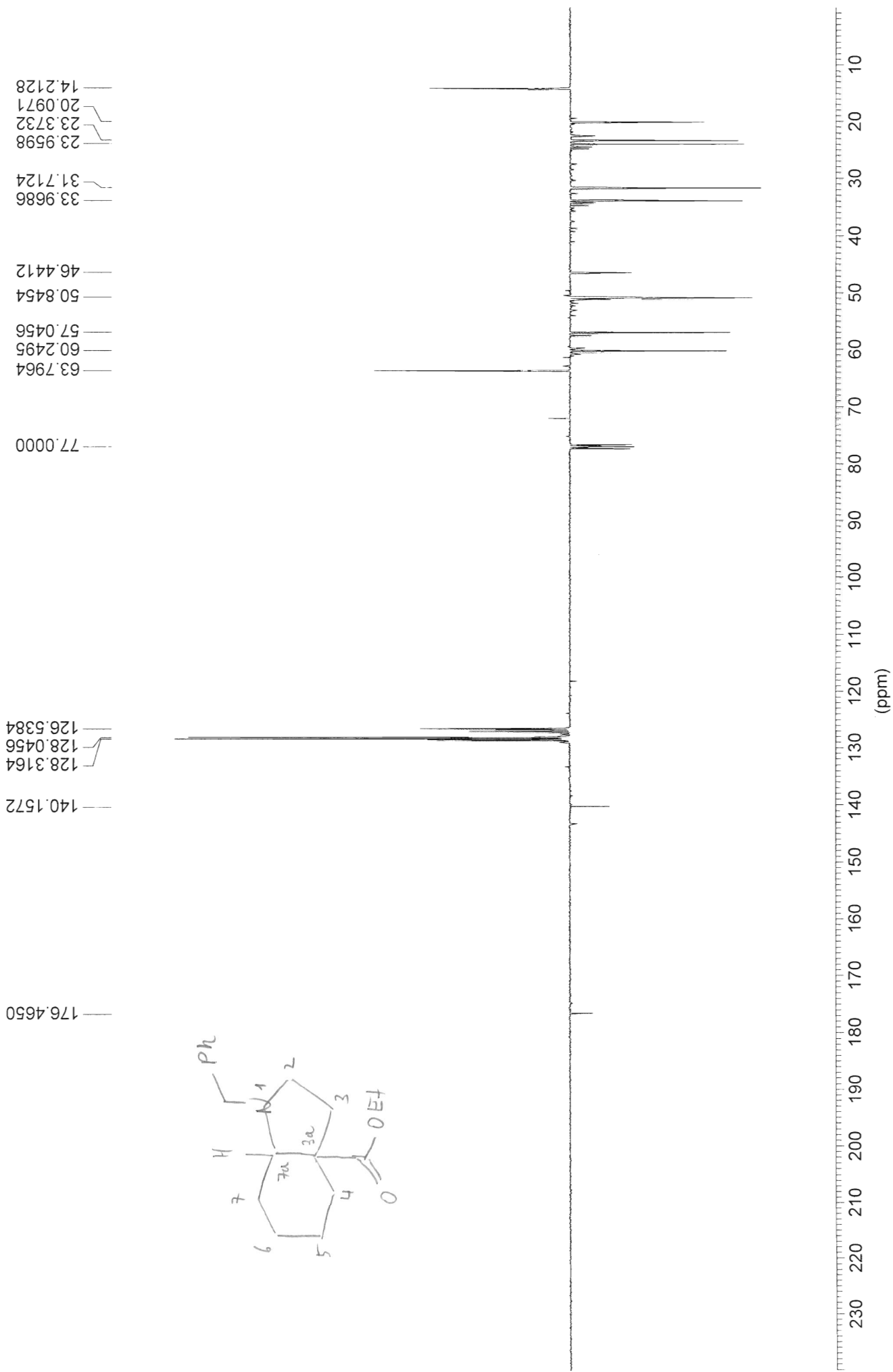
3.8724

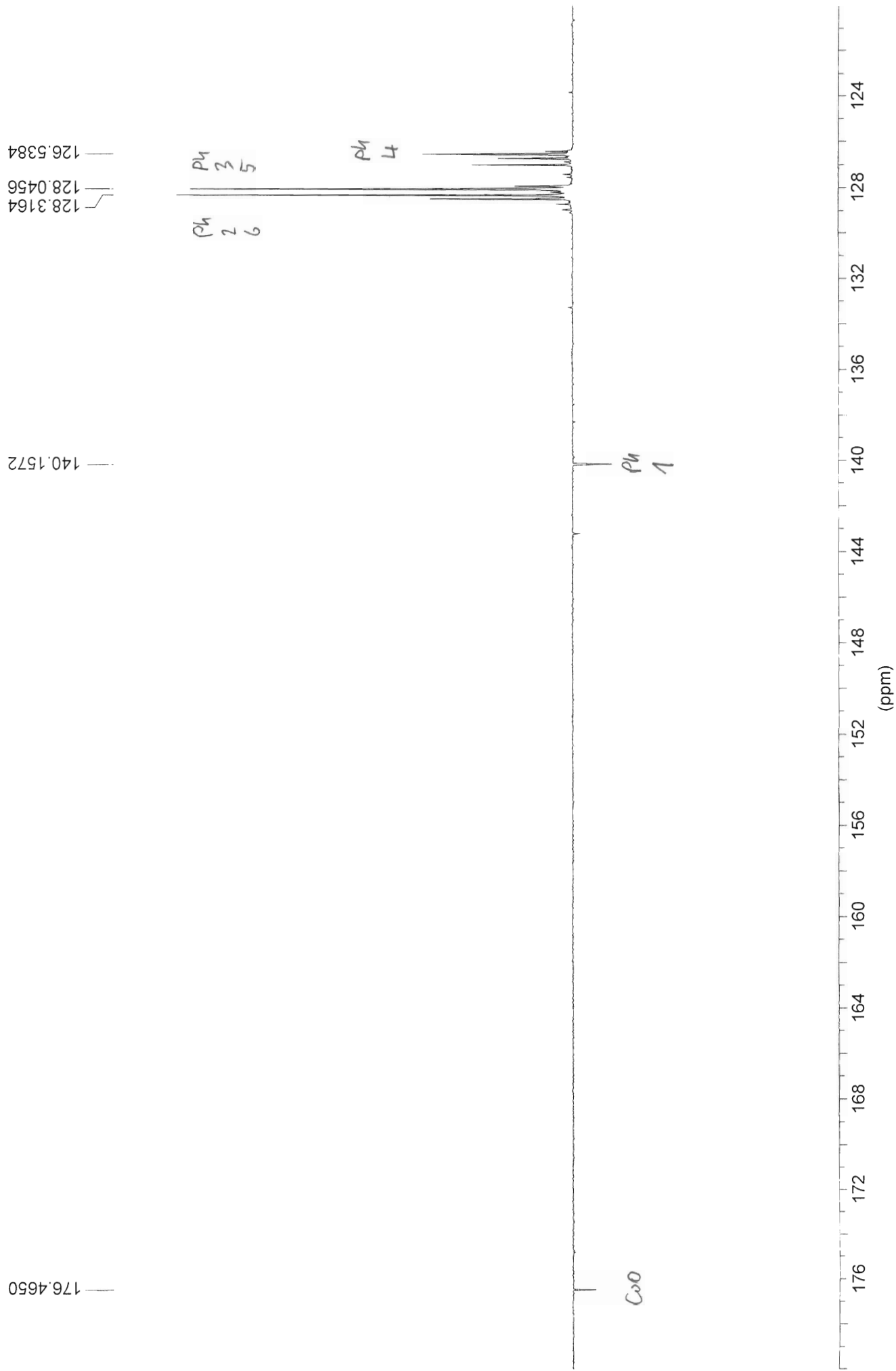
4.0371
4.0038

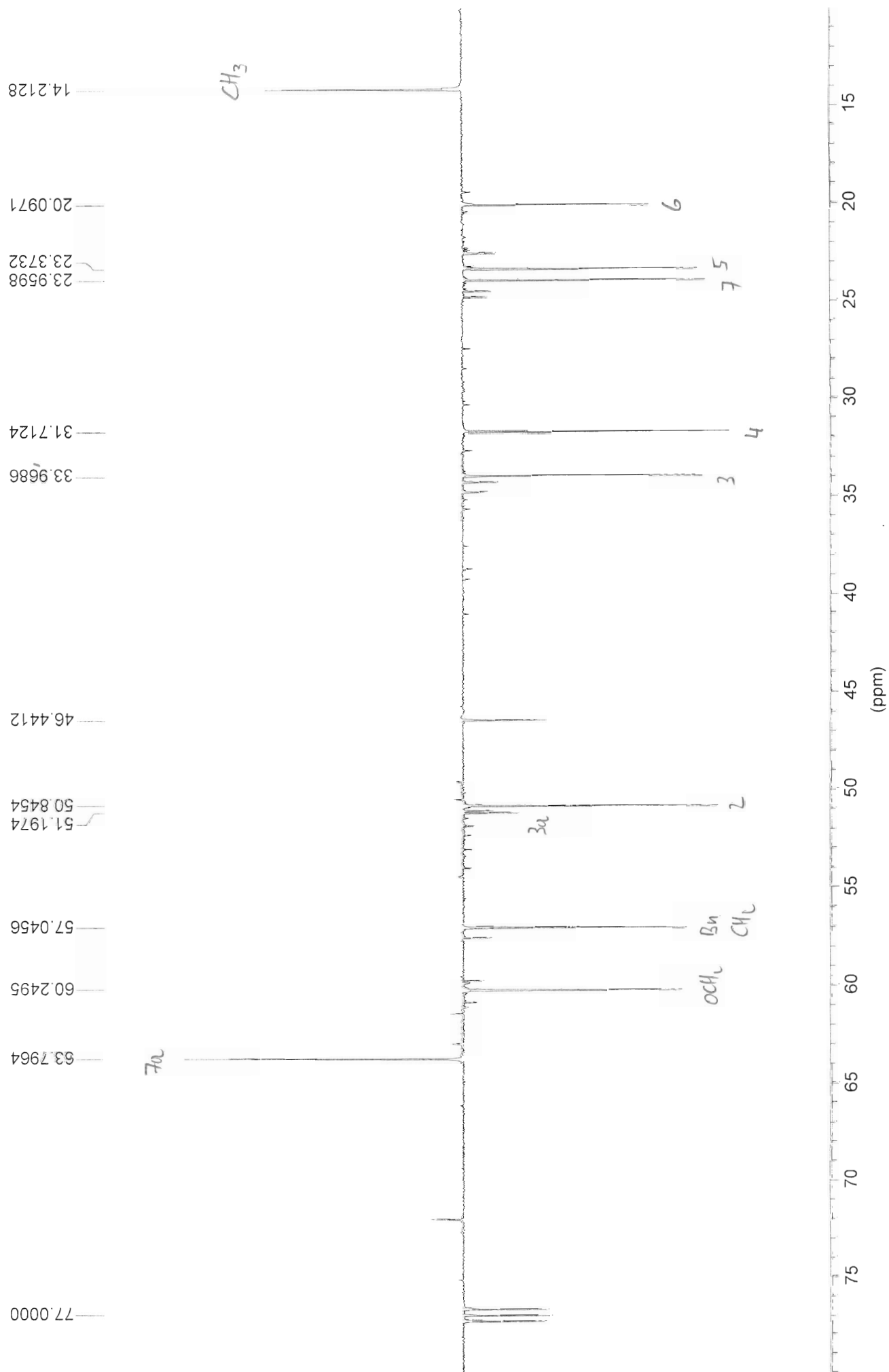
4.2042
4.2008
4.1865
4.1831
4.1684
4.1654
4.1507
4.1477



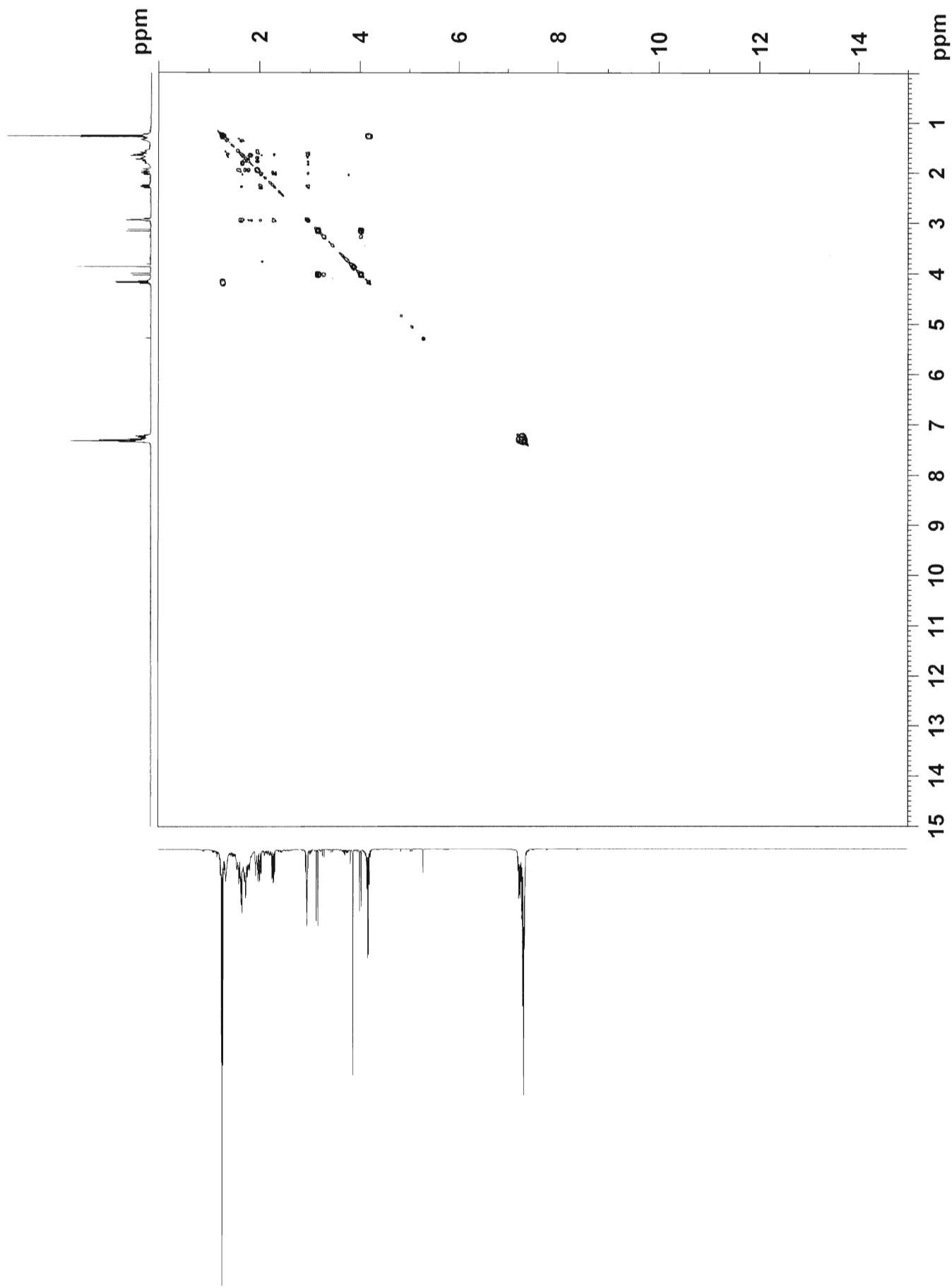




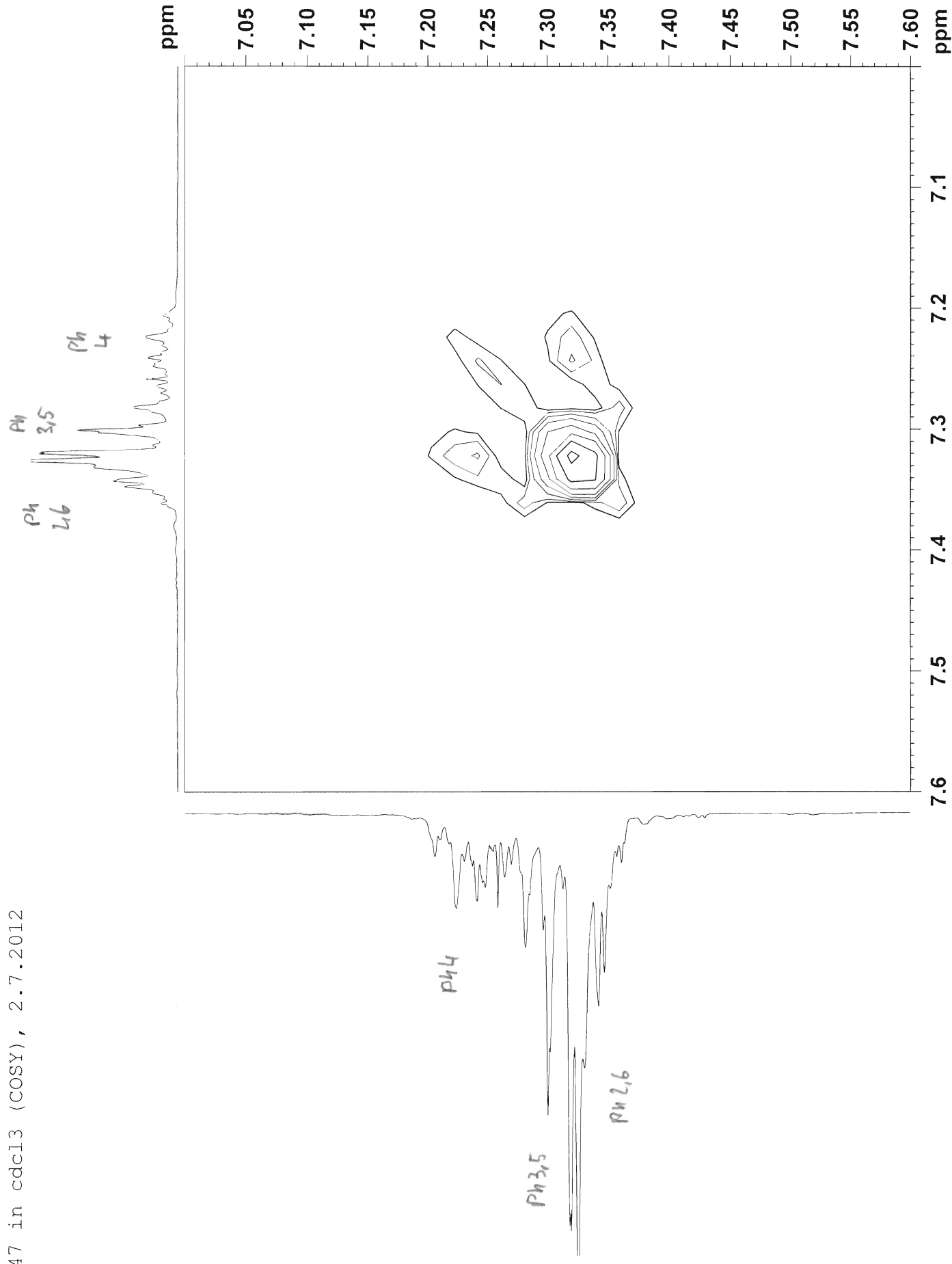




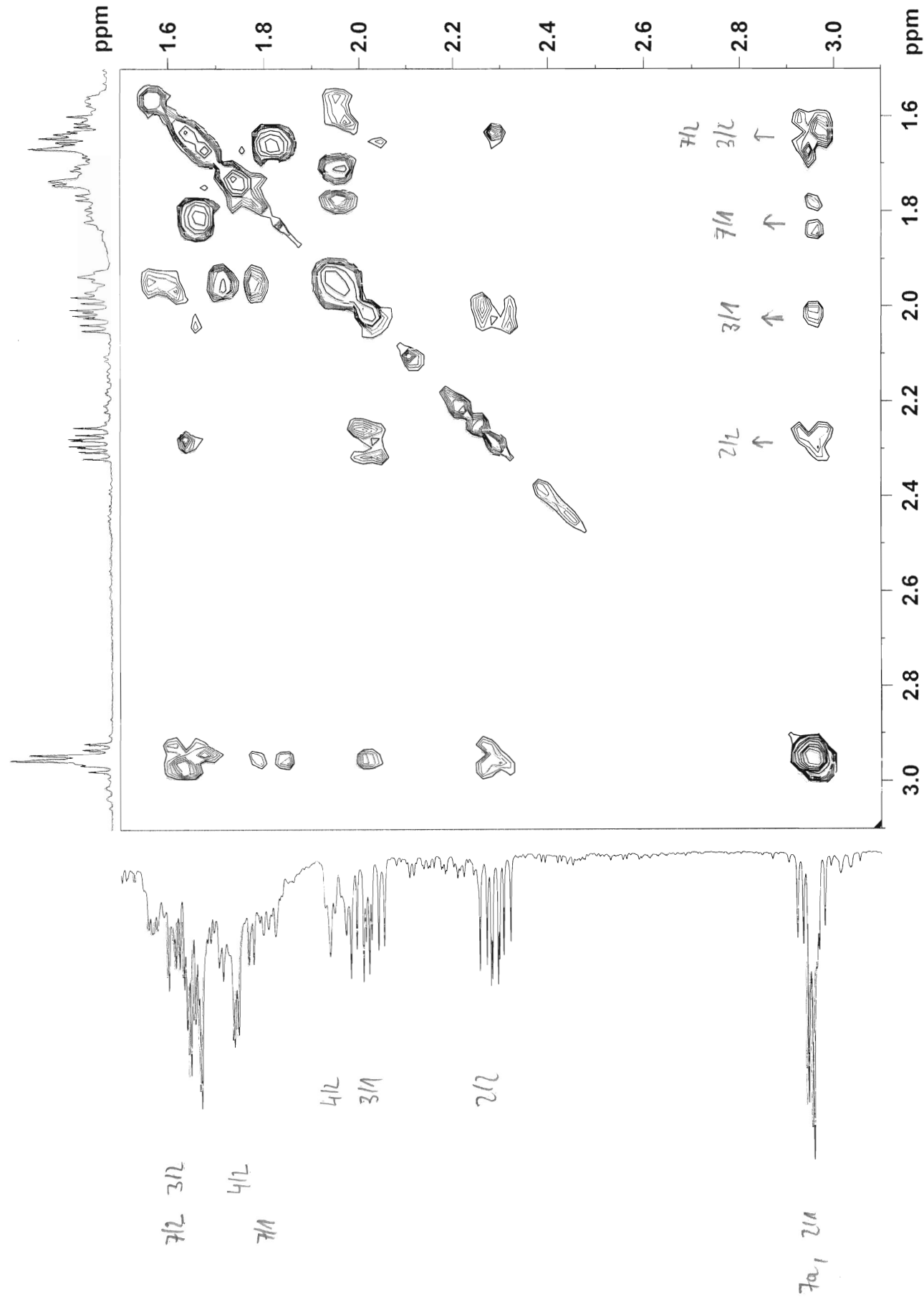
at047 in cdcl3 (COSY), 2.7.2012



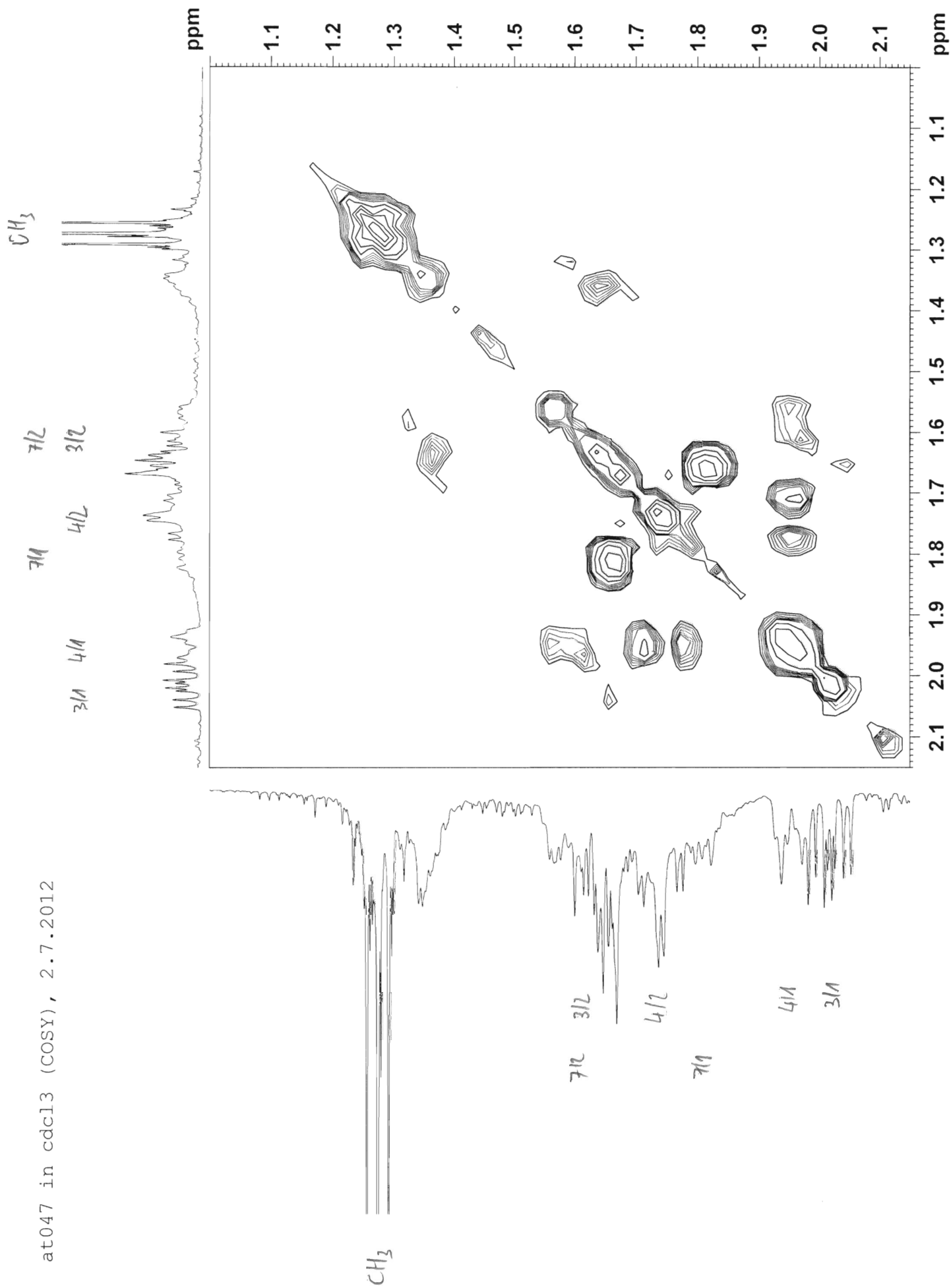
at047 in cdcl3 (COSY), 2.7.2012



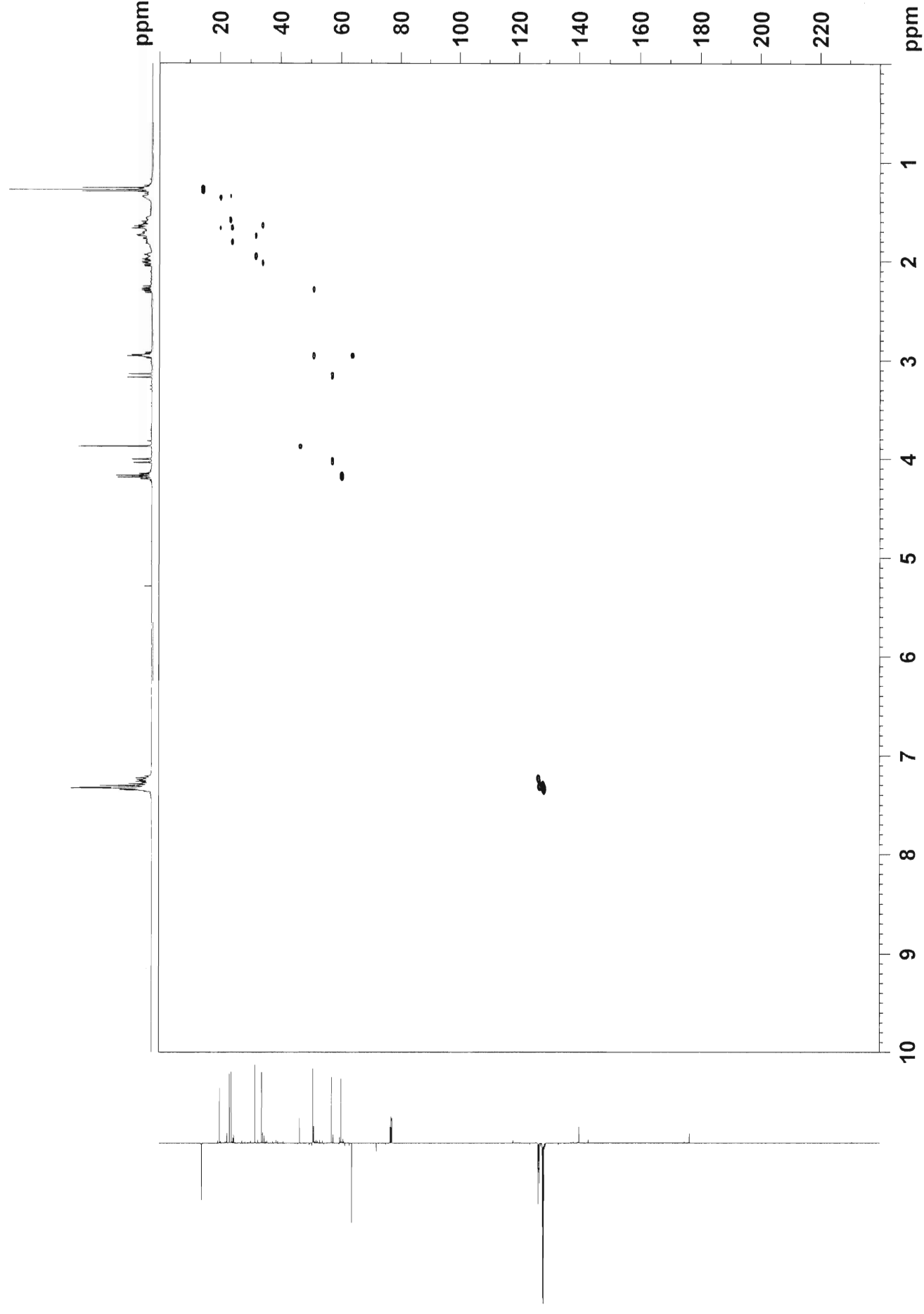
7a	7M	3/2
2/1a	3M 4M	2/2 3/2



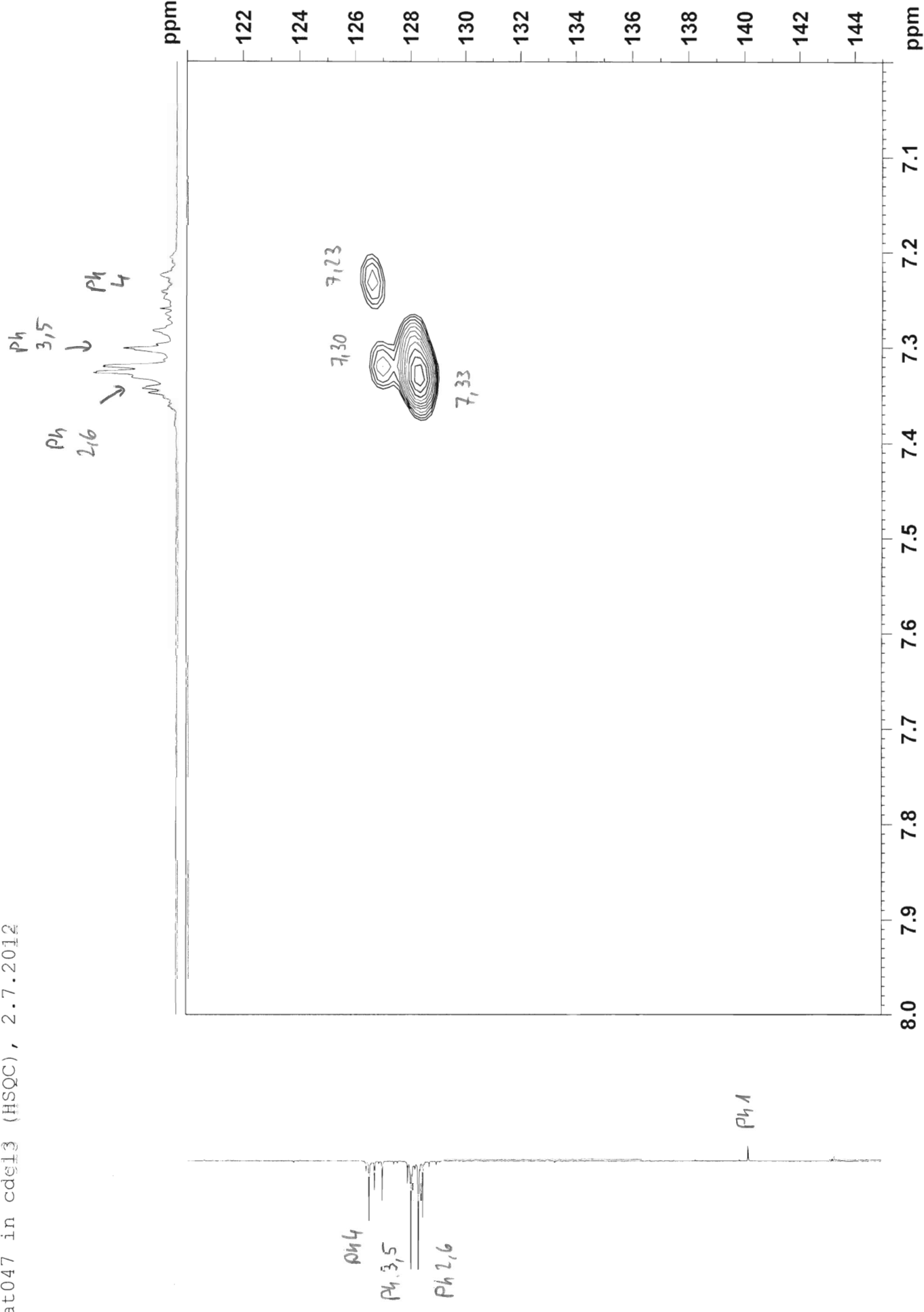
at047 in cdcl3 (COSY), 2.7.2012

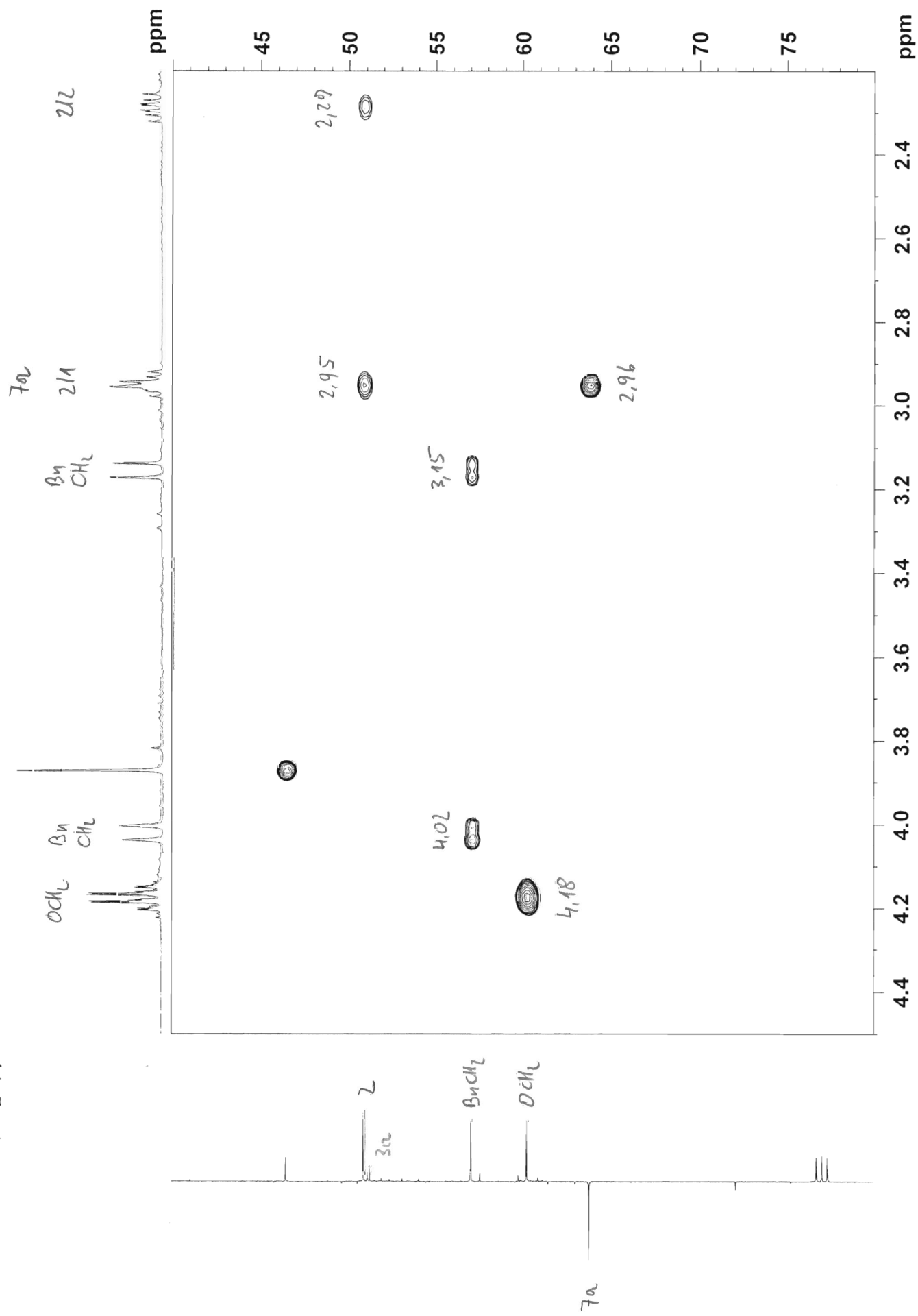


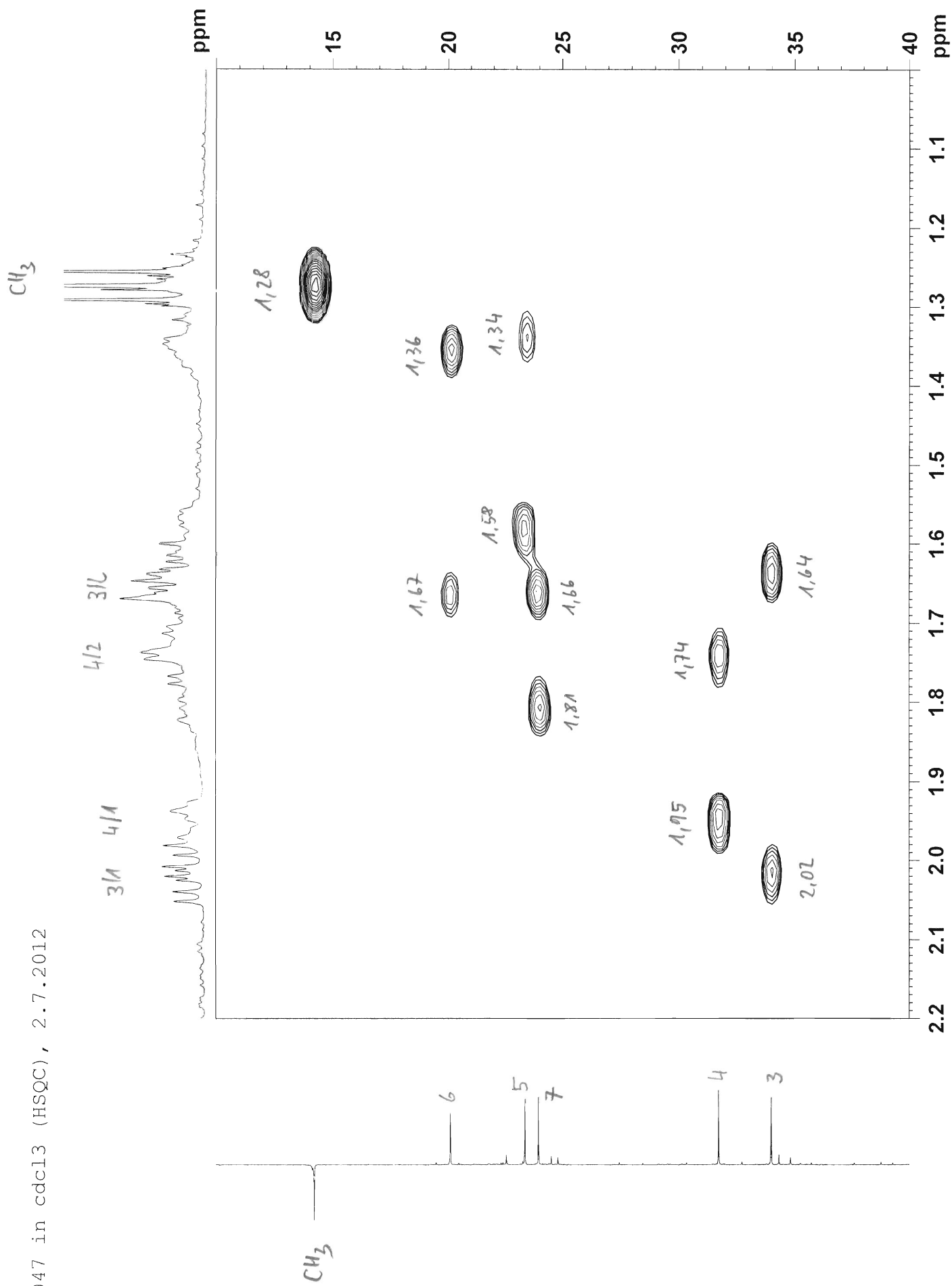
at047 in cdcl3 (HSQC), 2.7.2012



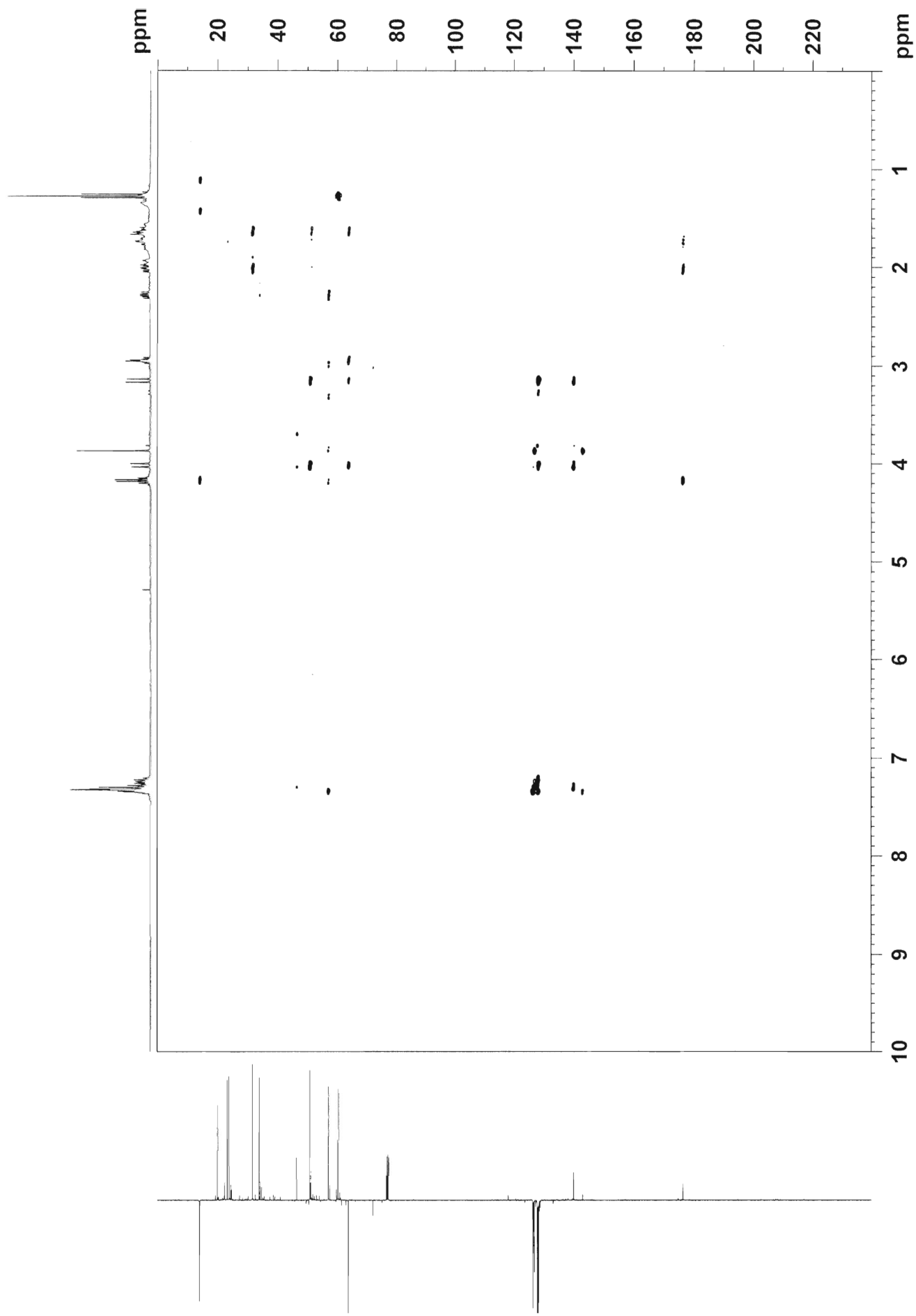
at047 in cdcl₃ (HSQC), 2.7.2012



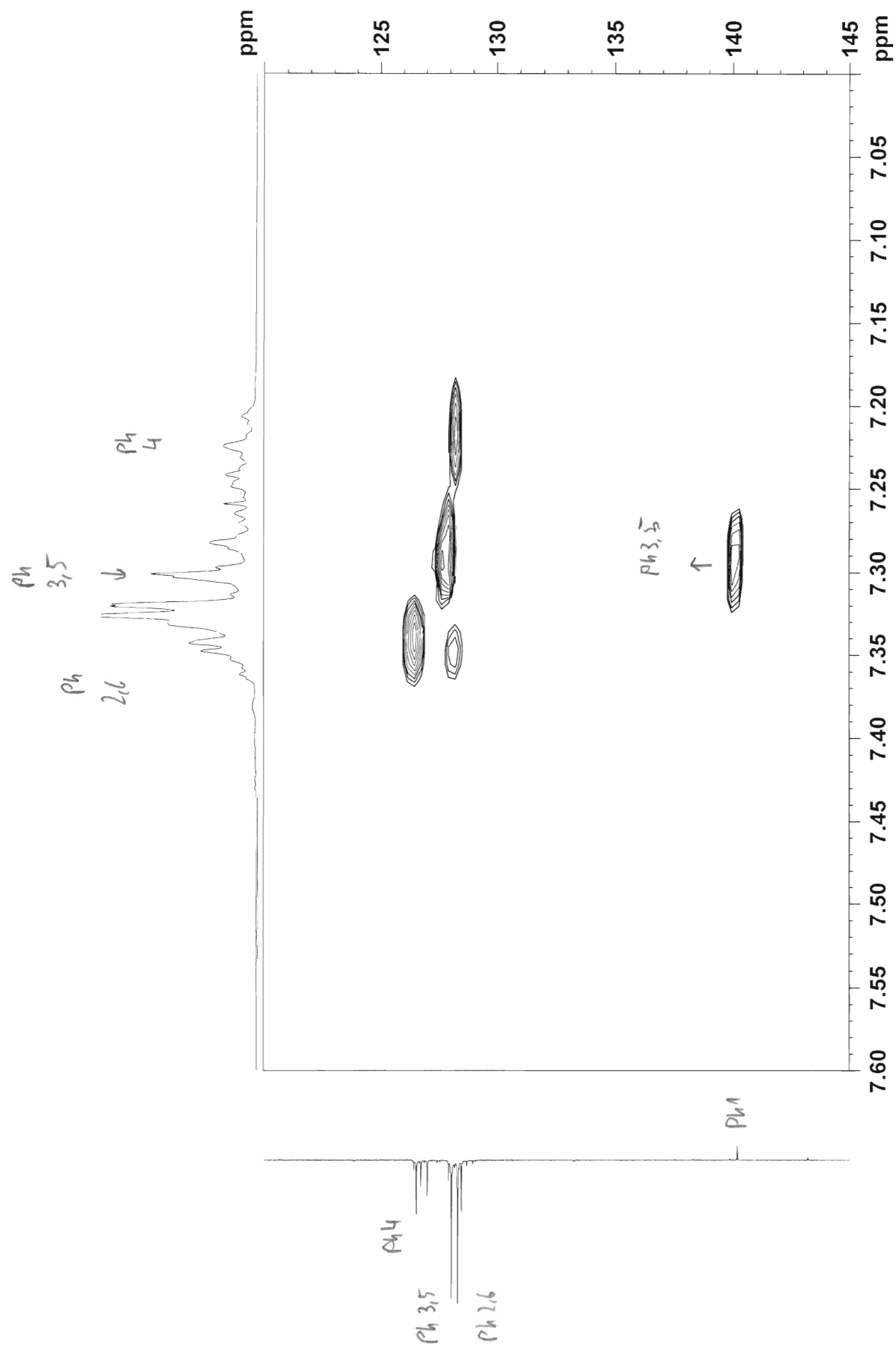


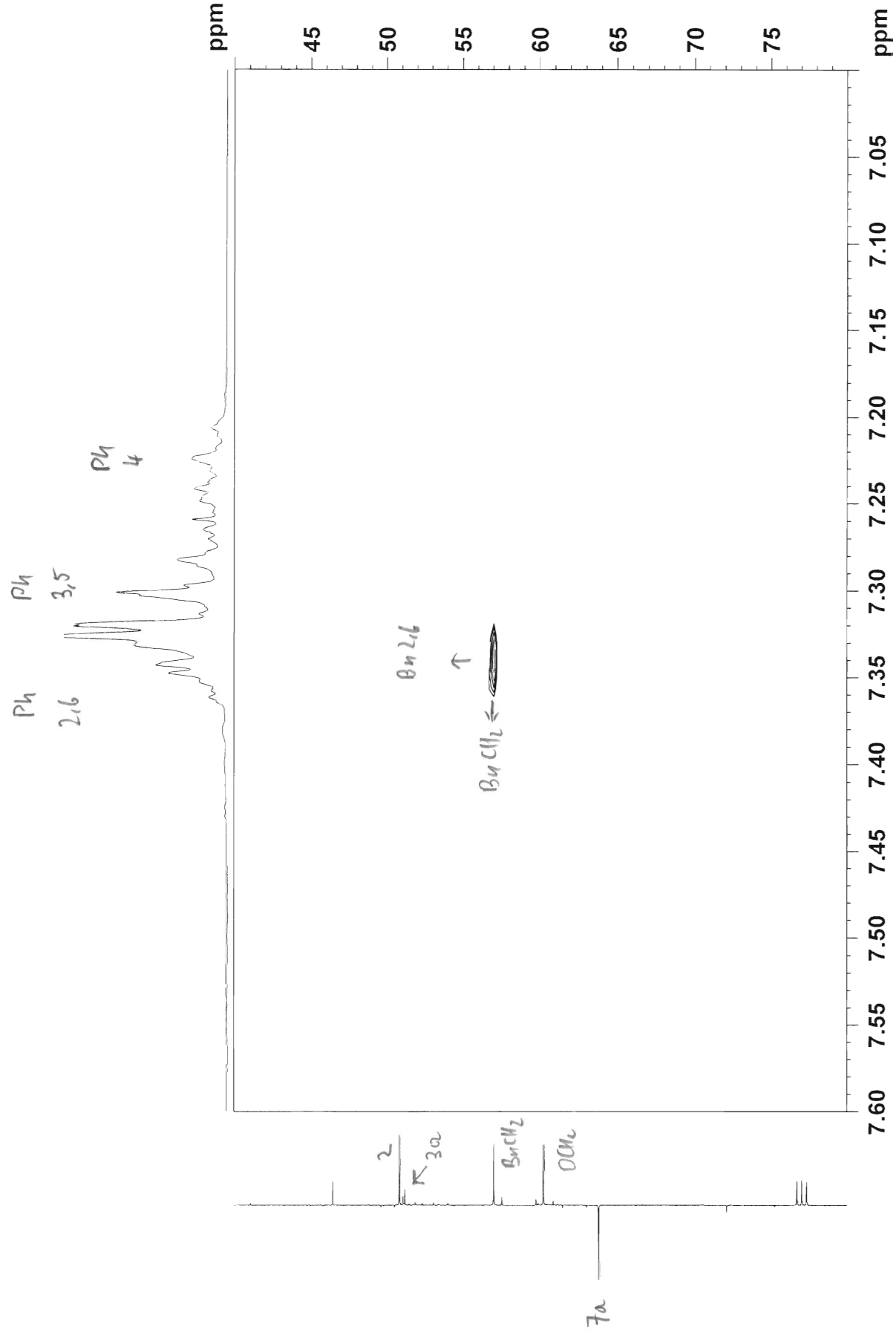


at047 in cdcl3 (HMBC), 2.7.2012

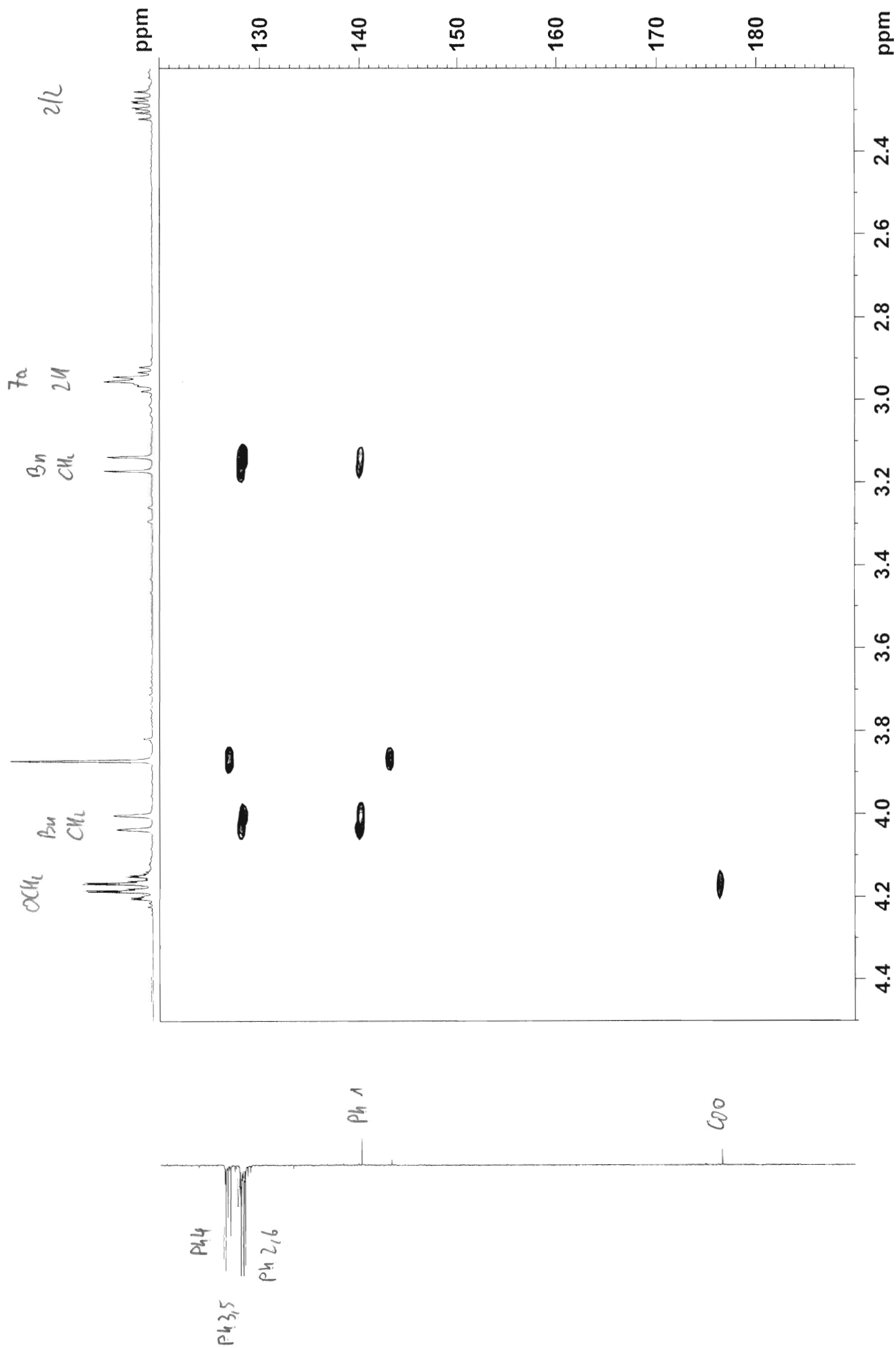


at047 in cdcl3 (HMBC), 2.7.2012

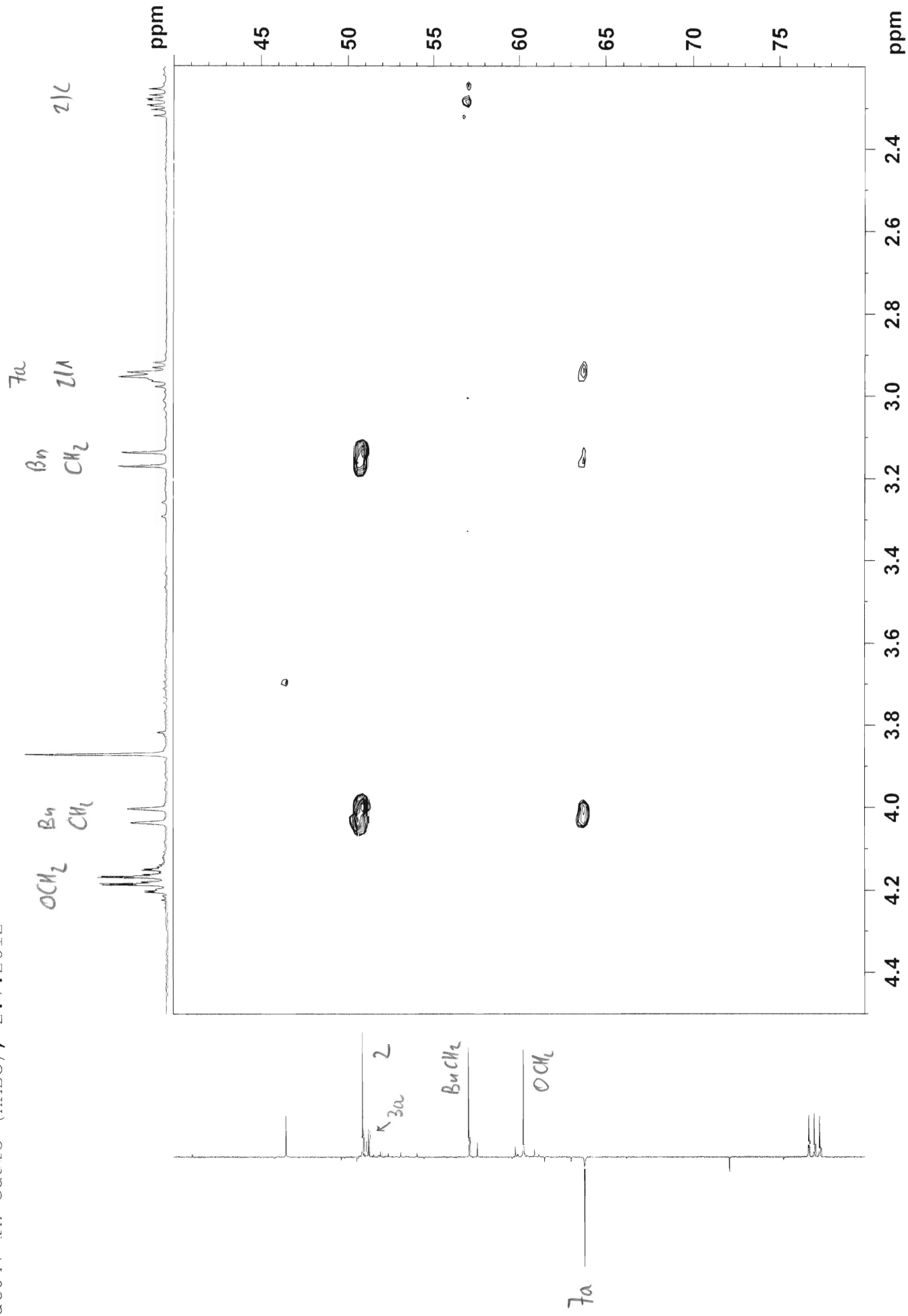




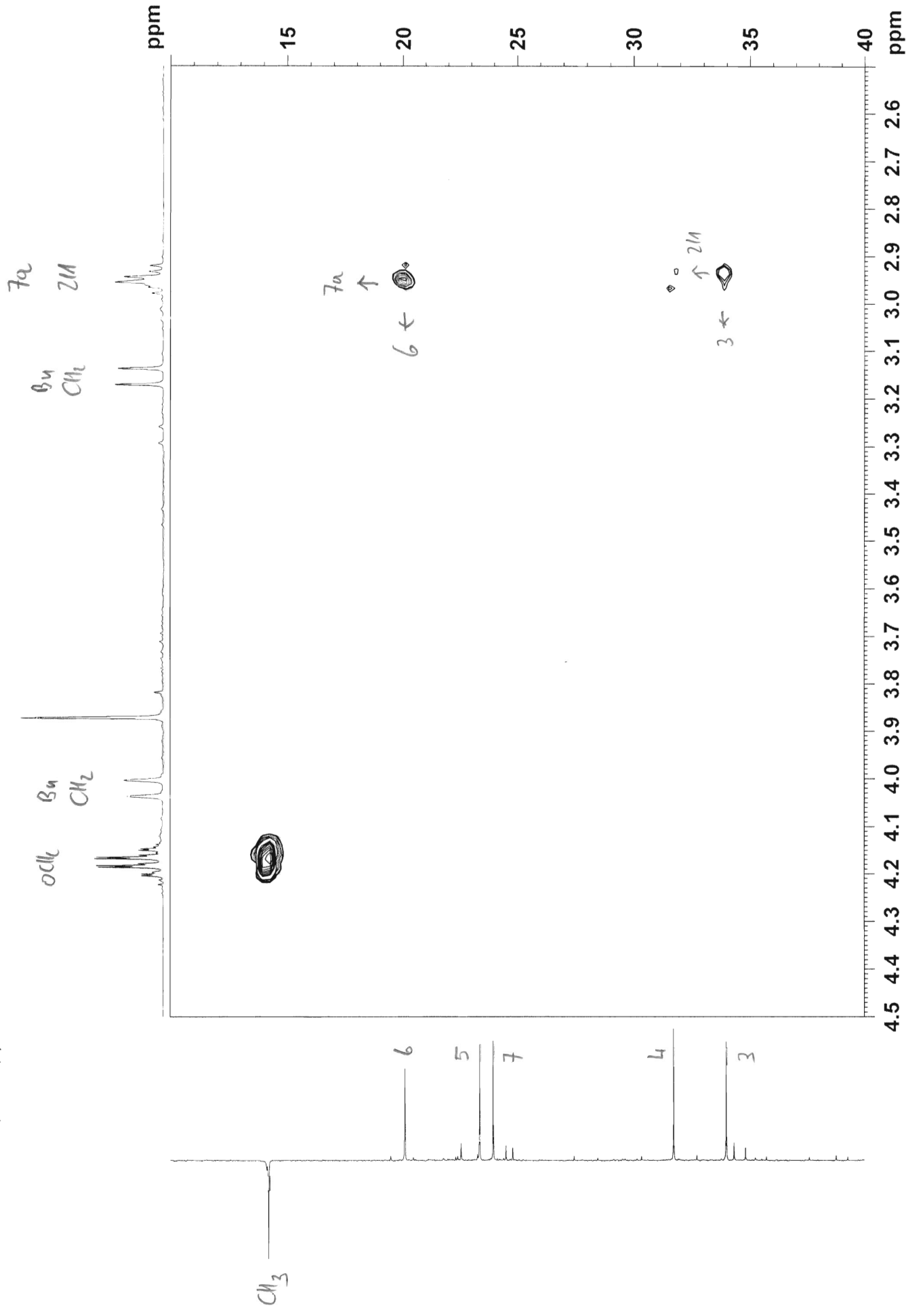
at047 in cdcl3 (HMBC), 2.7.2012



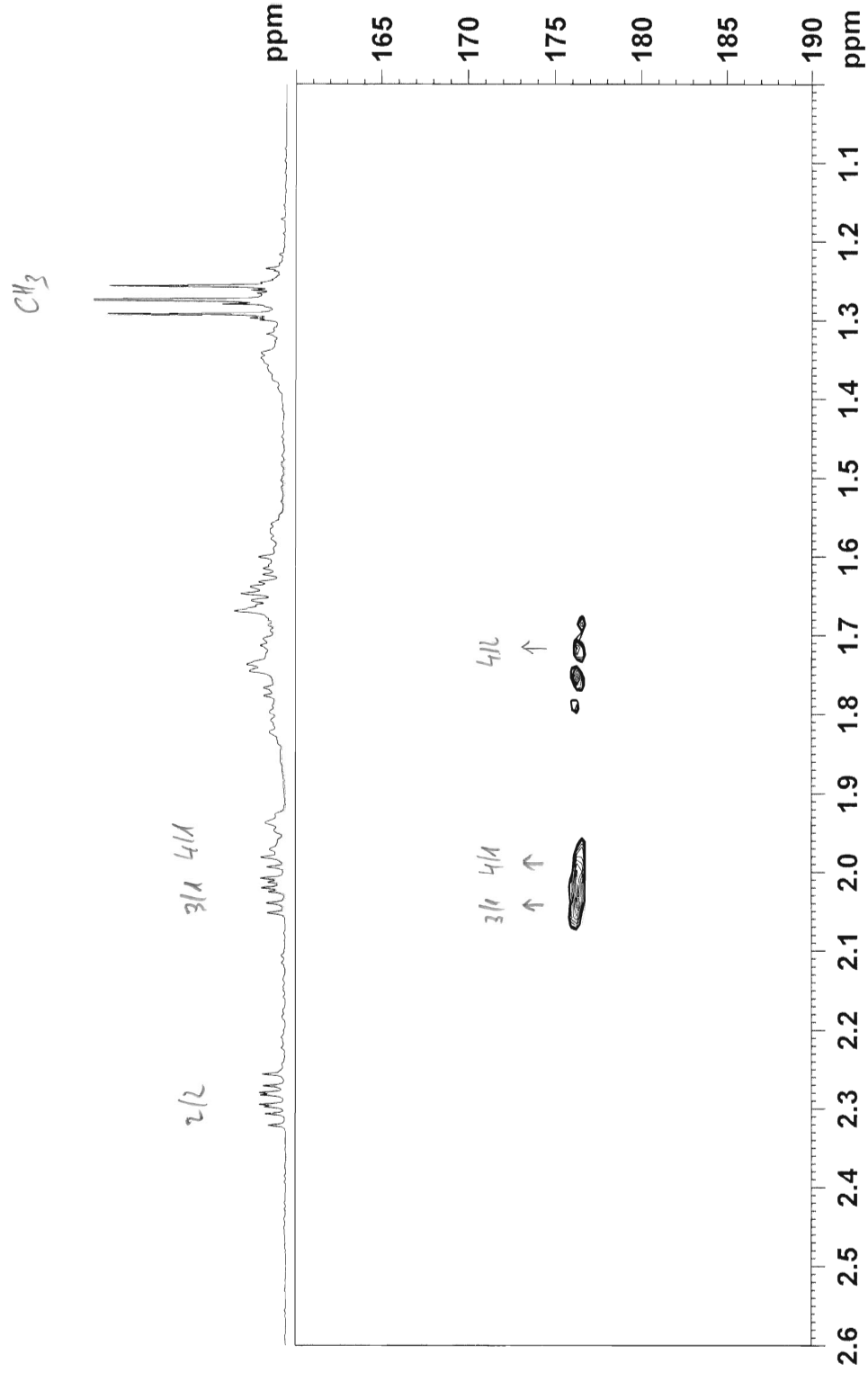
at047 in cdcl3 (HMBC), 2.7.2012



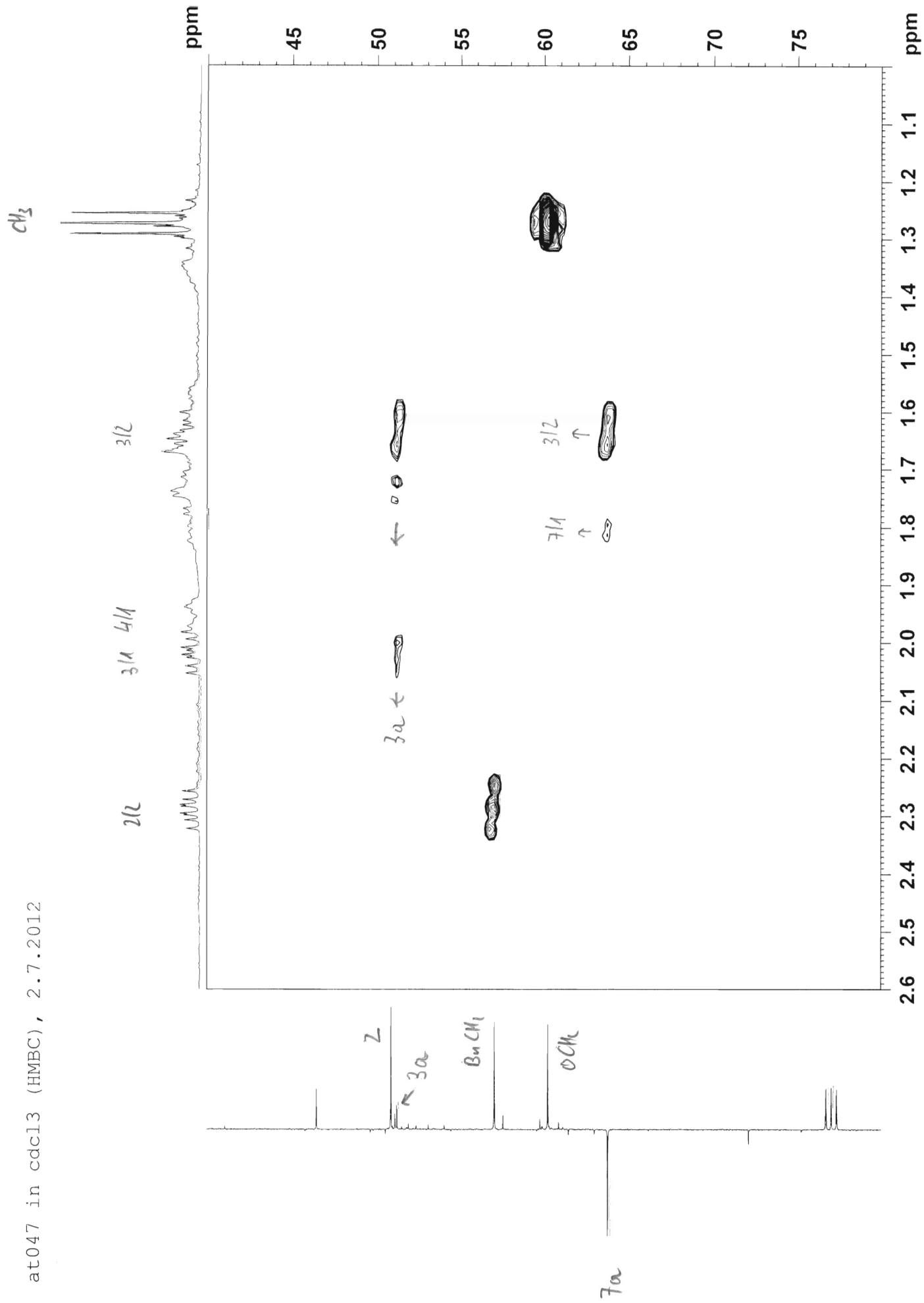
at047 in cdcl3 (HMBC), 2.7.2012



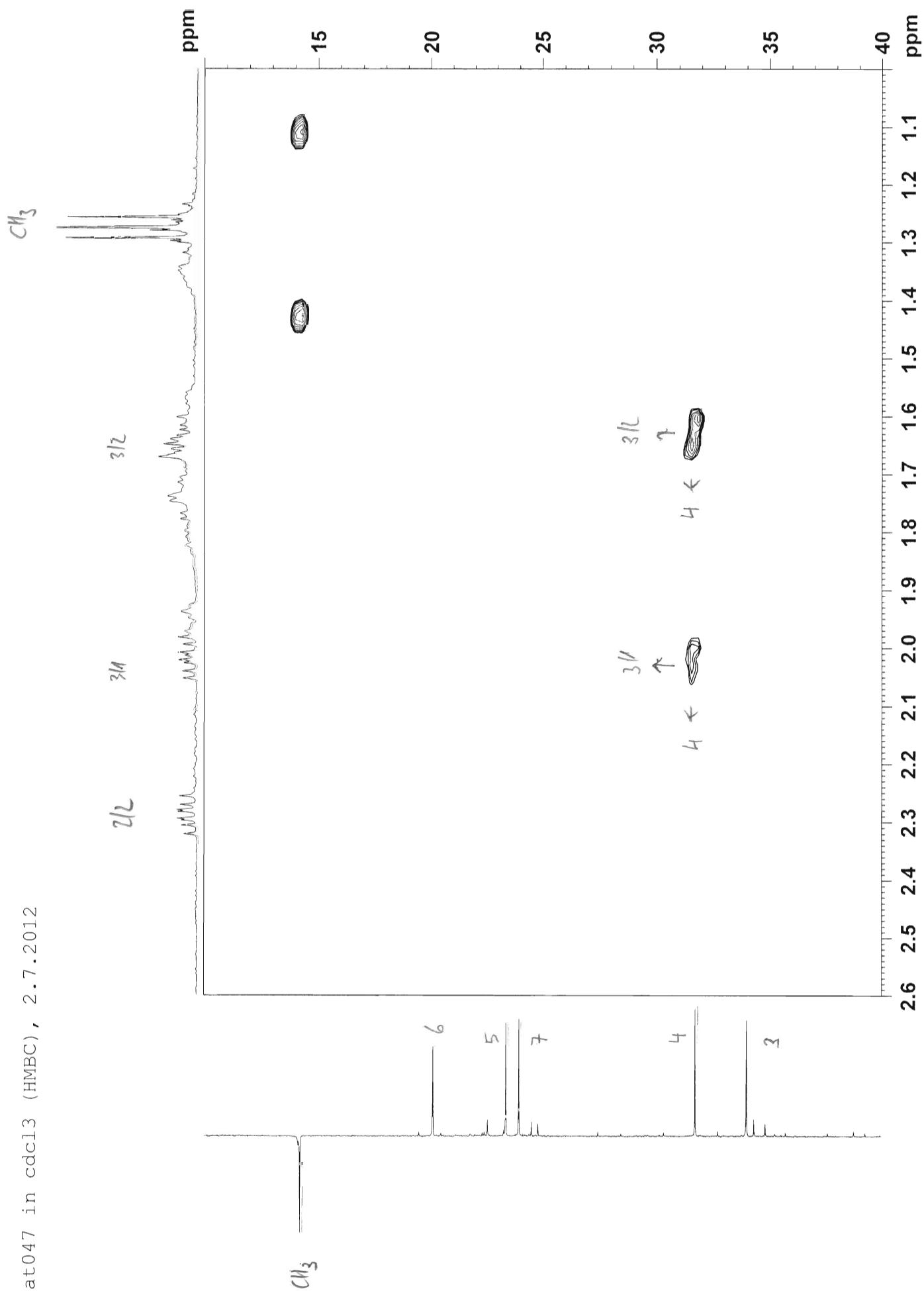
at047 in cdcl3 (HMB), 2.7.2012

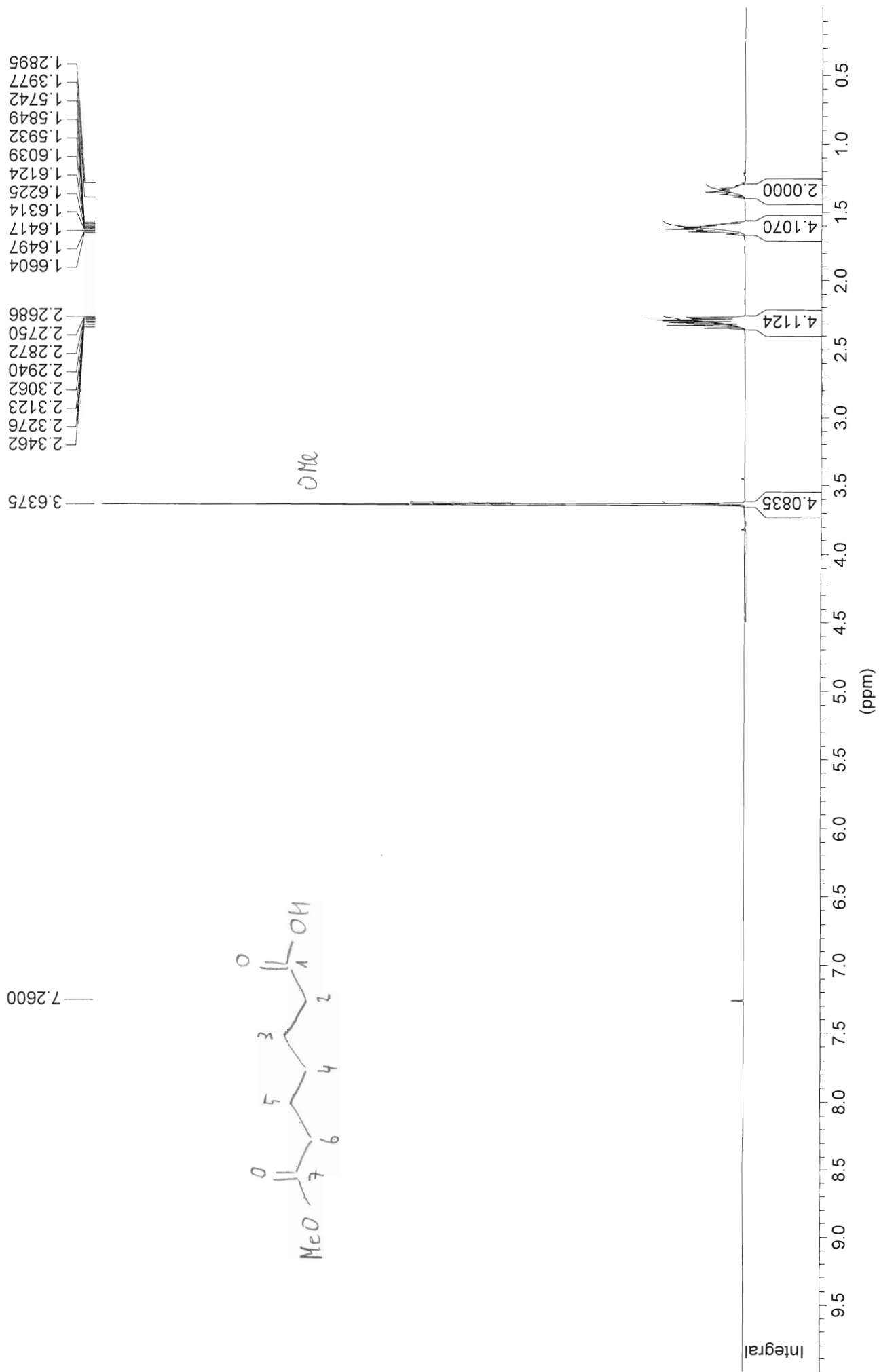


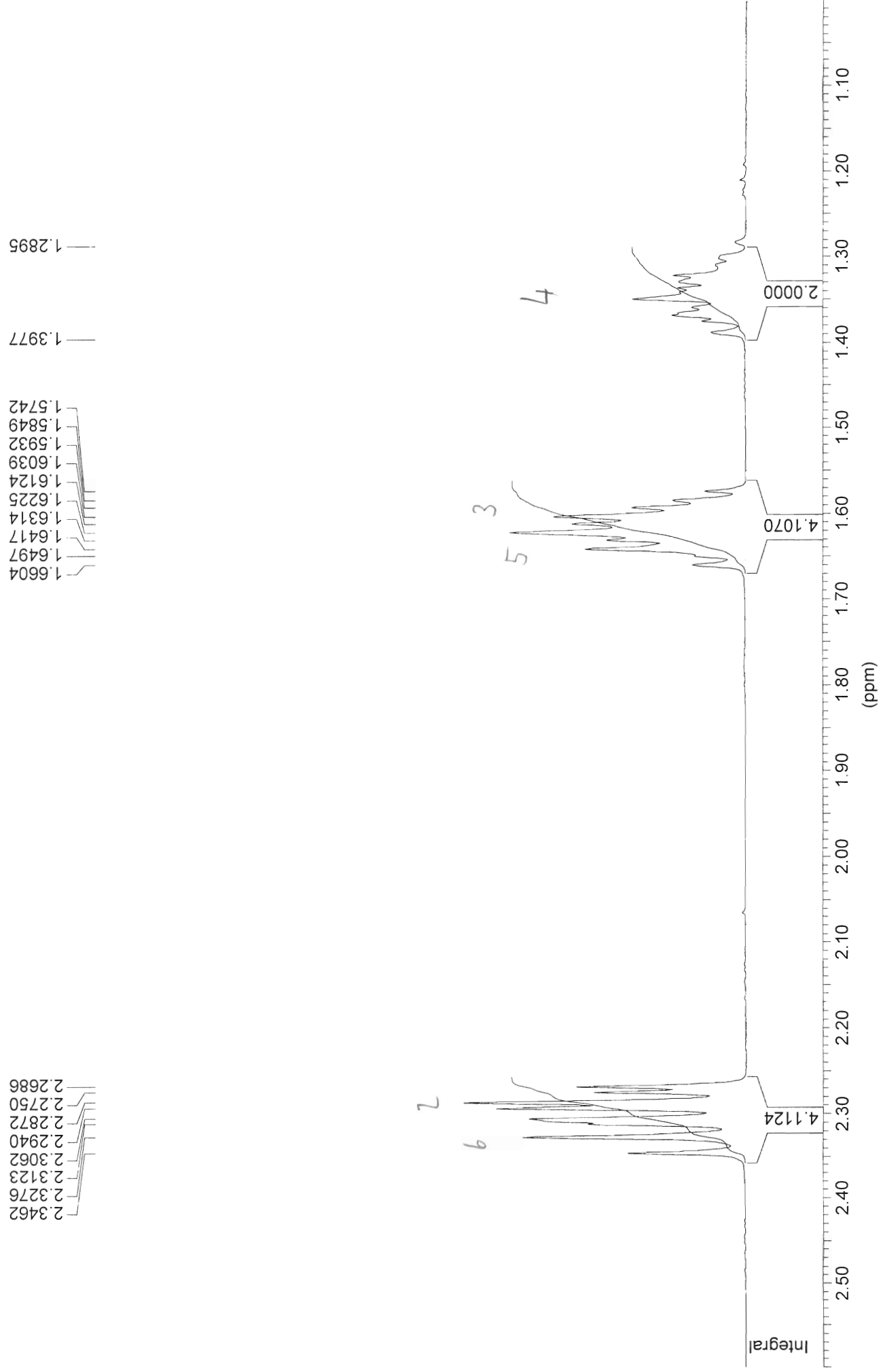
at047 in cdcl3 (HMBC), 2.7.2012

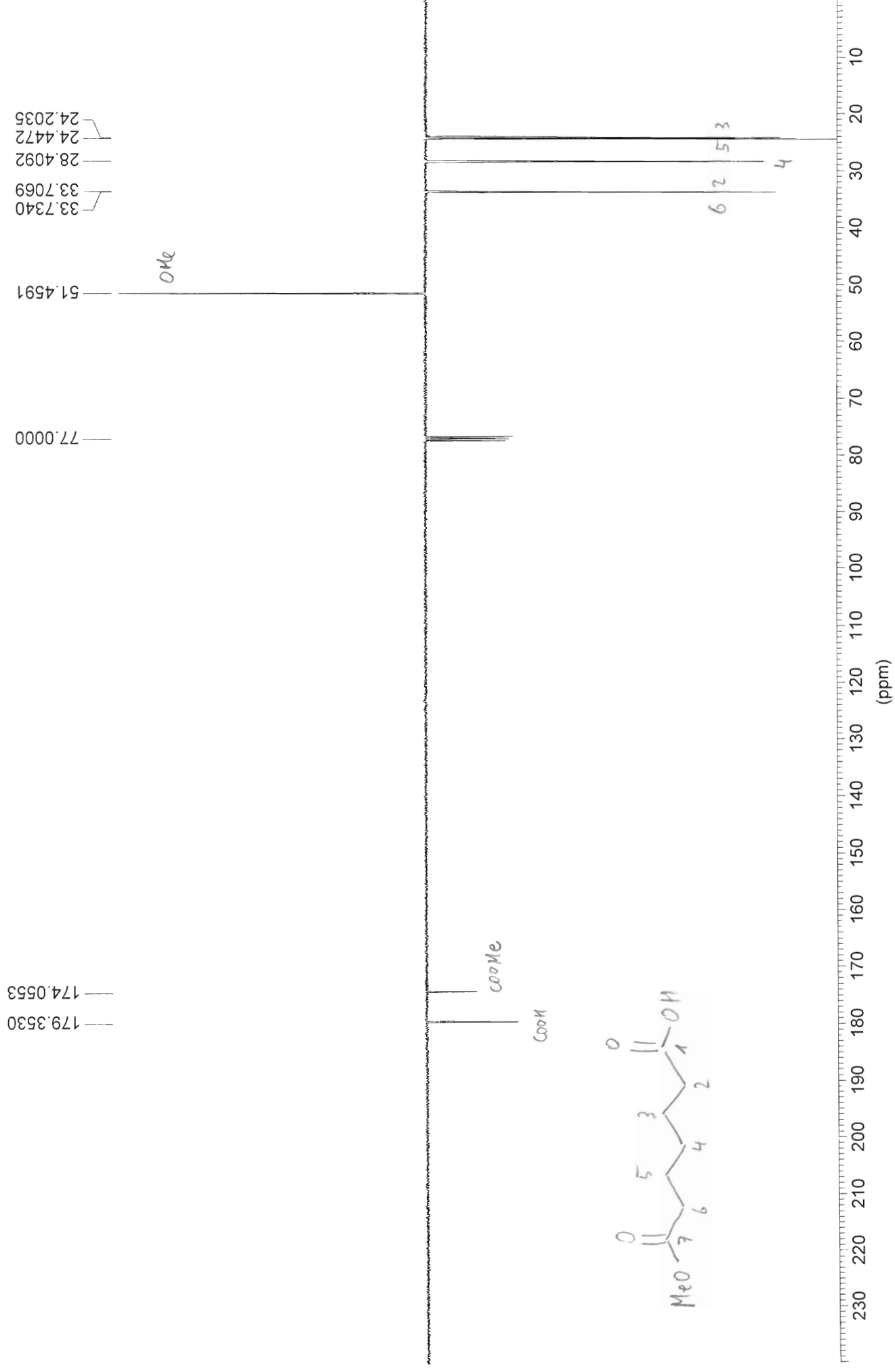


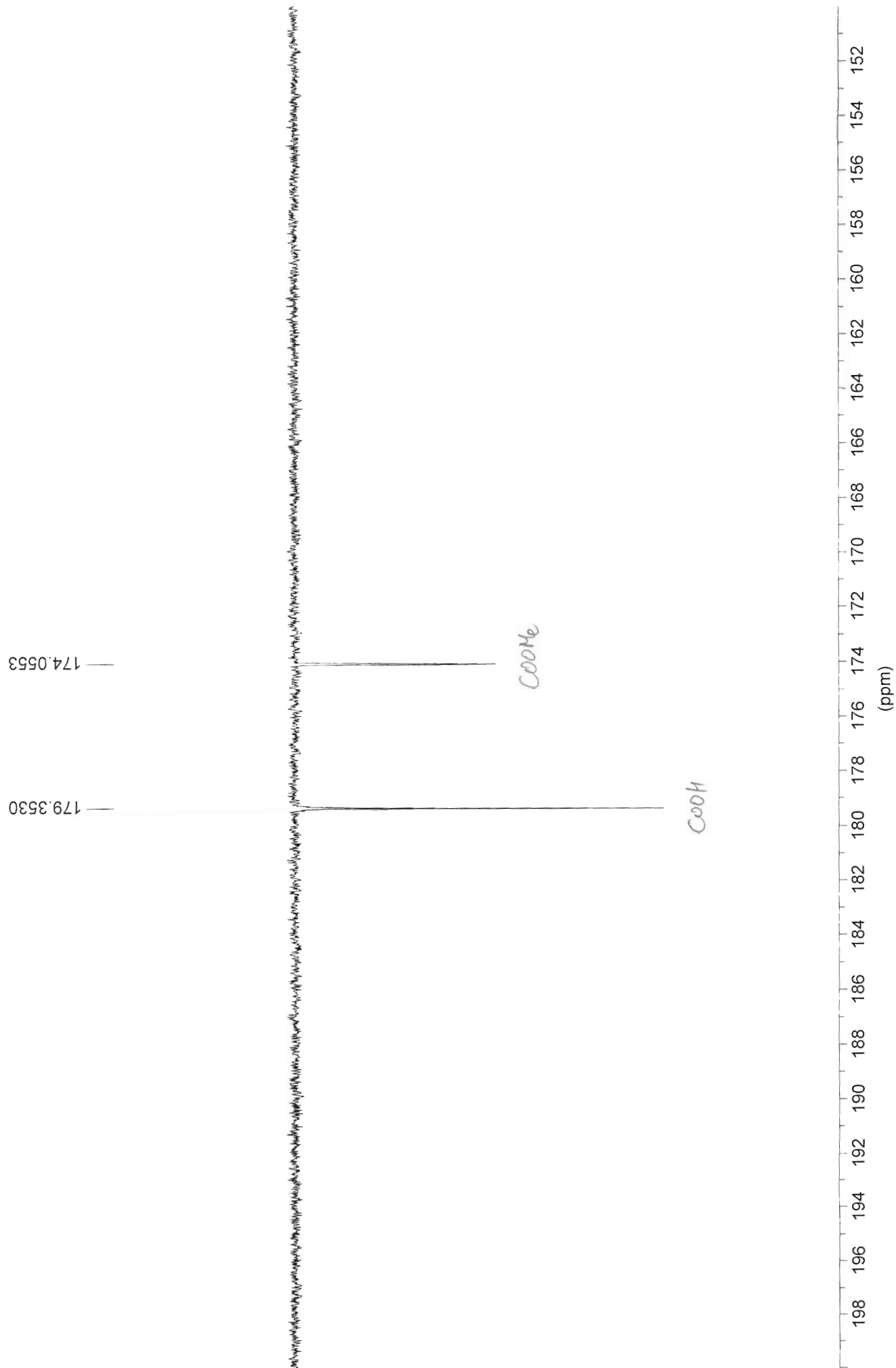
at047 in cdcl3 (HMBC), 2.7.2012

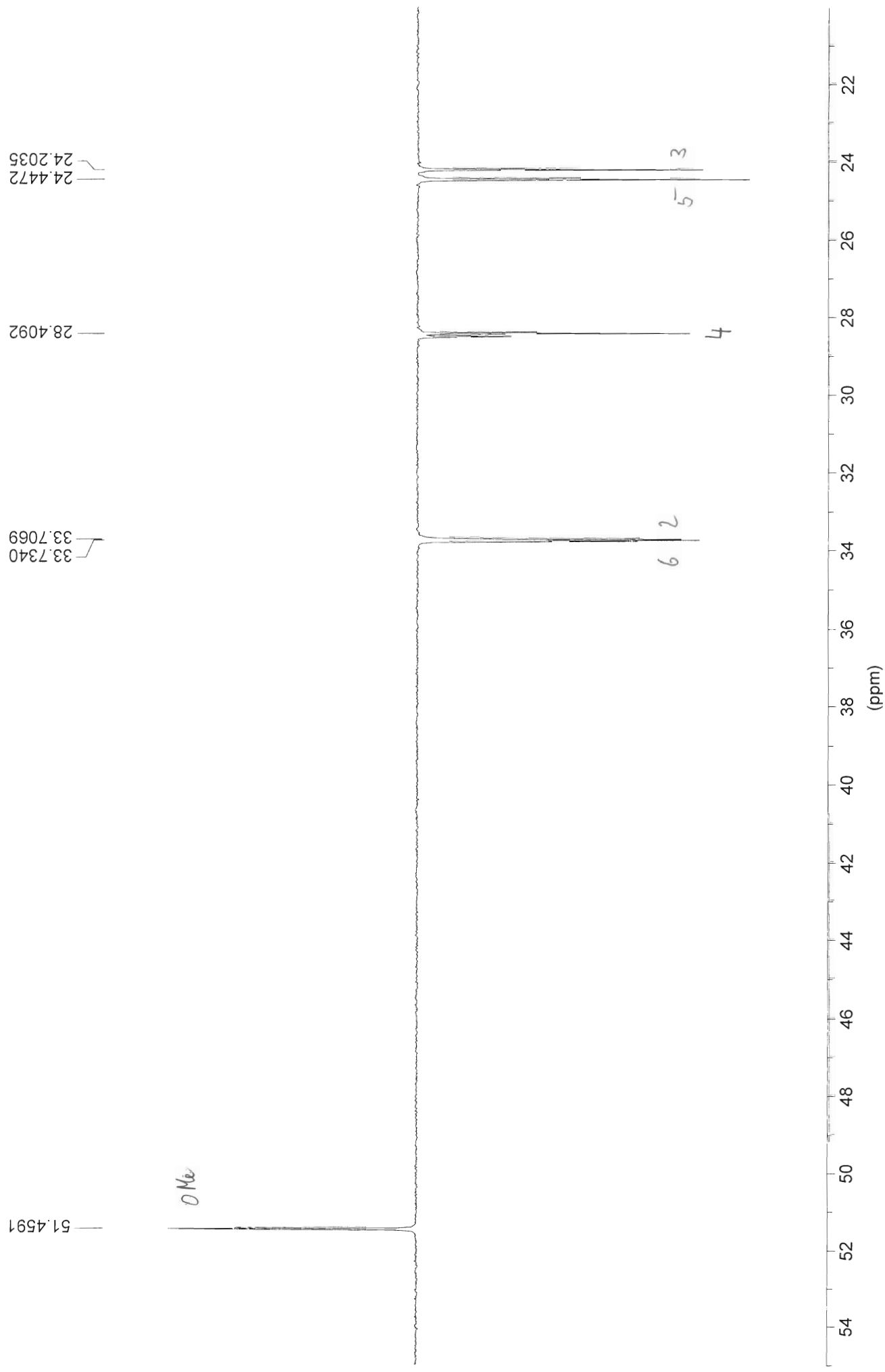




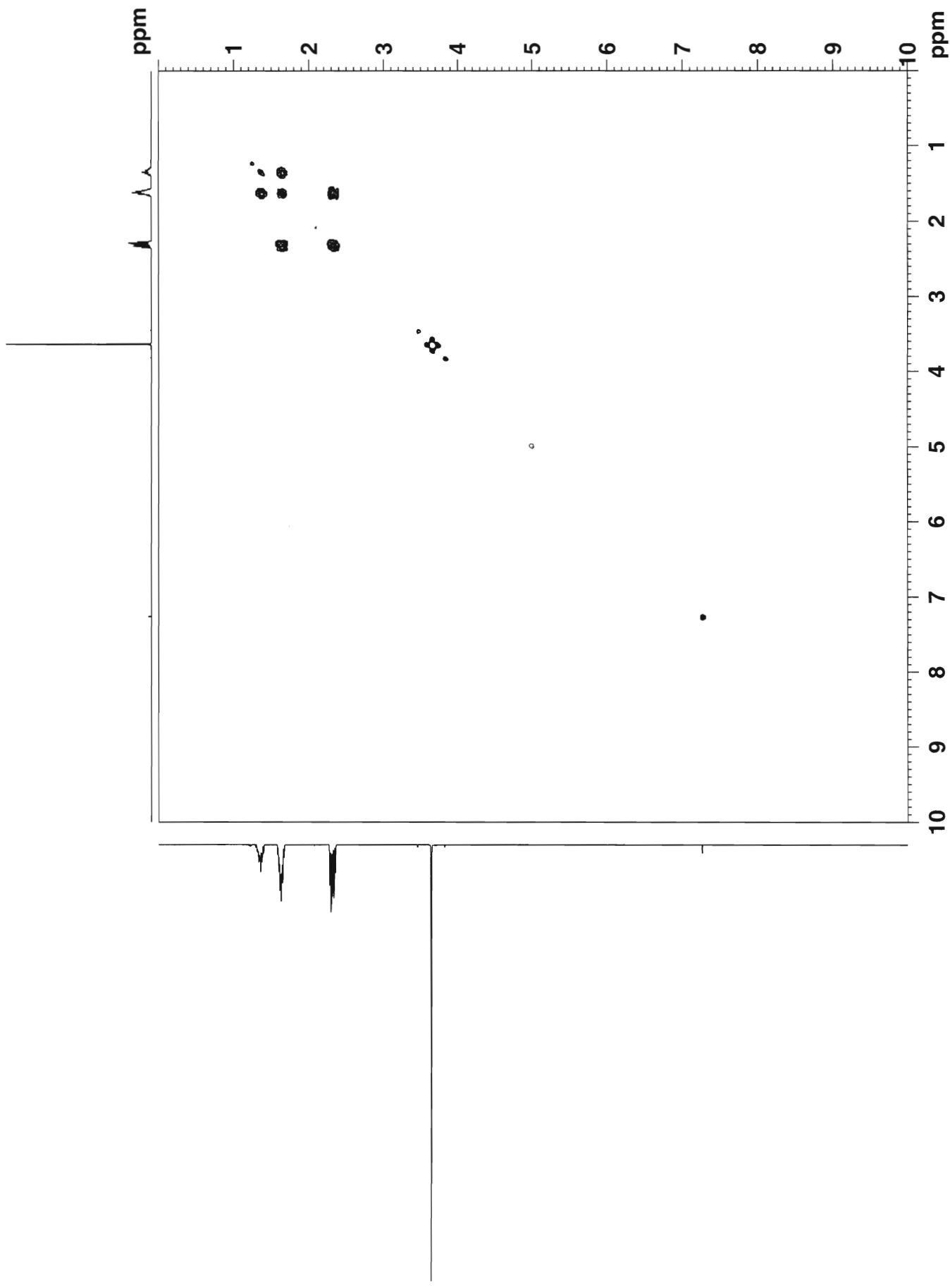




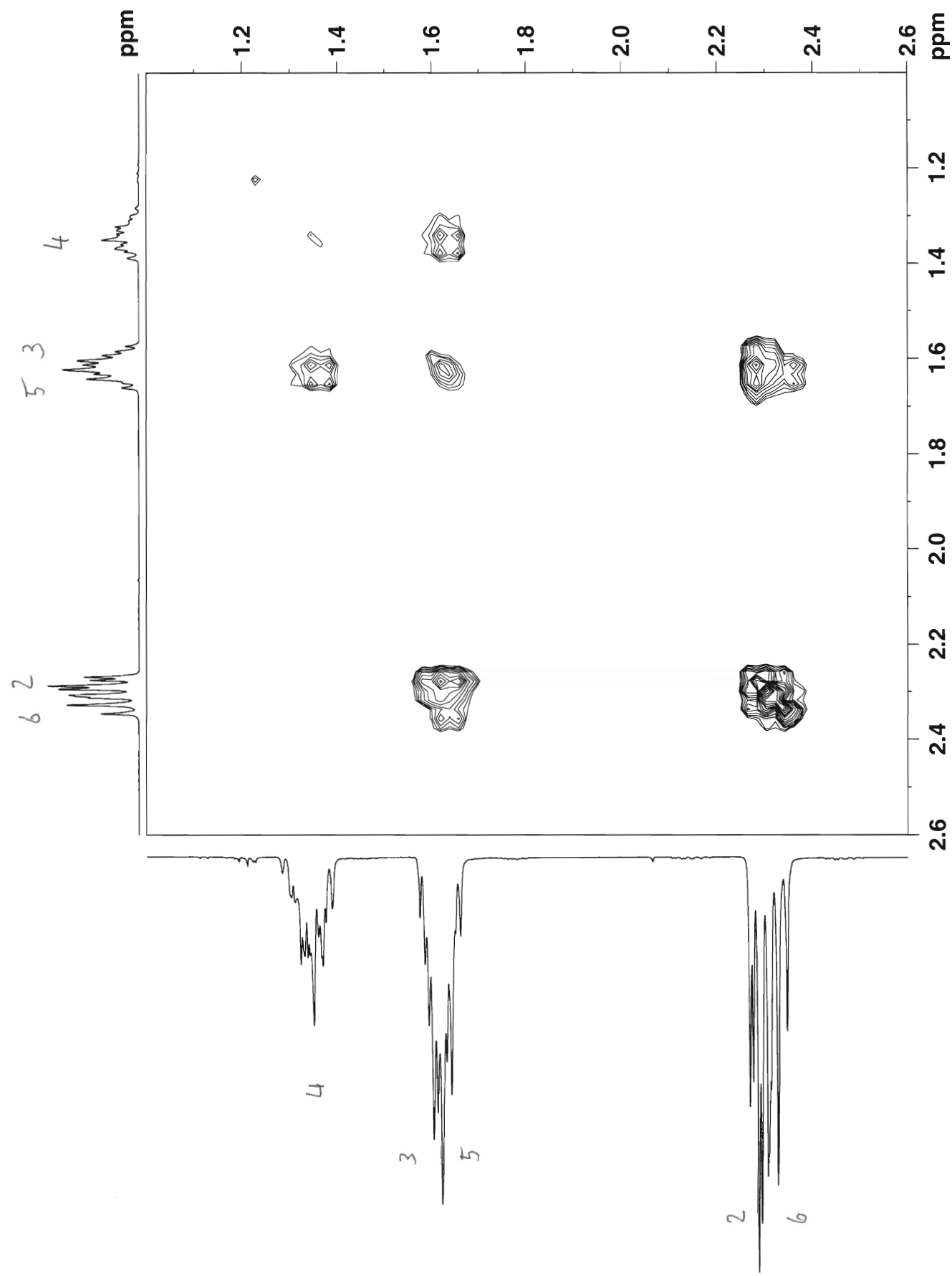




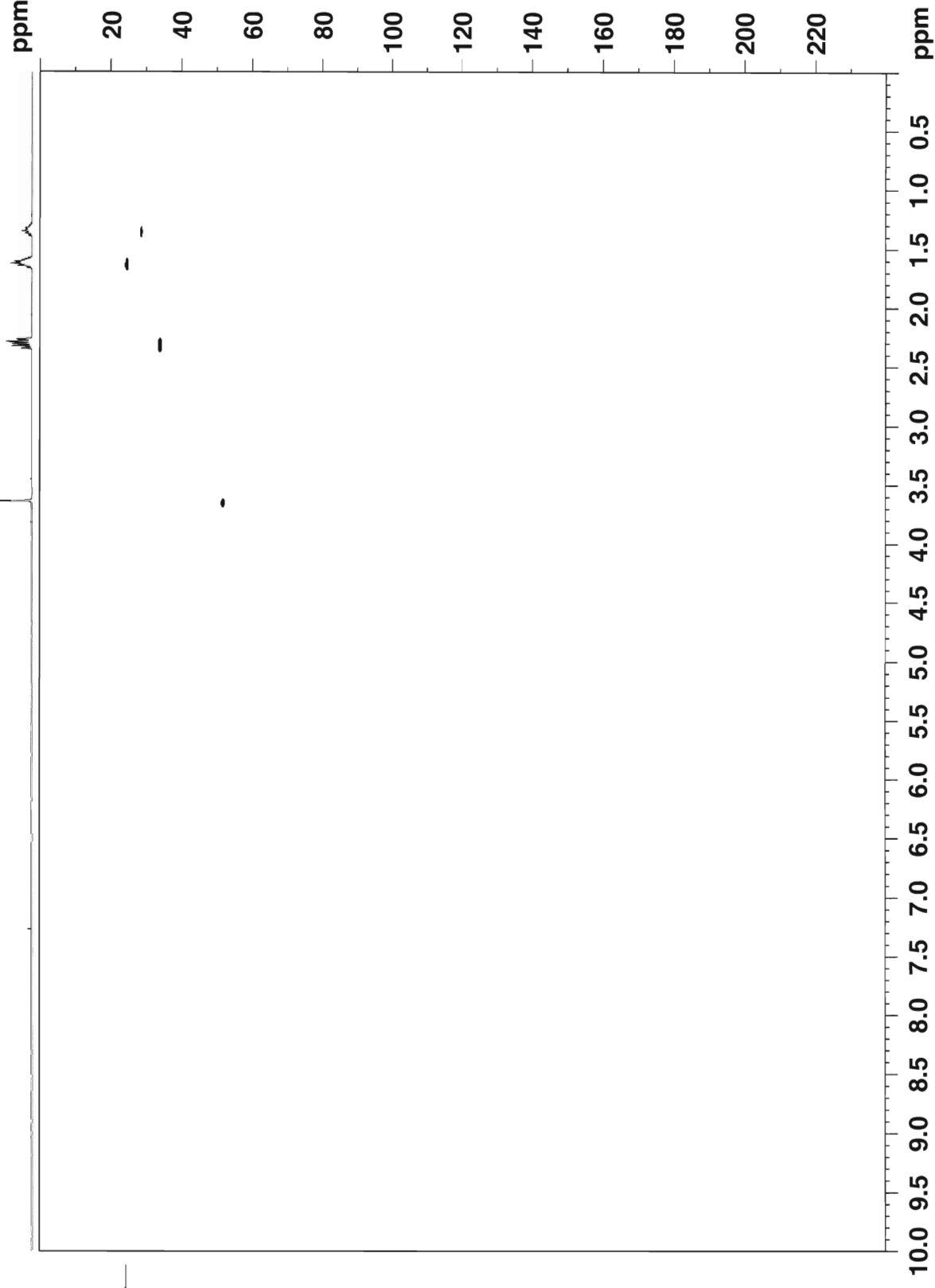
at032 in cdcl3 (COSY), 18.7.2012



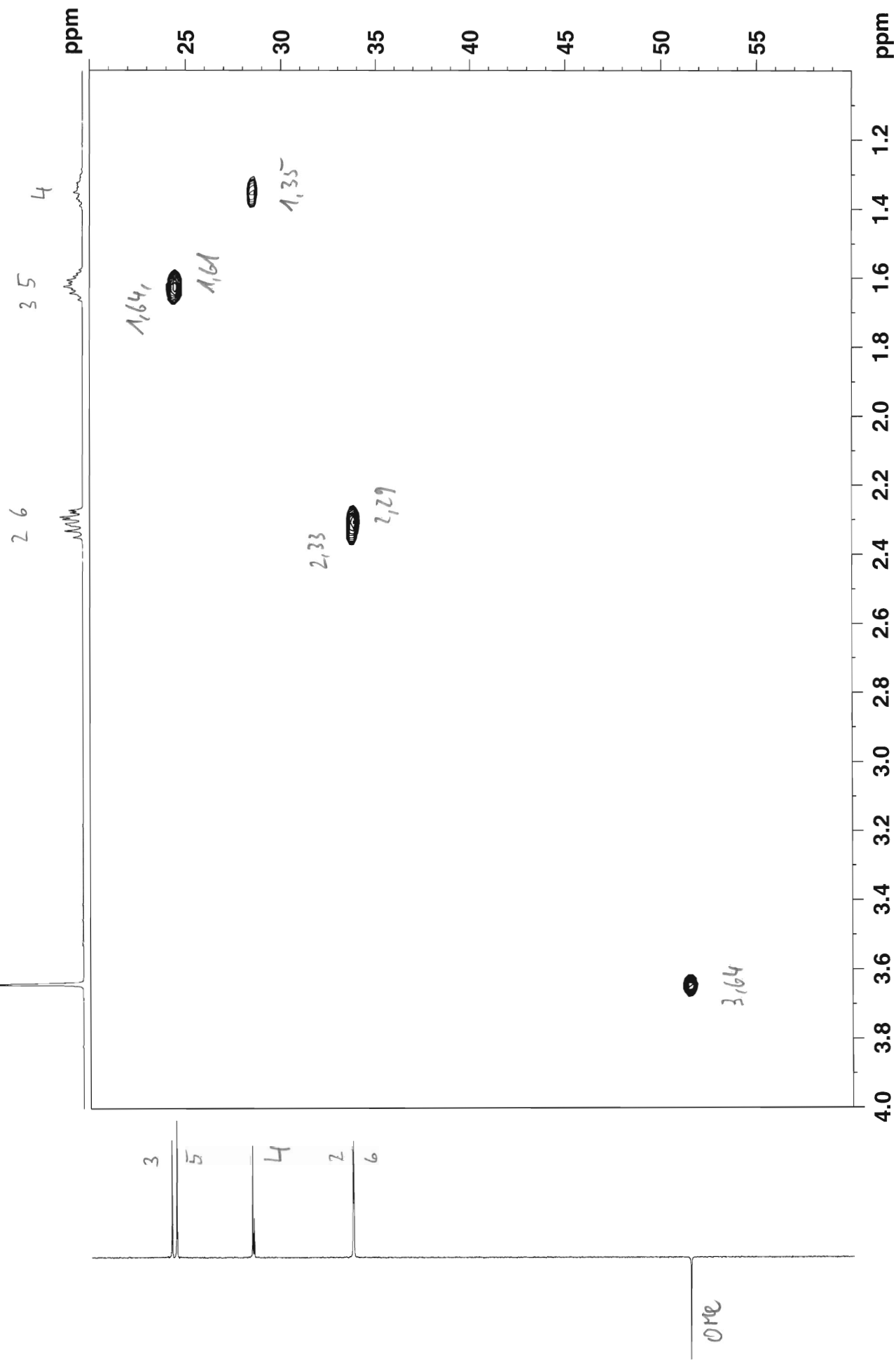
at032 in cdcl3 (COSY), 18.7.2012



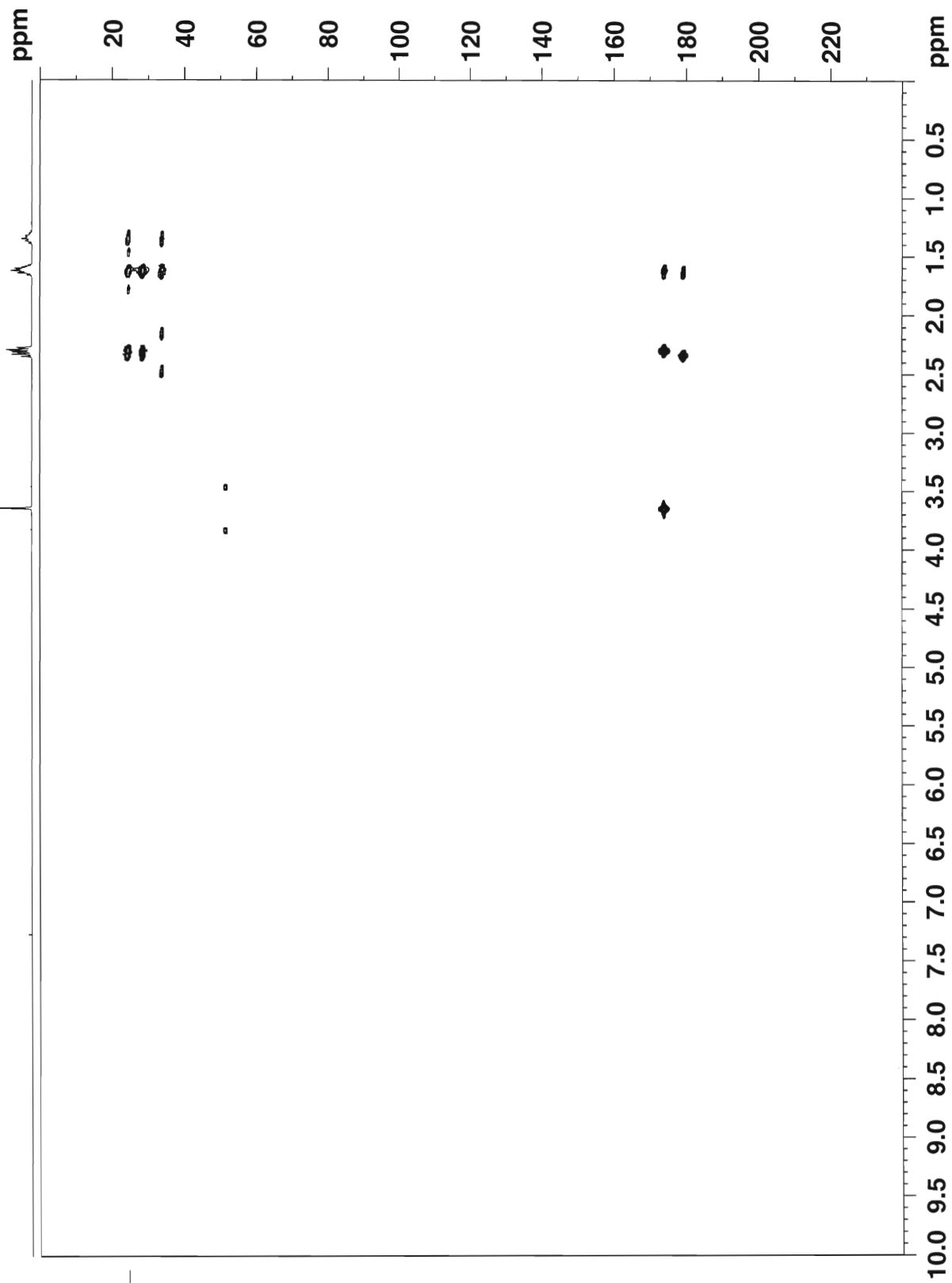
at032 in cdcl3 (HSQC), 18.7.2012



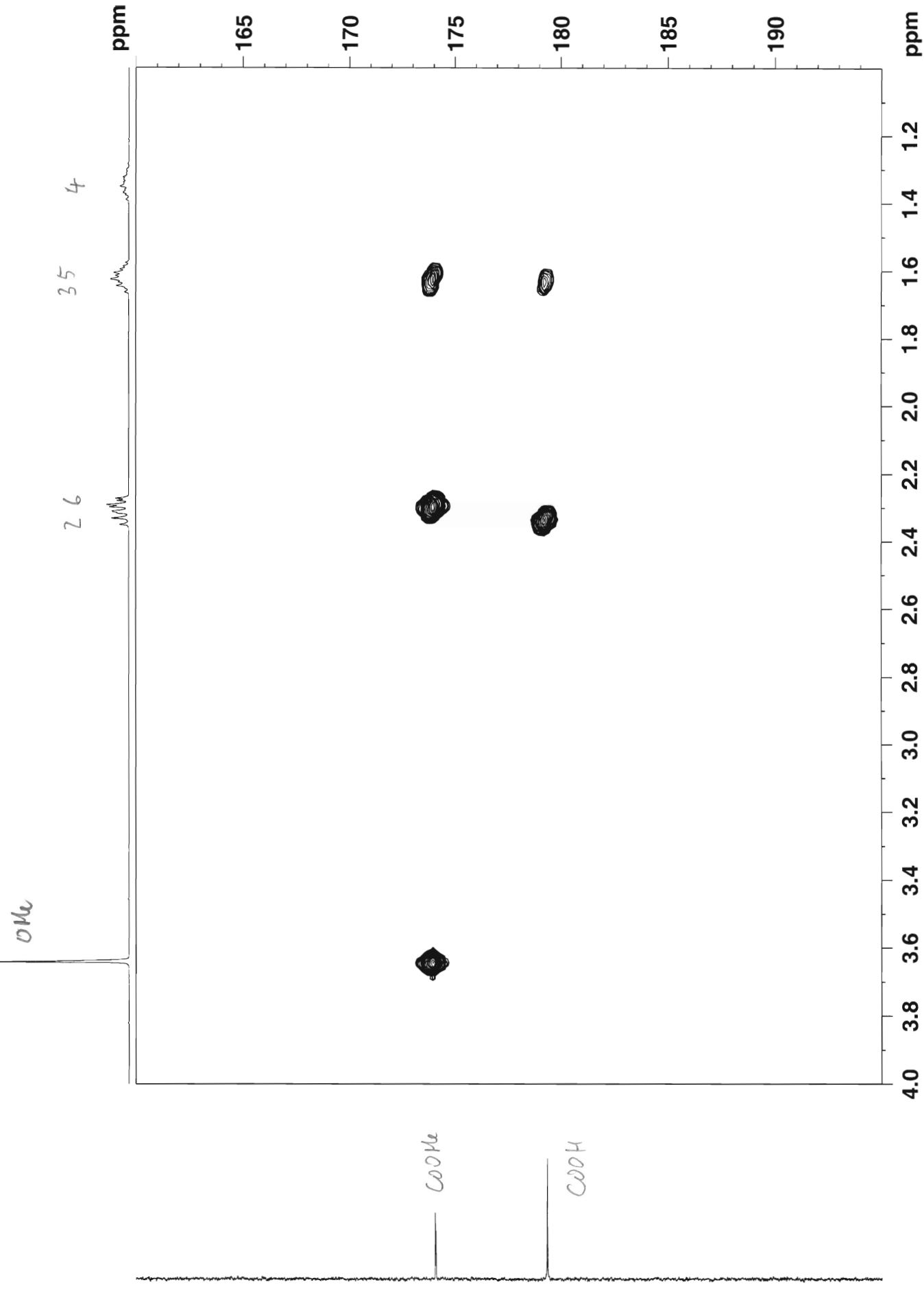
at032 in cdcl3 (HSQC), 18.7.2012



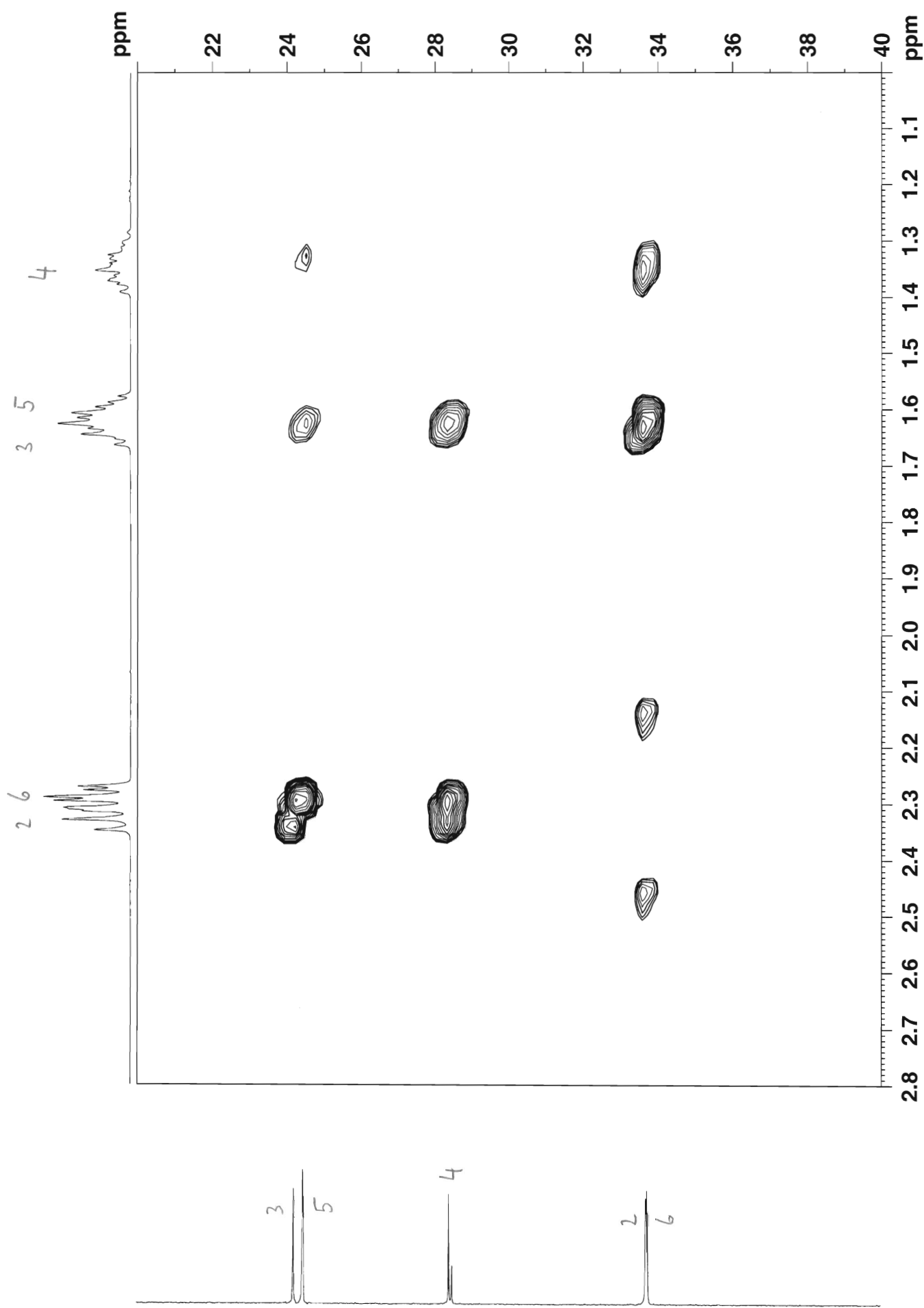
at032 in cdcl3 (HMBC), 18.7.2012

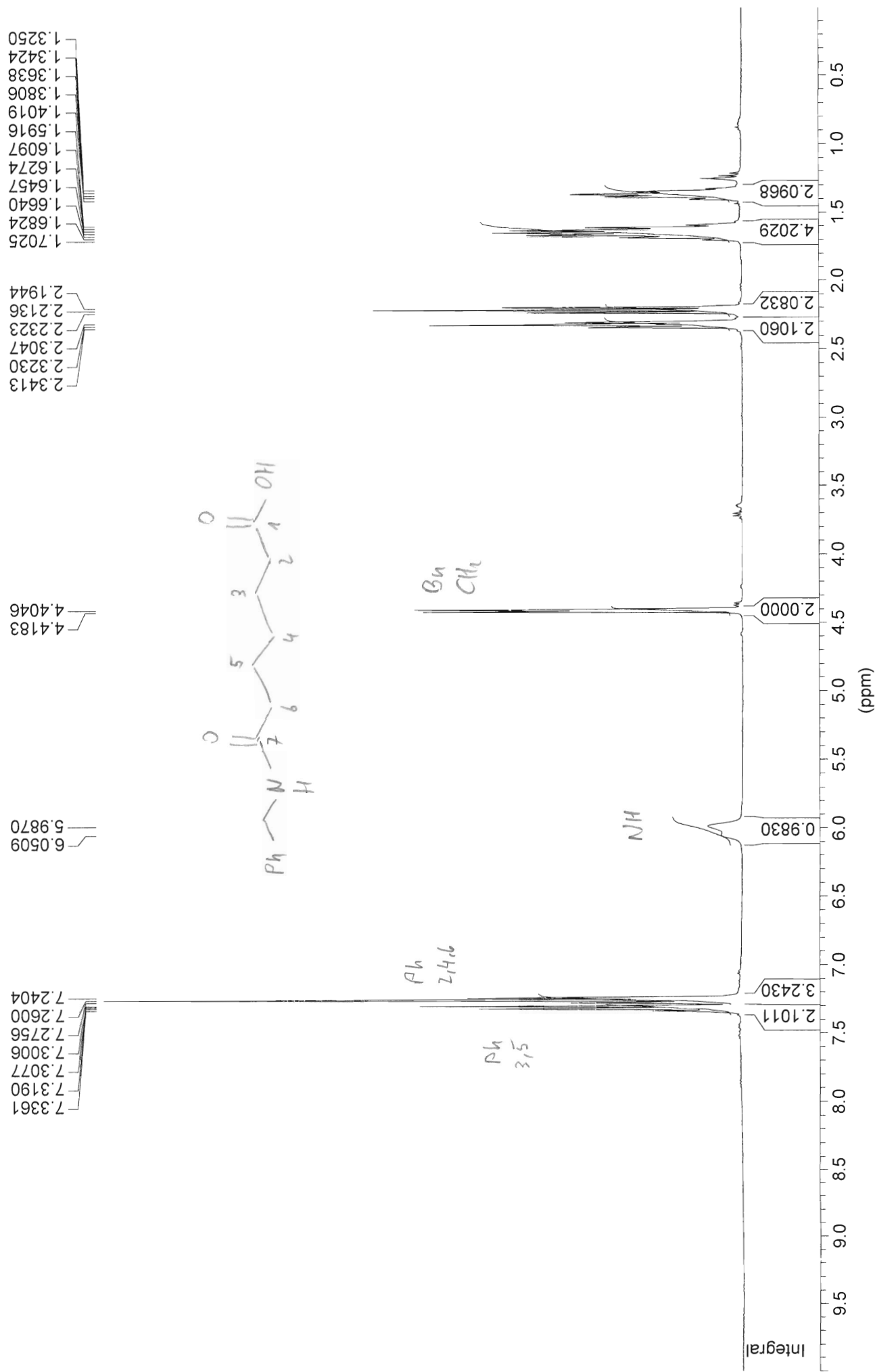


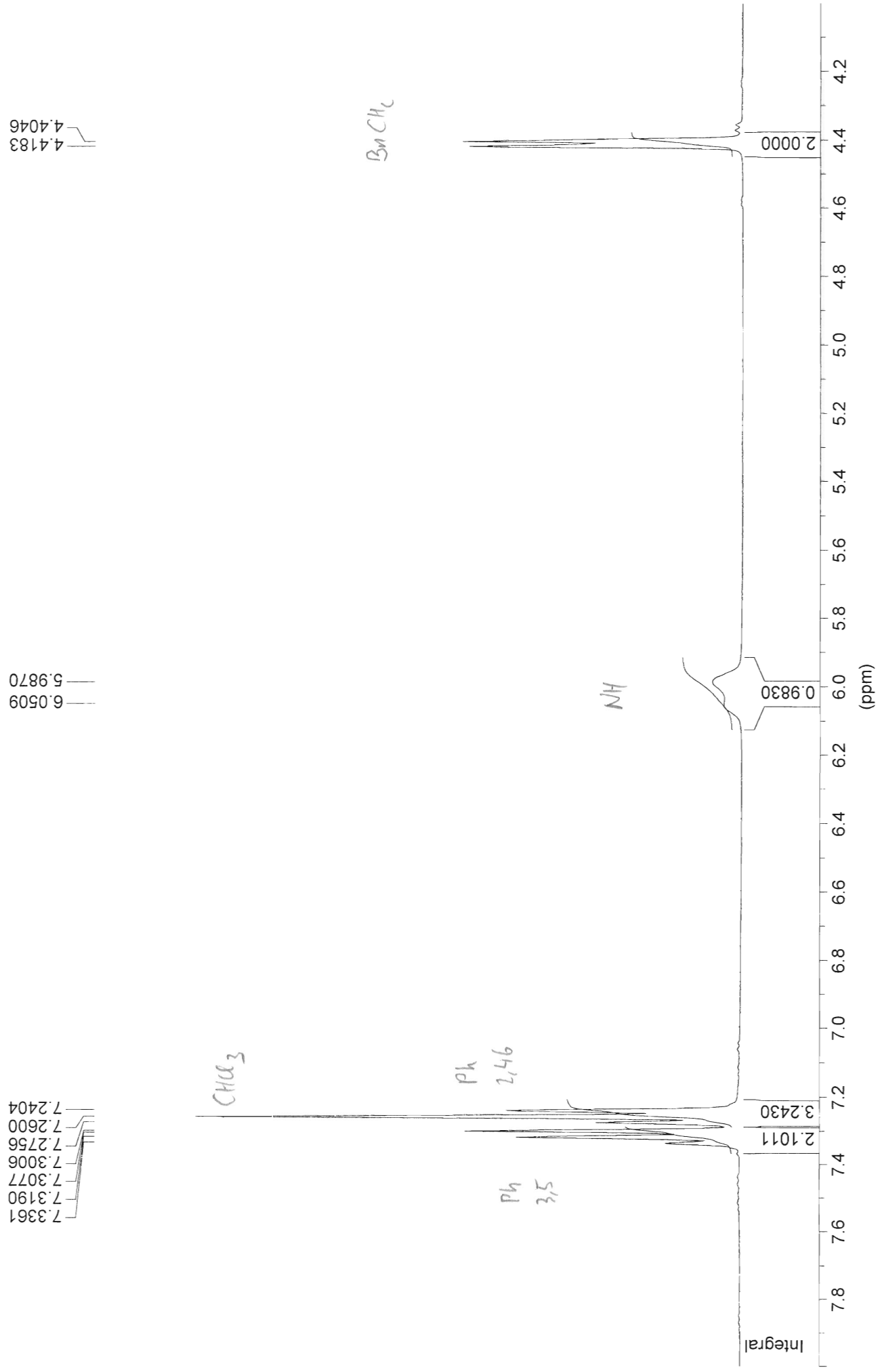
at032 in cdcl3 (HMBC), 18.7.2012

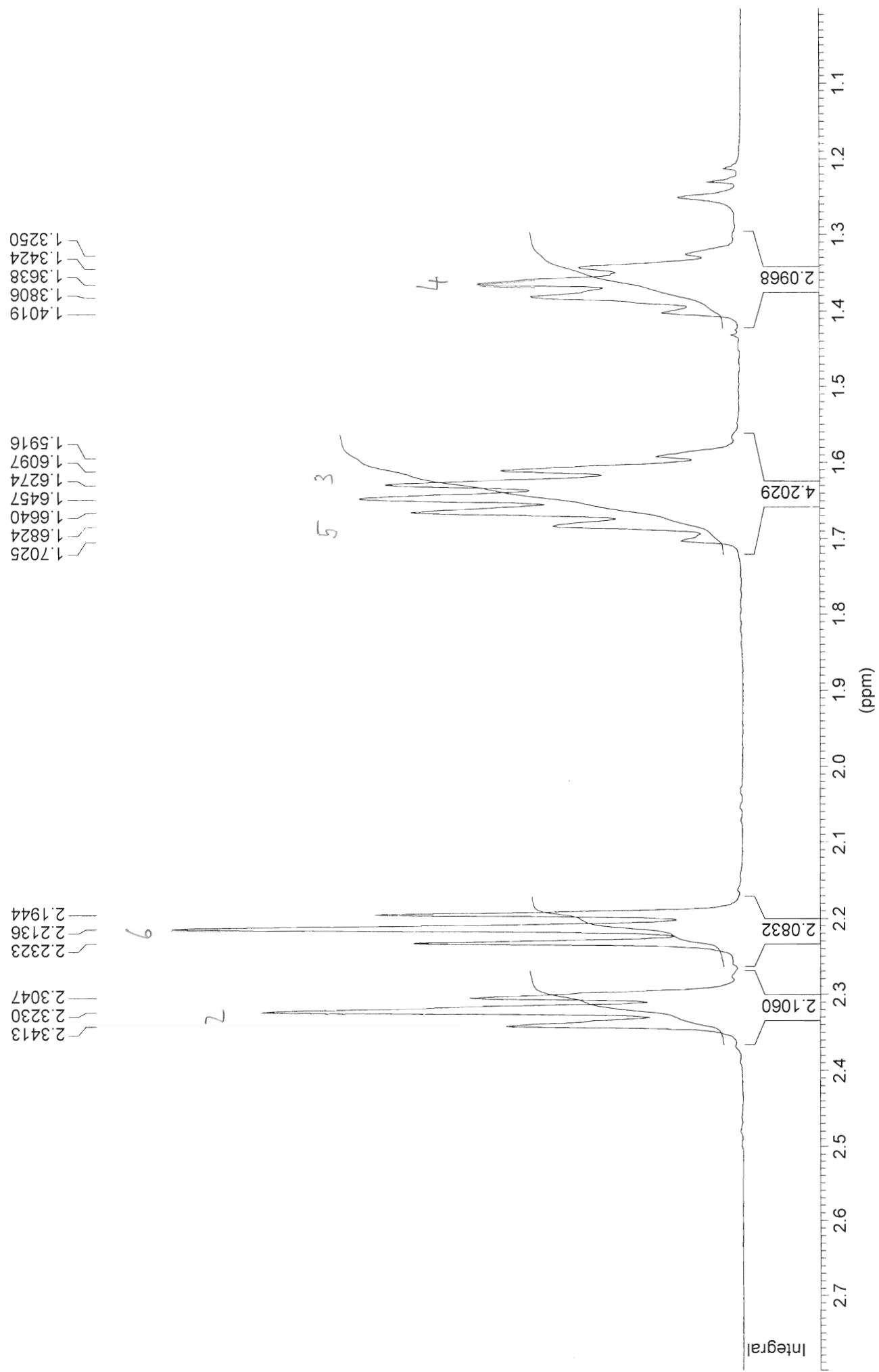


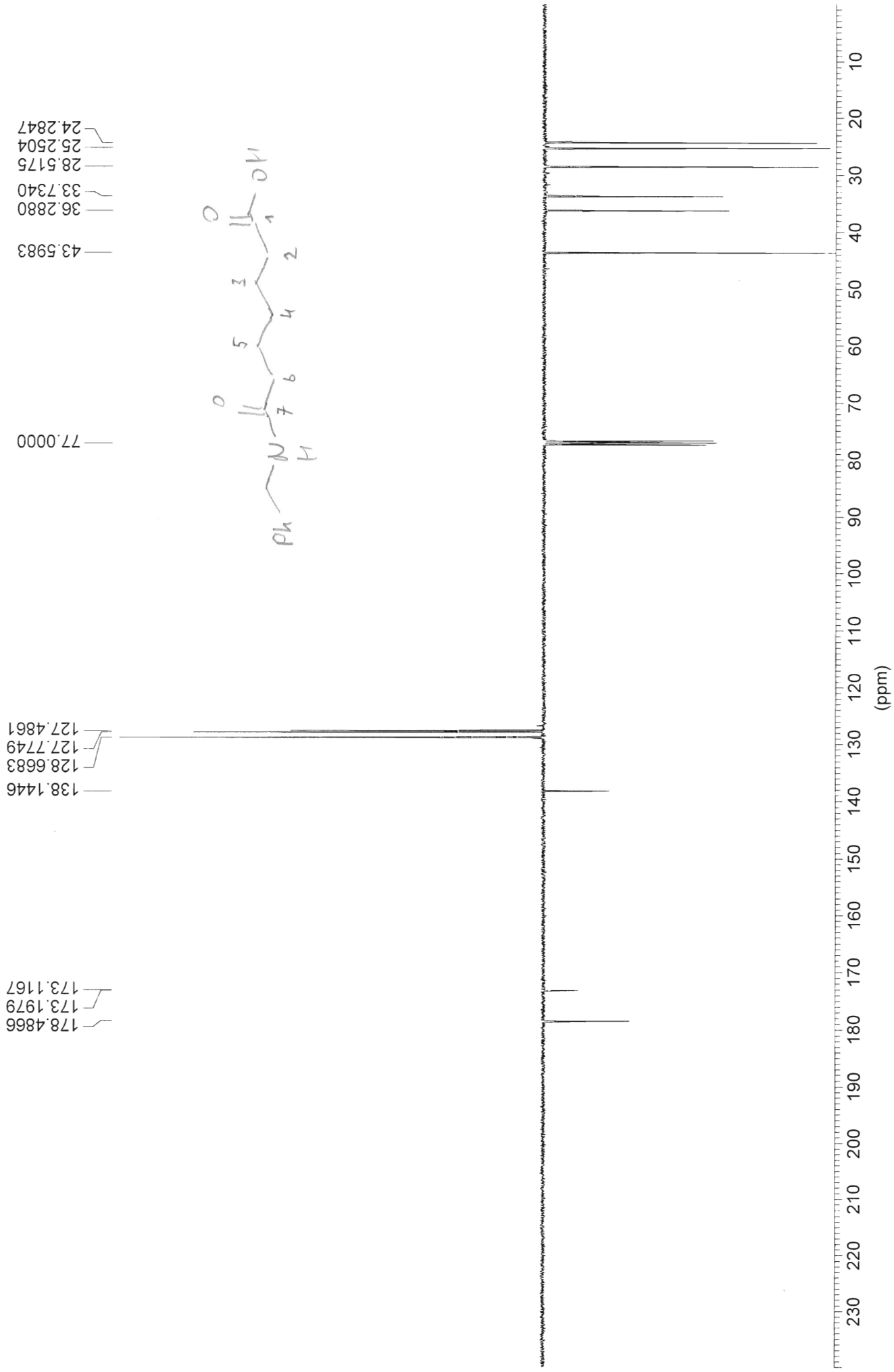
at032 in cdcl3 (HMBC), 18.7.2012



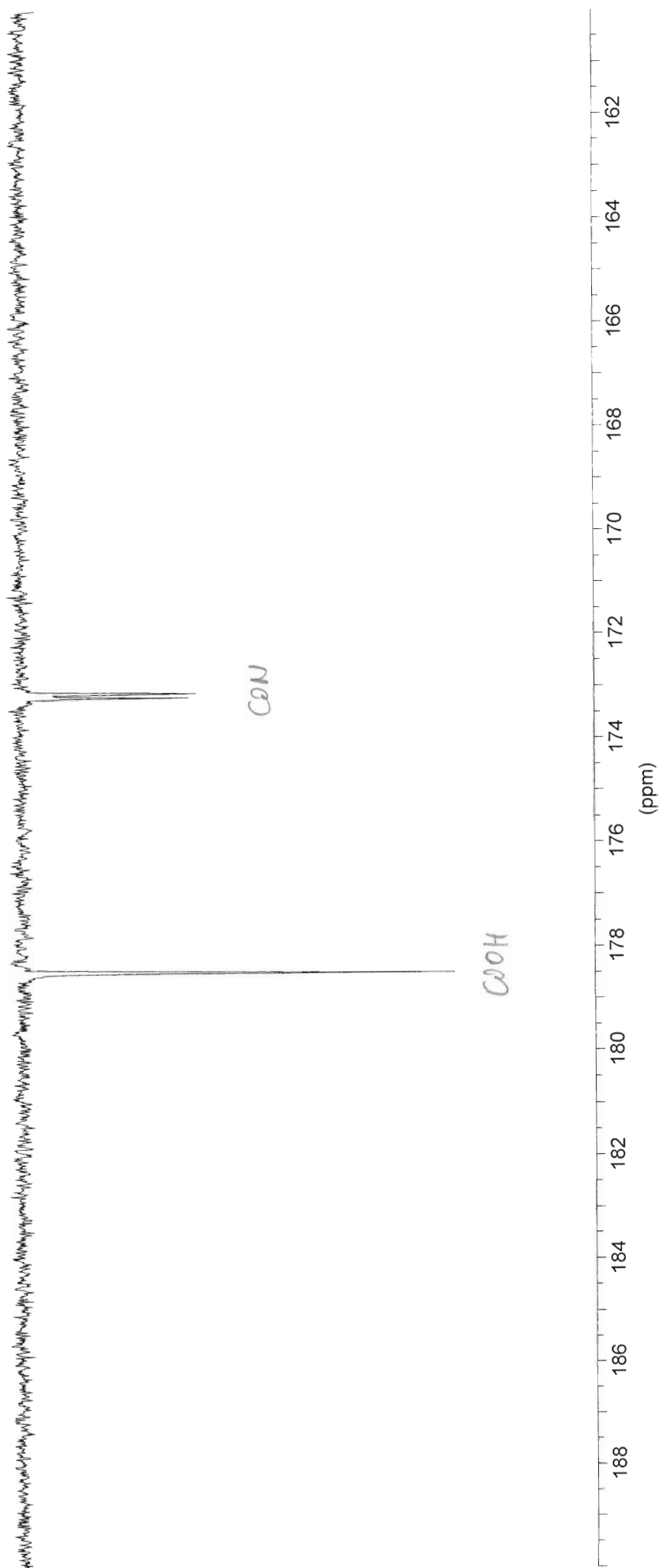


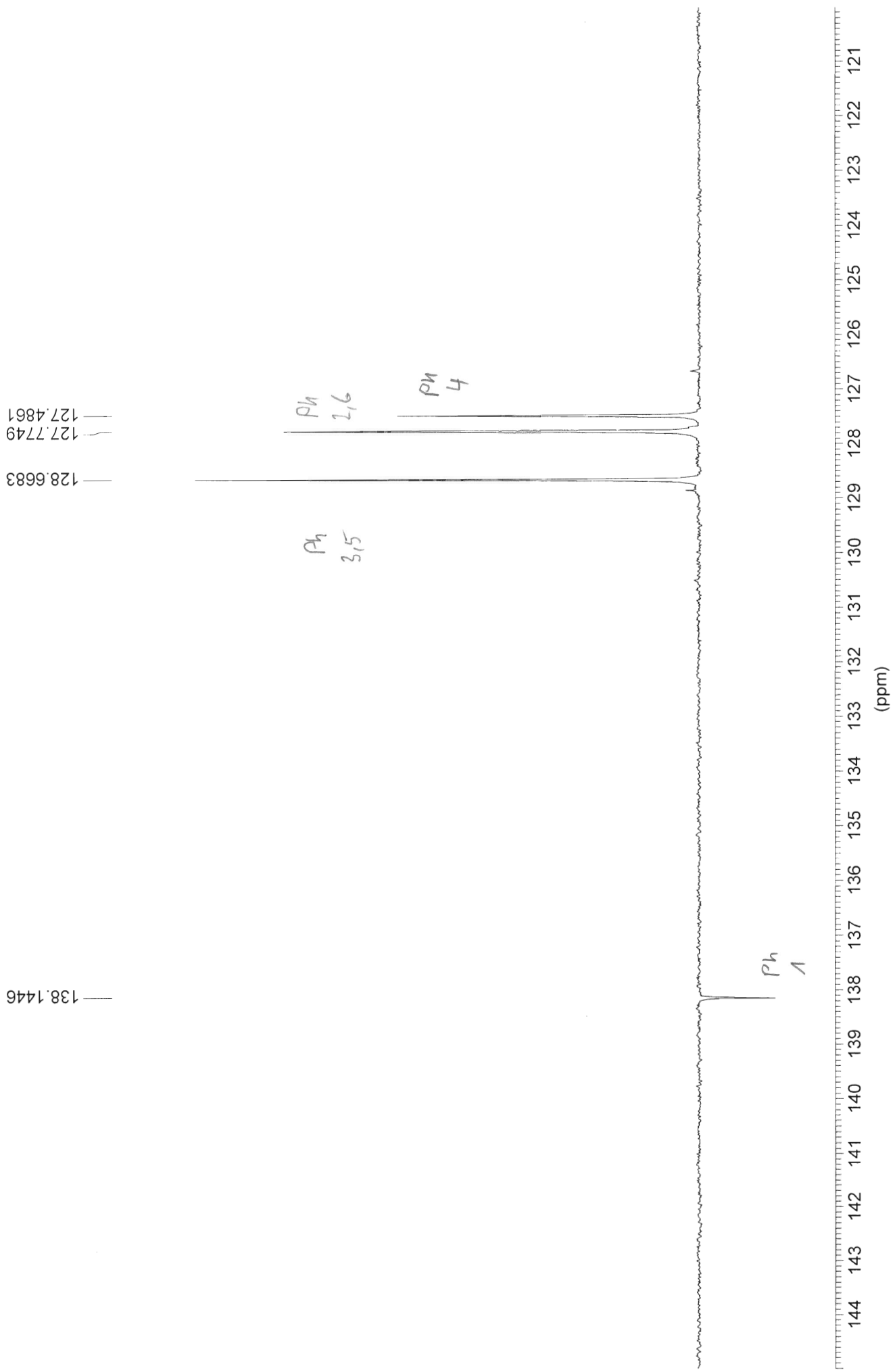


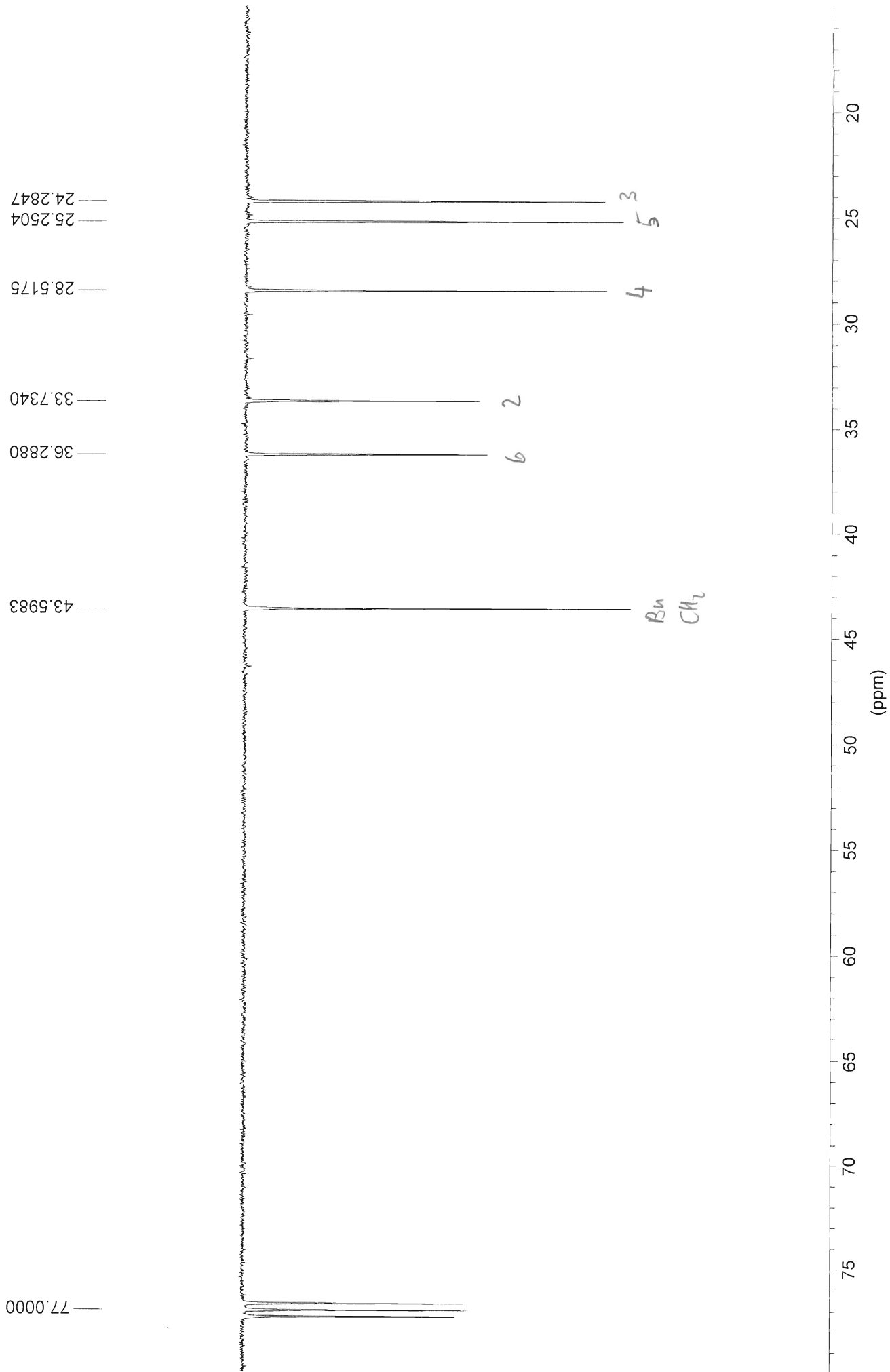




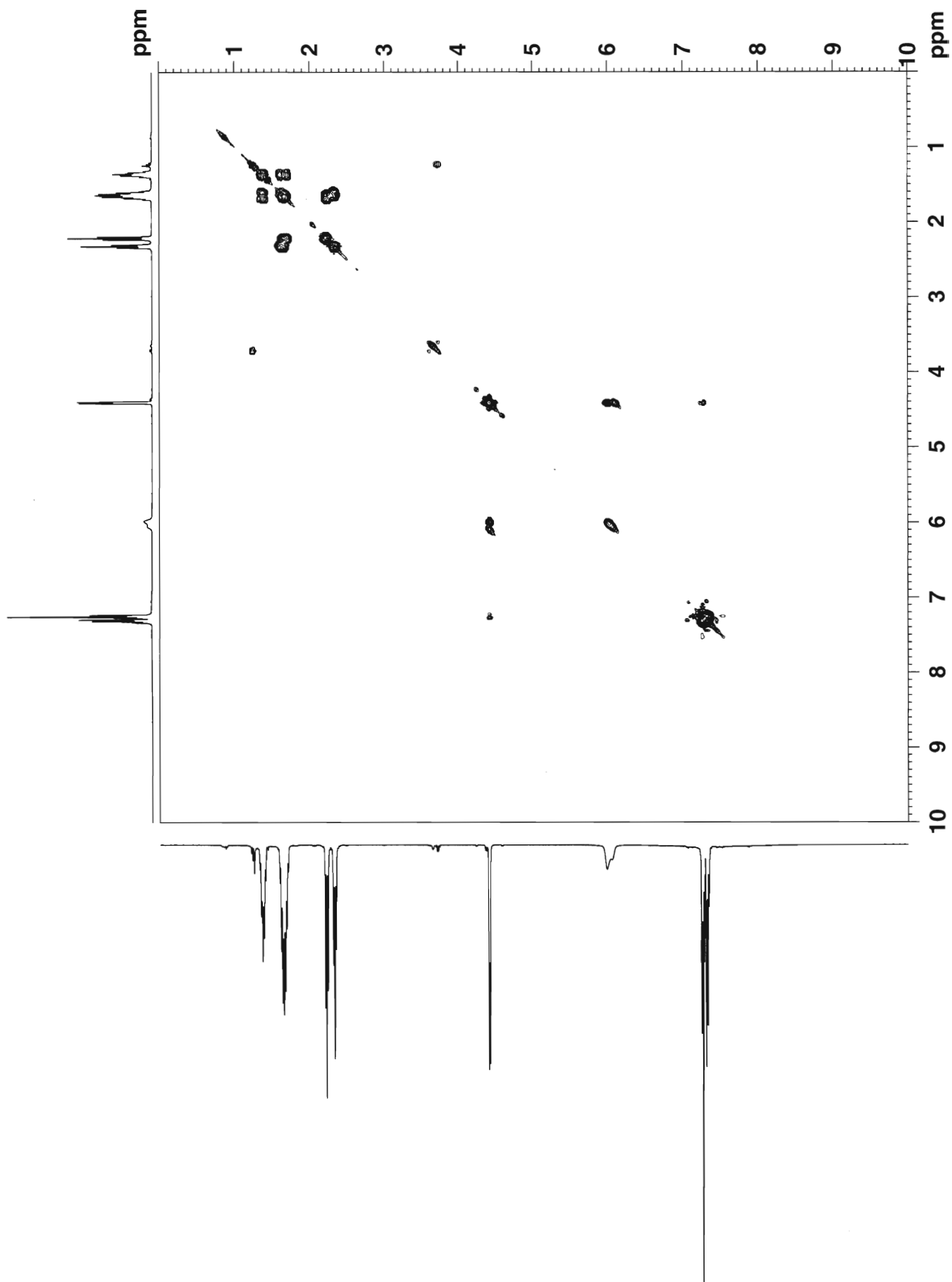
178.4866
173.1979
173.1167



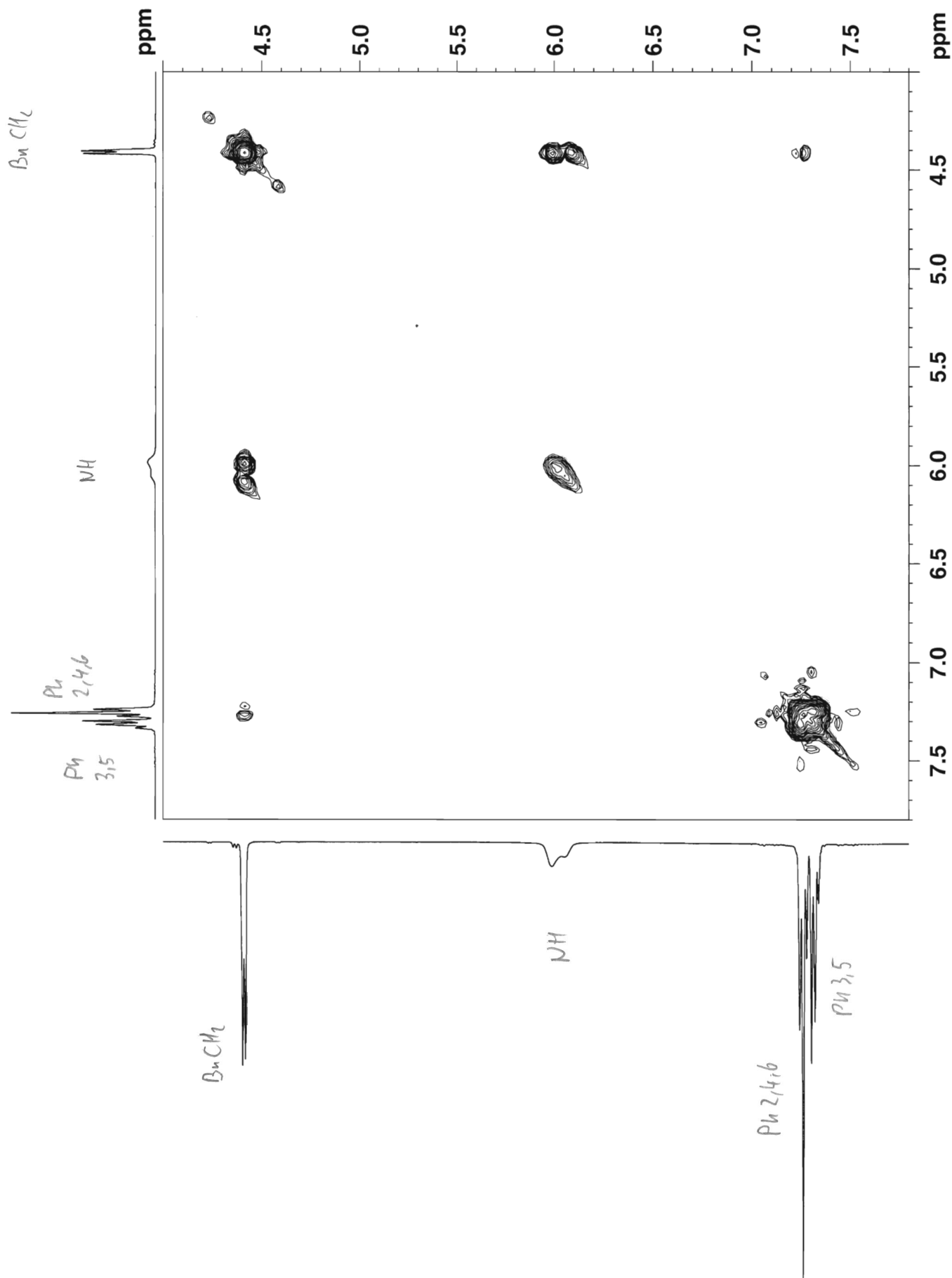




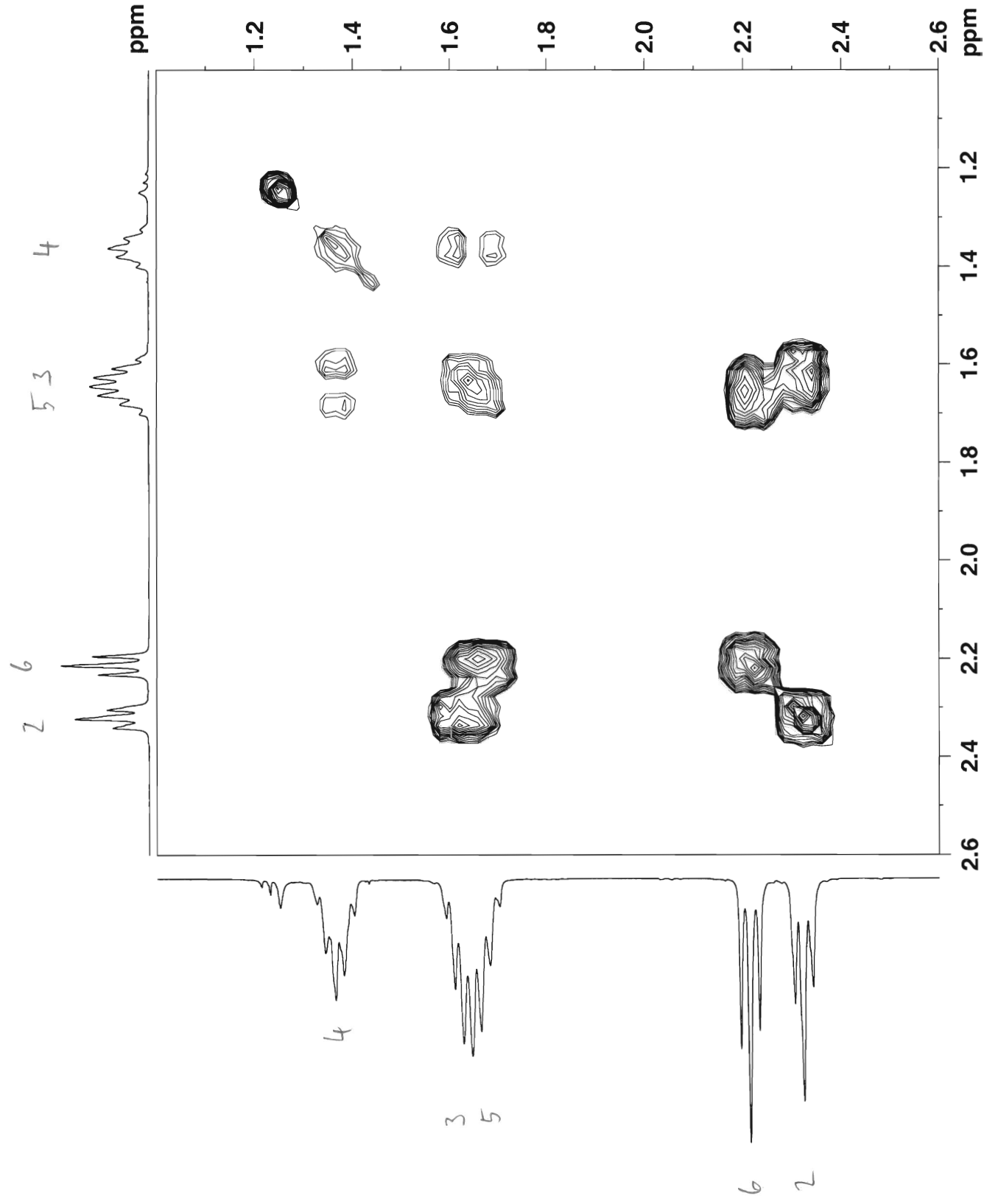
gm028b in cdcl3 (COSY), 6.7.2012



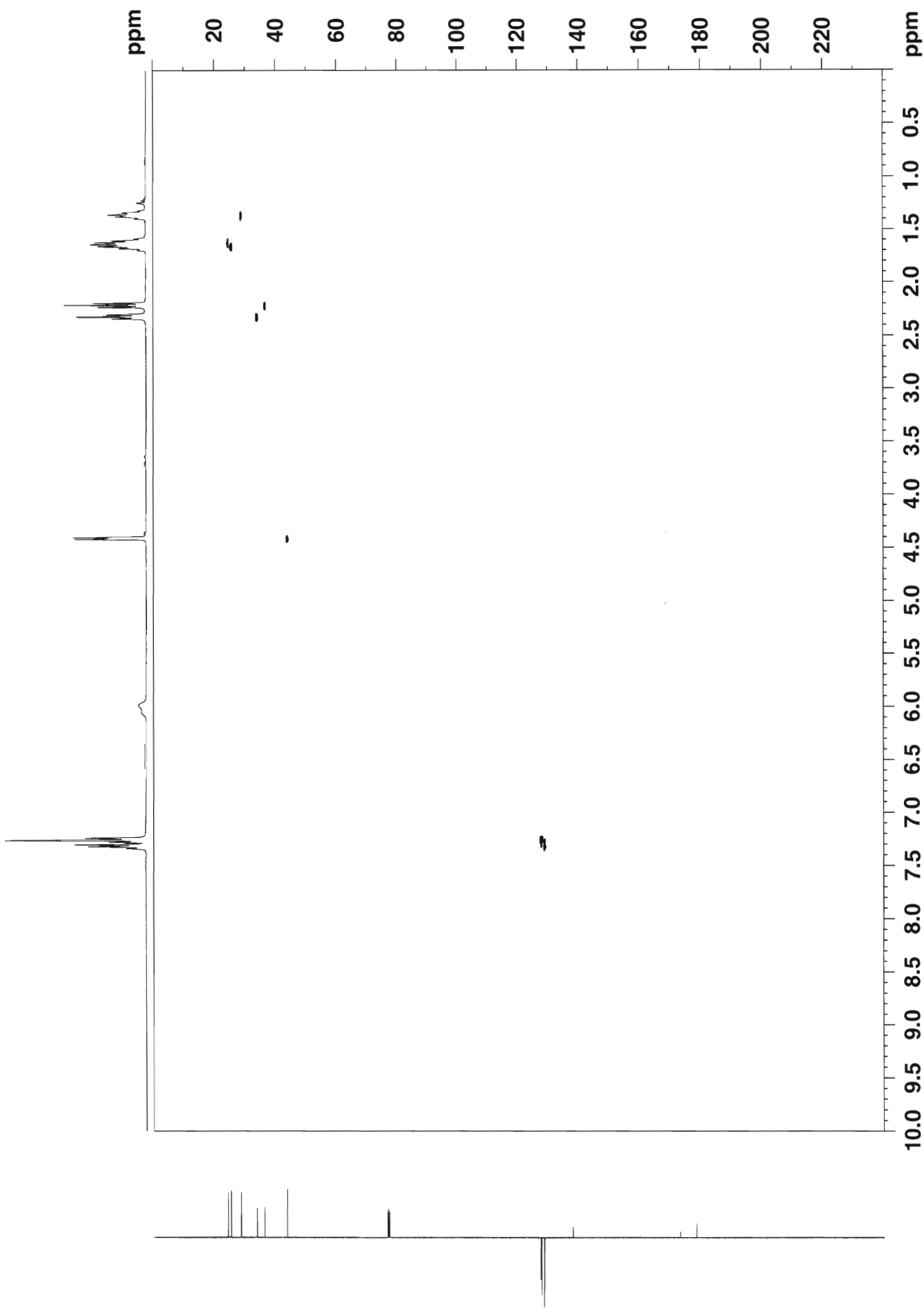
gm028b in cdcl3 (COSY), 6.7.2012



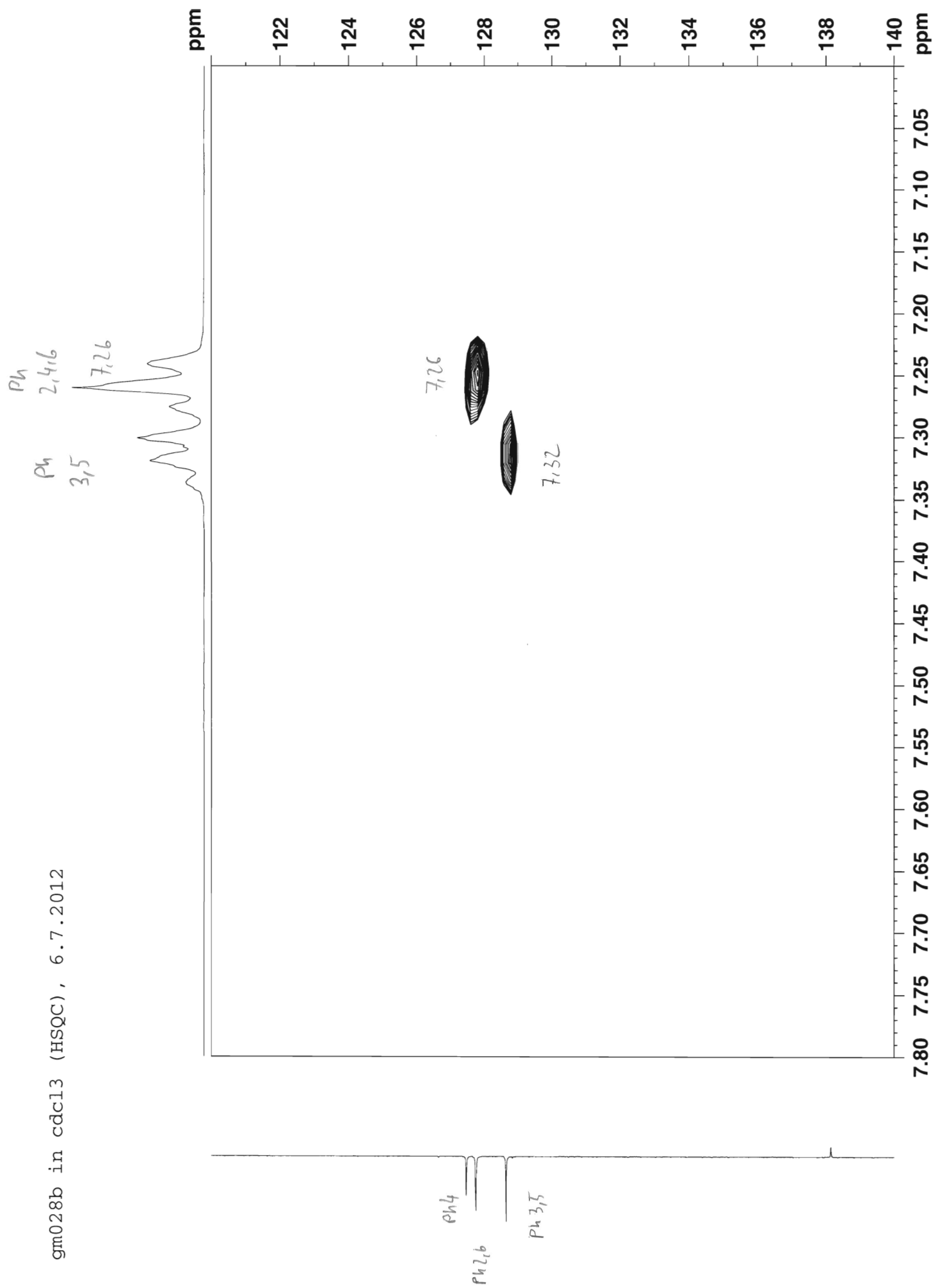
gm028b in cdcl3 (COSY), 6.7.2012



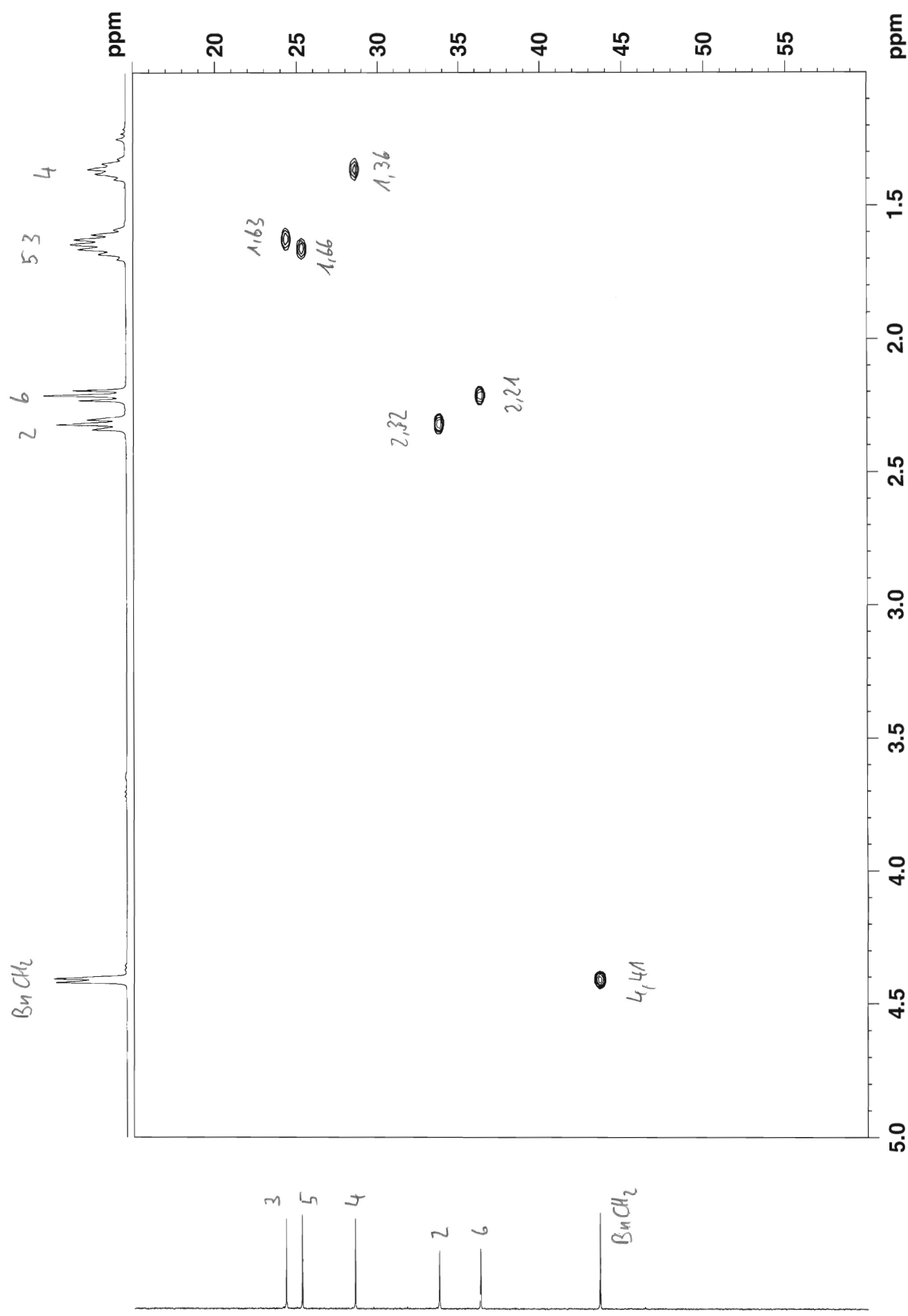
gm028b in cdcl3 (HSQC), 6.7.2012



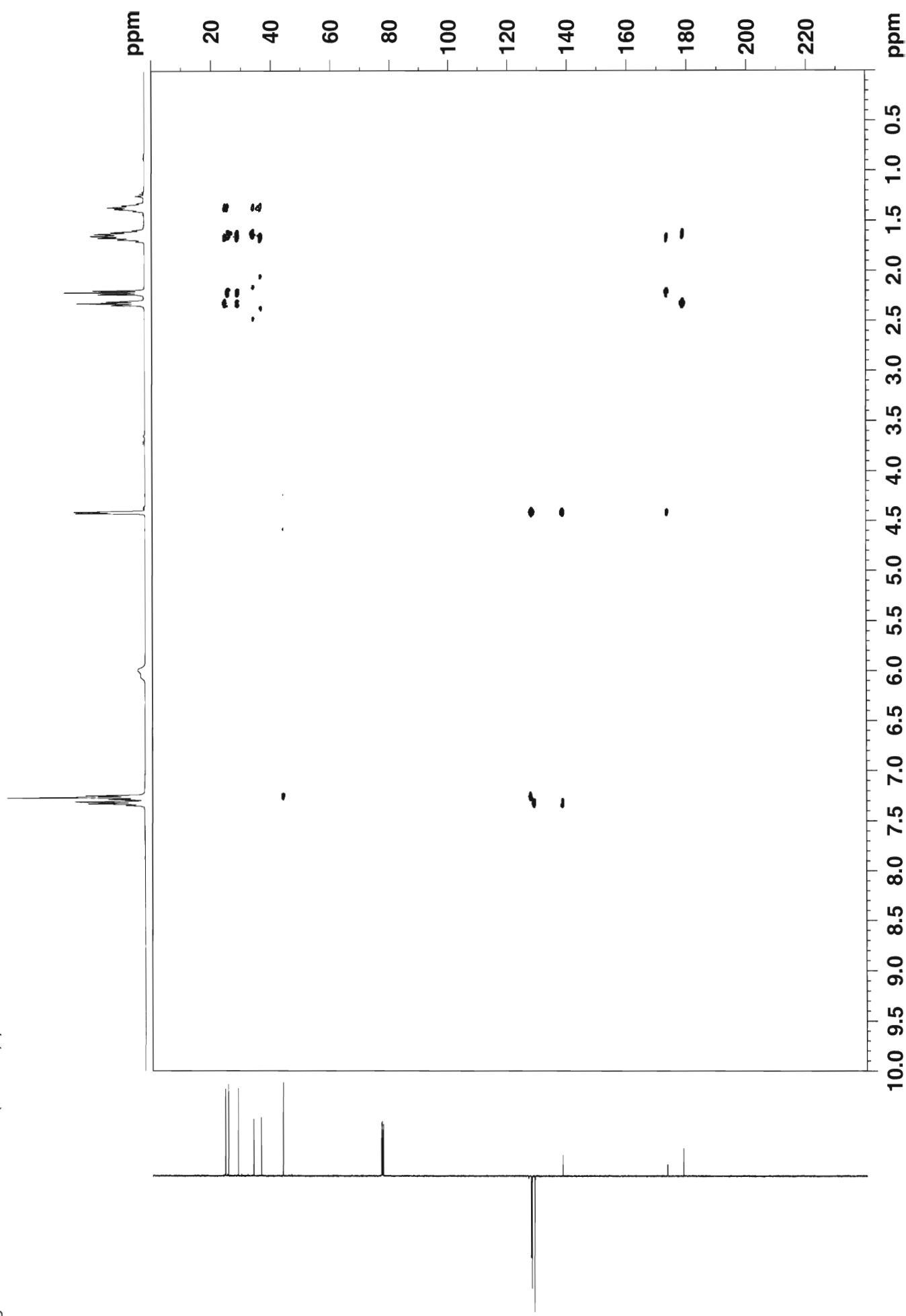
gm028b in cdcl3 (HSQC), 6.7.2012



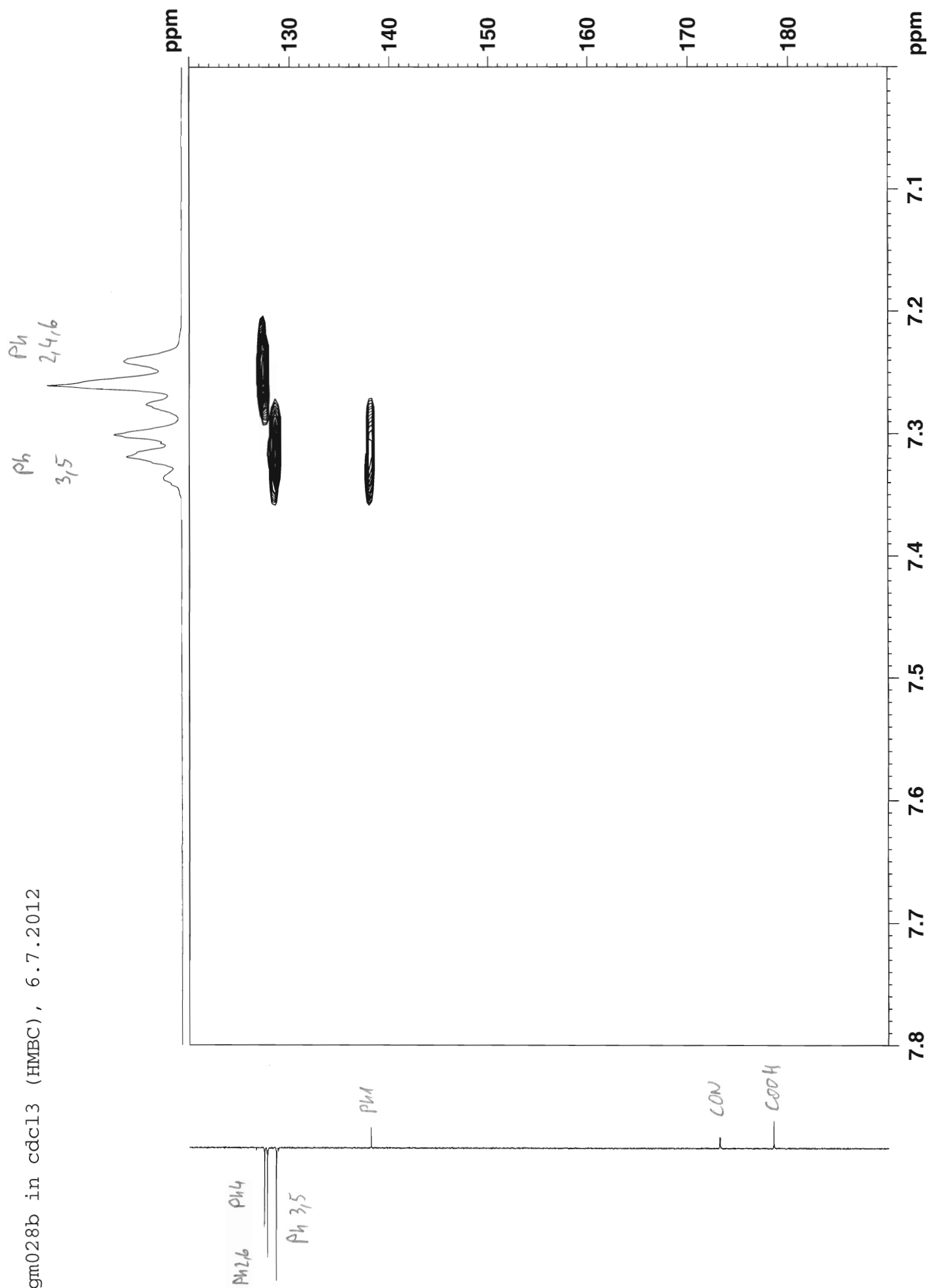
gm028b in cdcl3 (HSQC), 6.7.2012



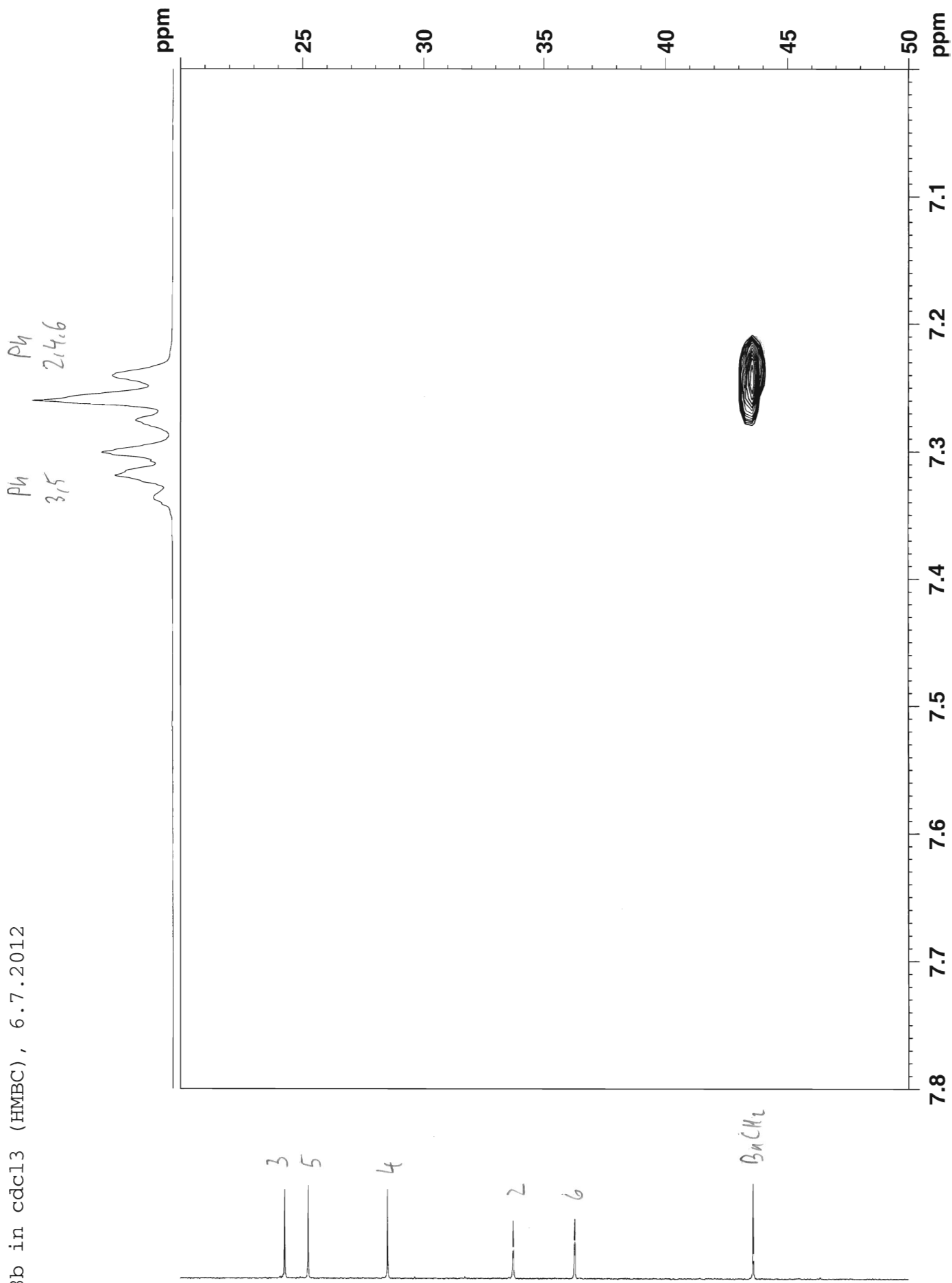
gm028b in cdcl3 (HMBC), 6.7.2012



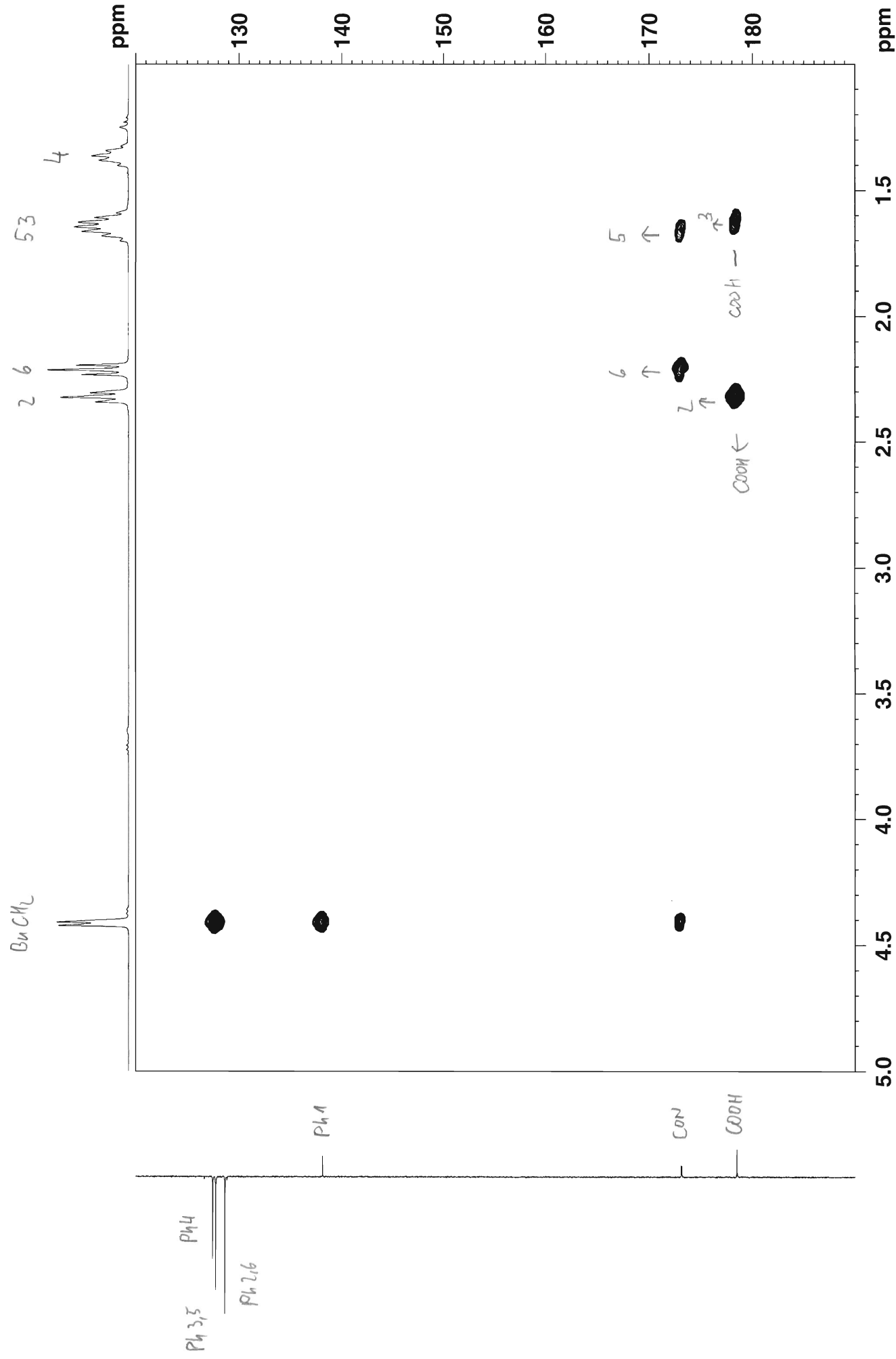
gm028b in cdcl3 (HMBC), 6.7.2012



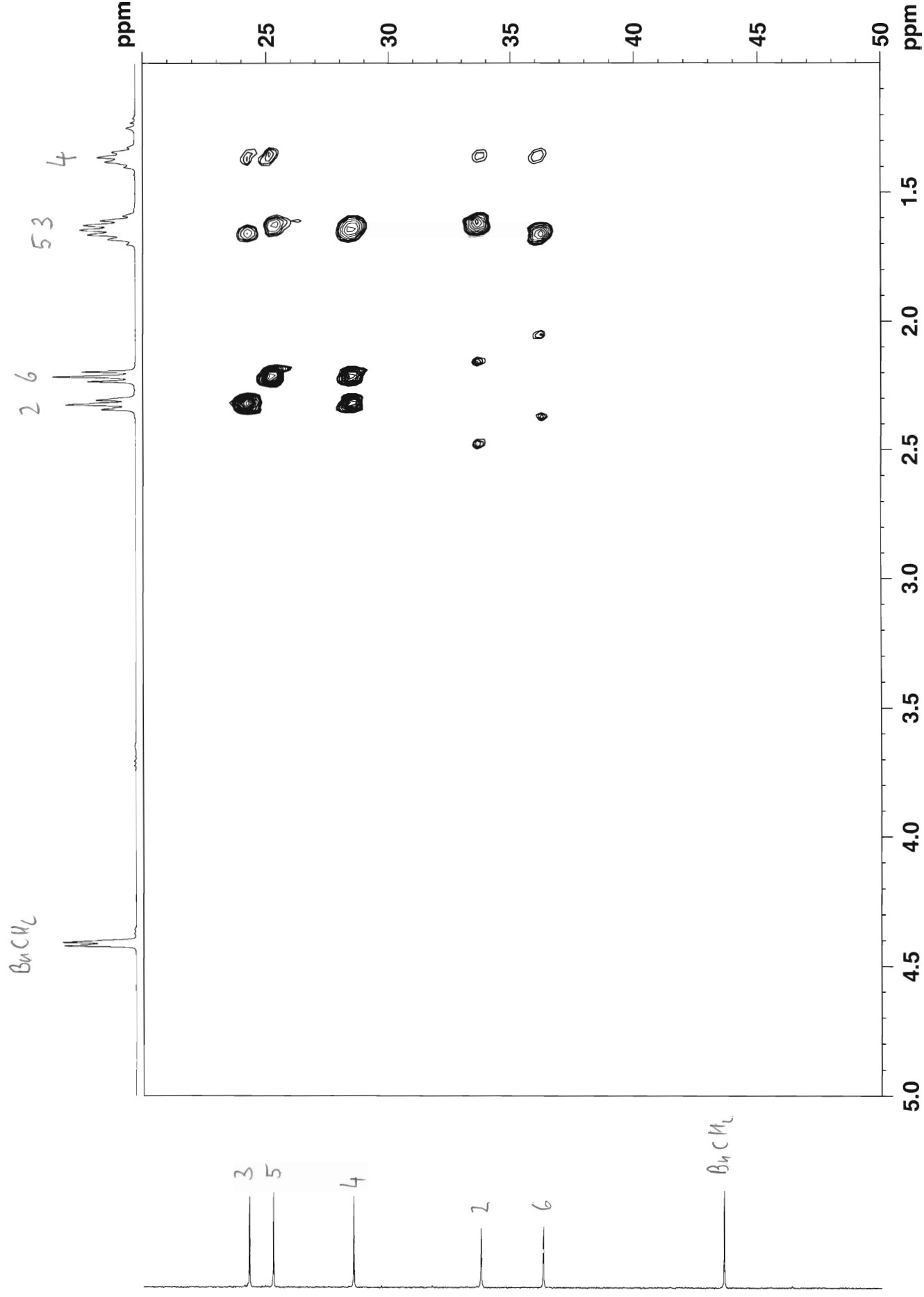
gm028b in cdcl3 (HMBC), 6.7.2012

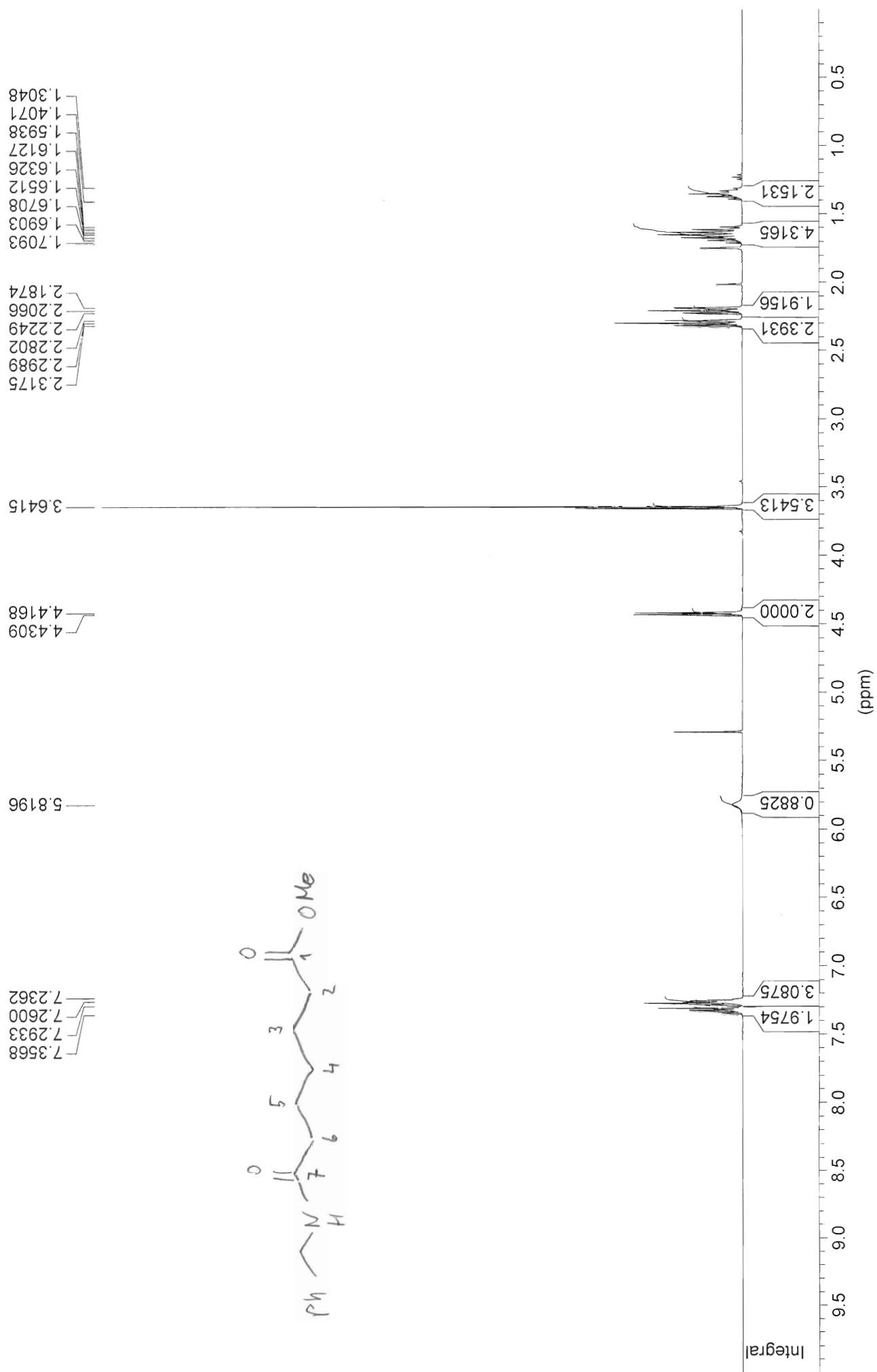


gm028b in cdcl3 (HMBC), 6.7.2012



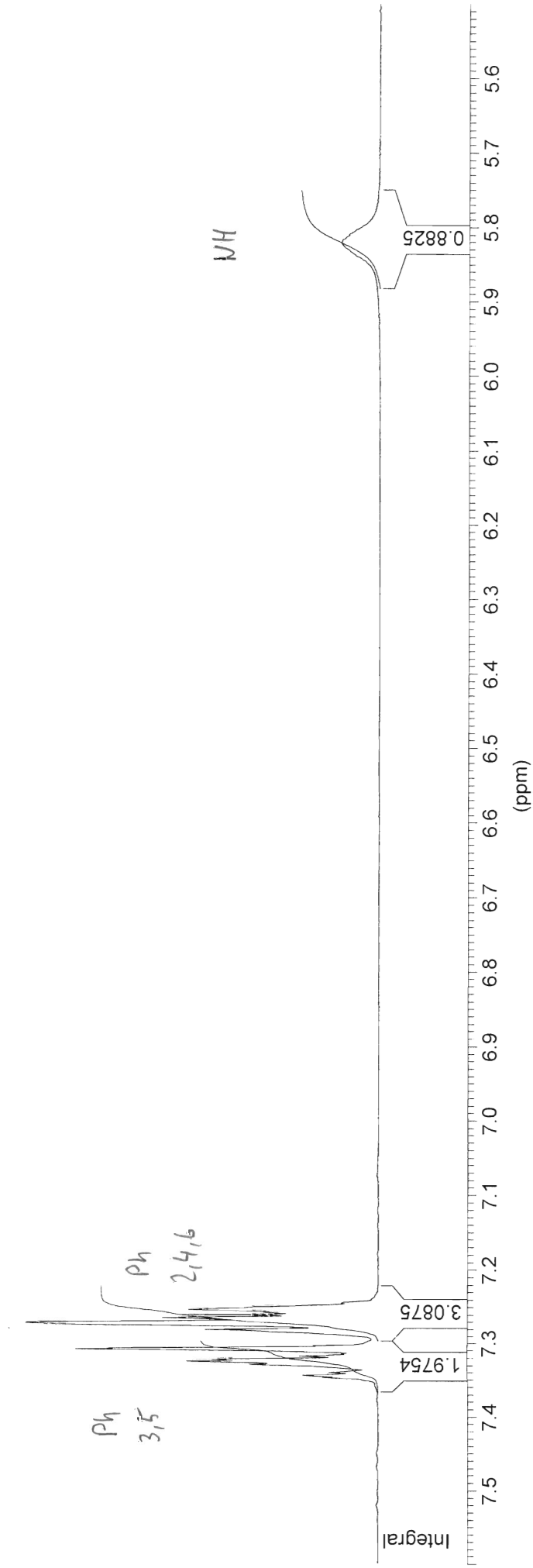
gm028b in cdcl3 (HMBC), 6.7.2012

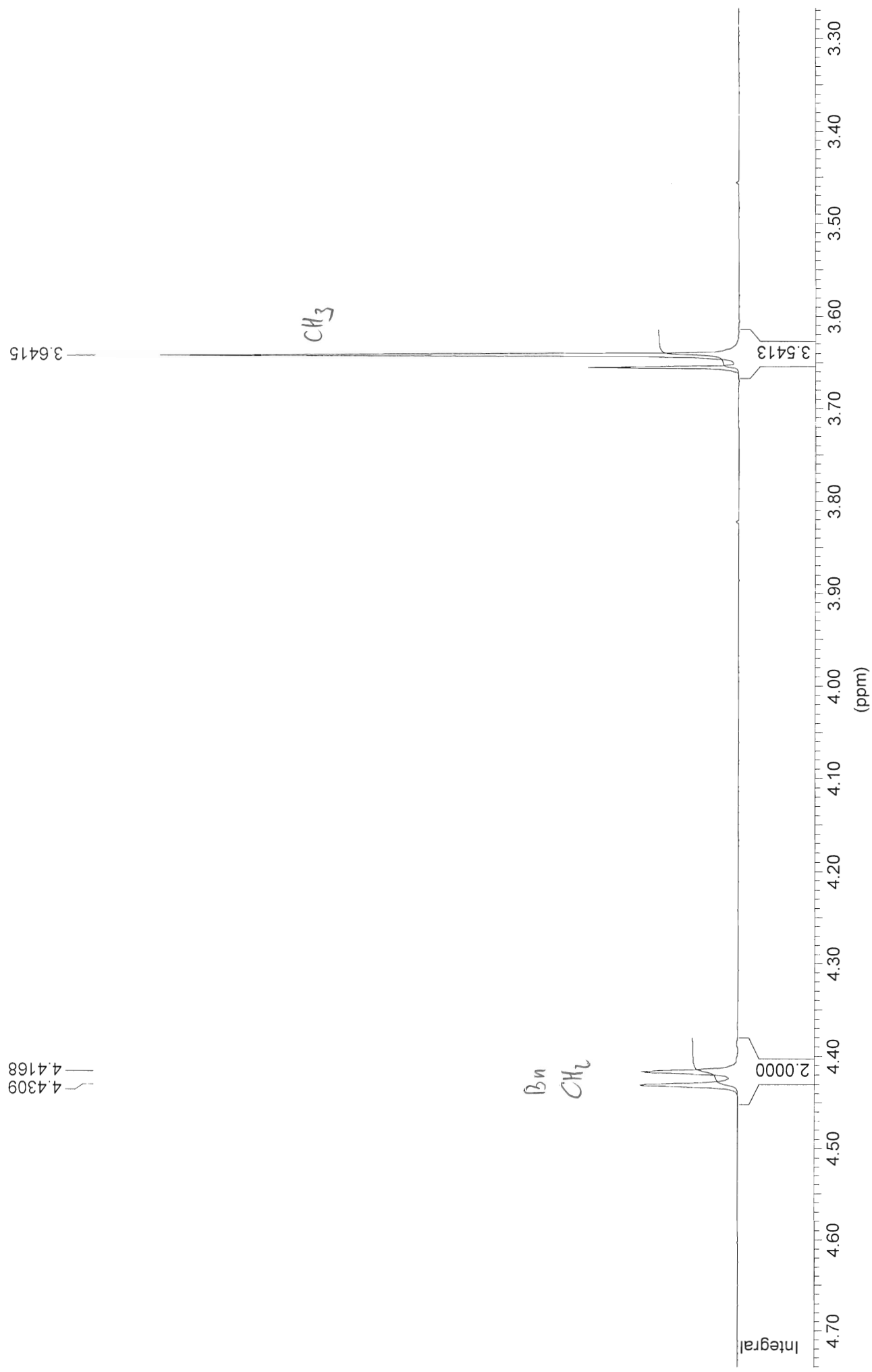


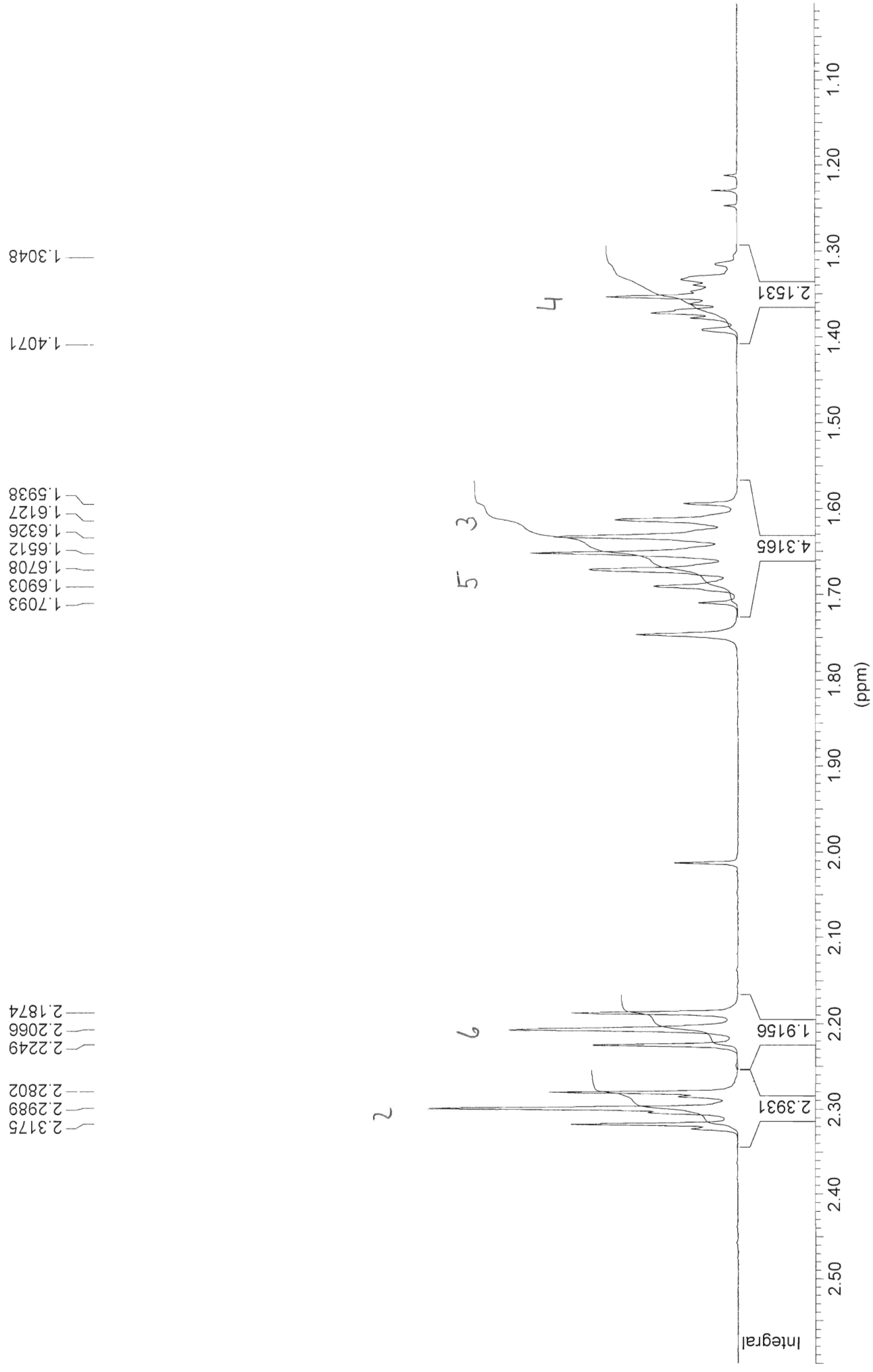


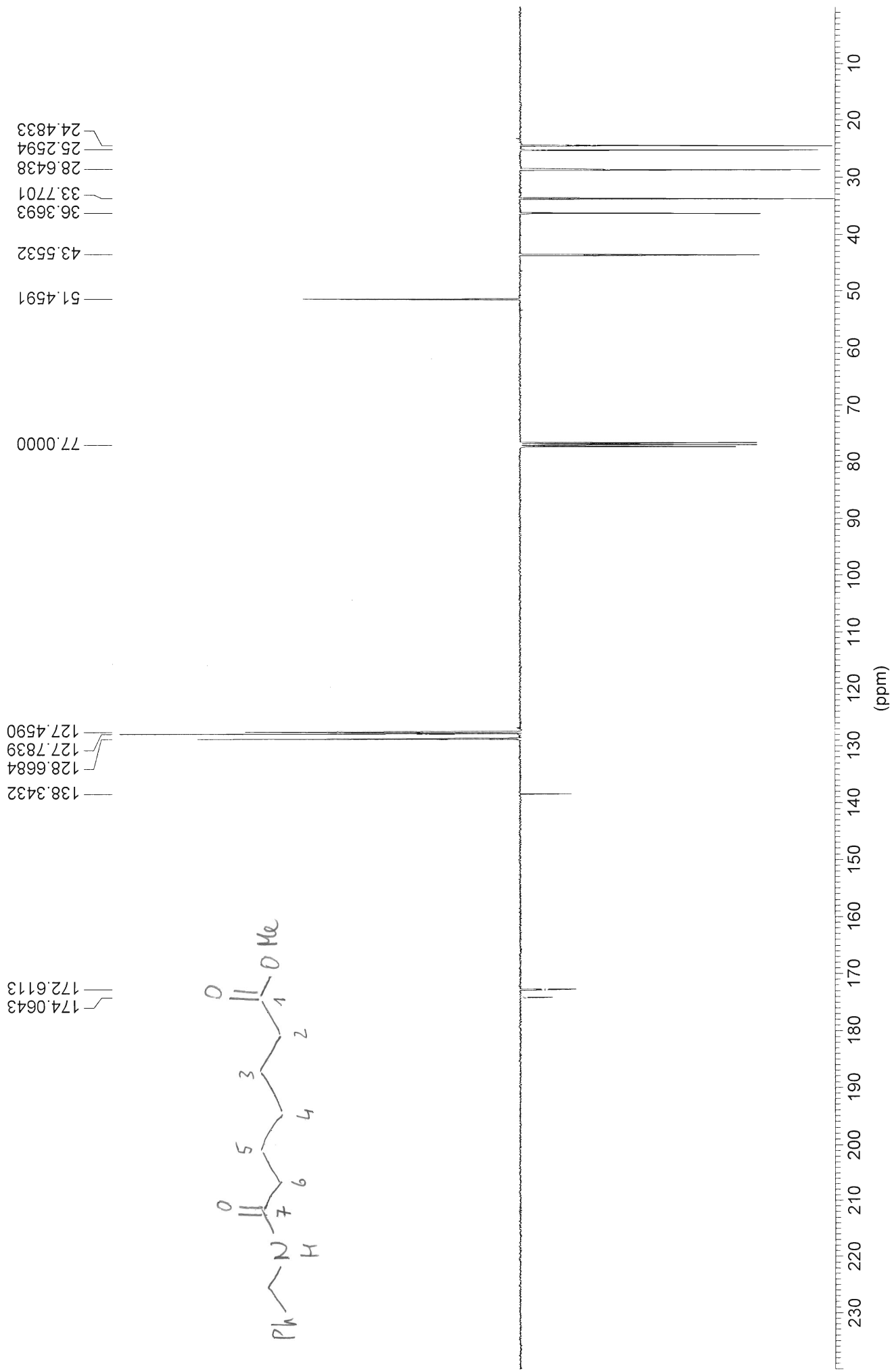
7.3568
7.2933
7.2600
7.2362

5.8196





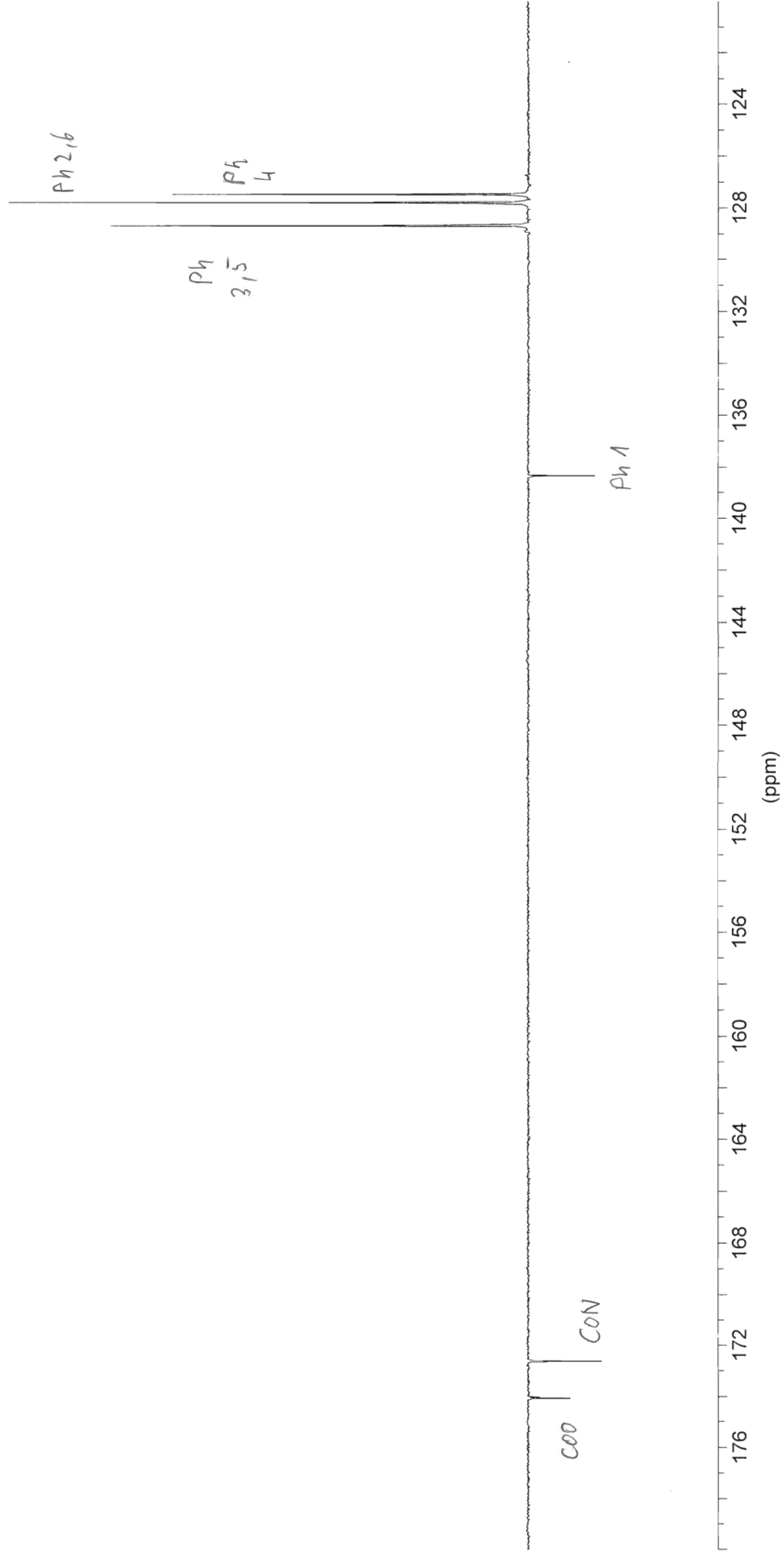


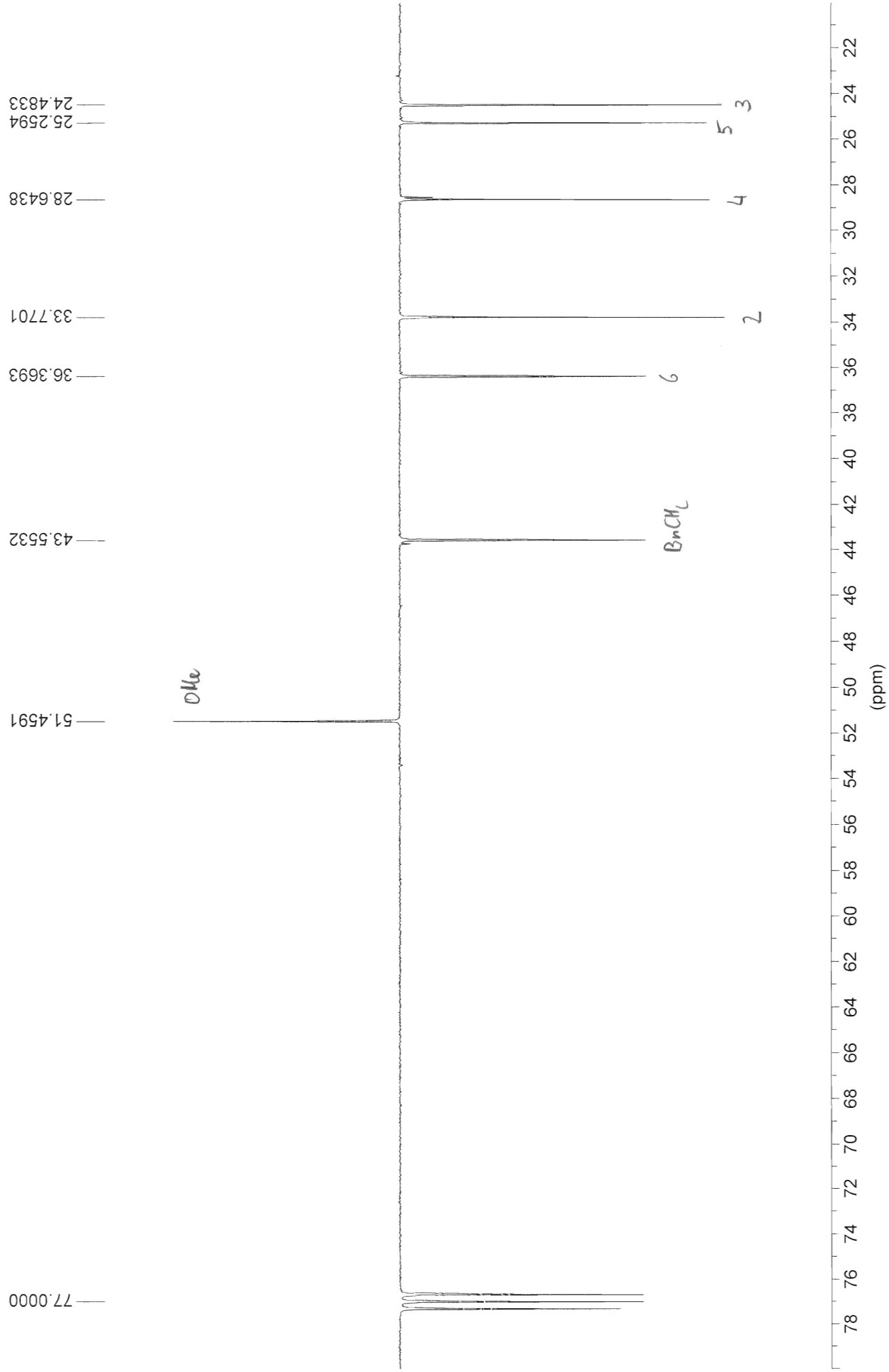


174.0643
172.6113

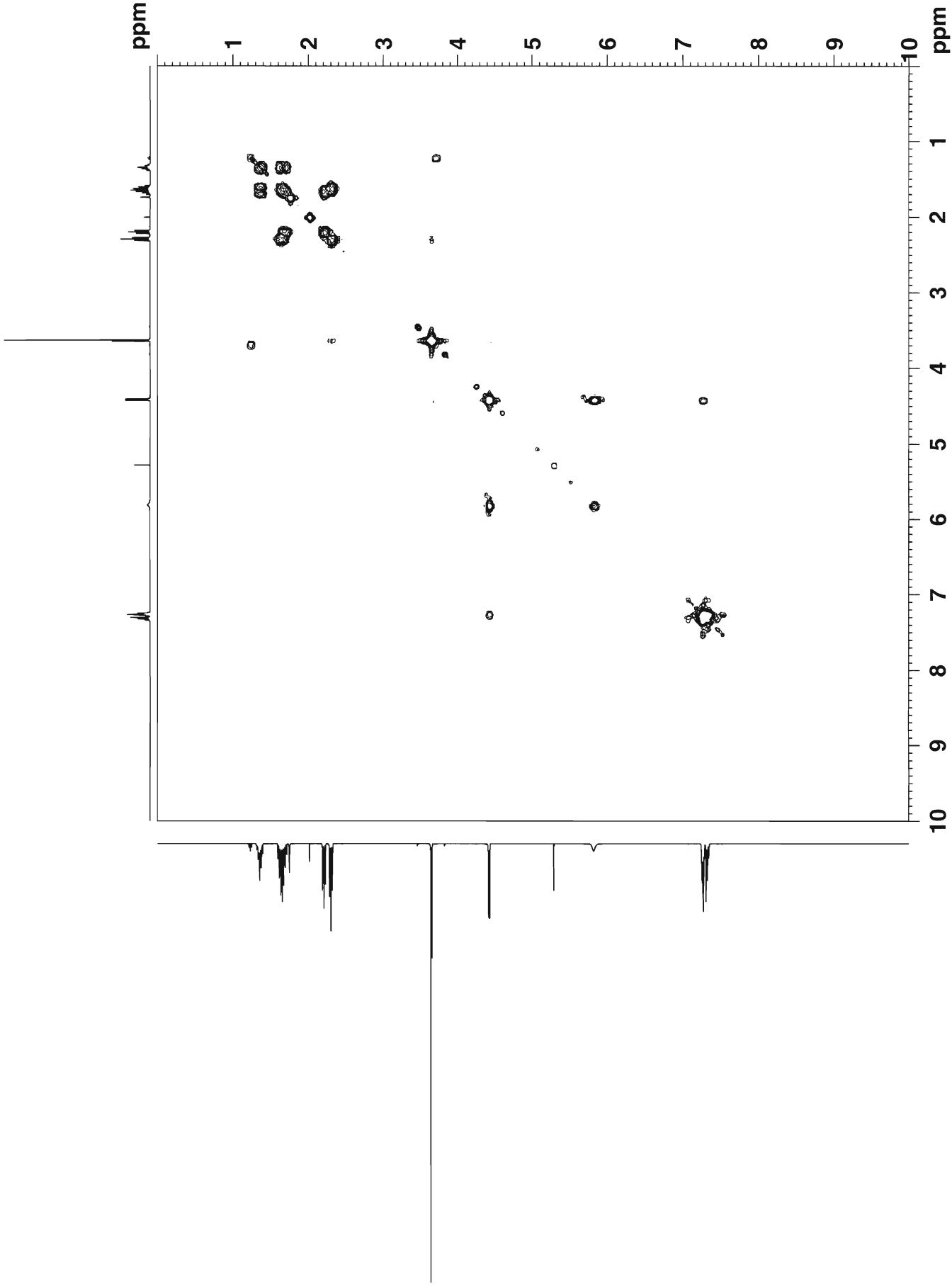
138.3432

128.6684
127.7839
127.4590

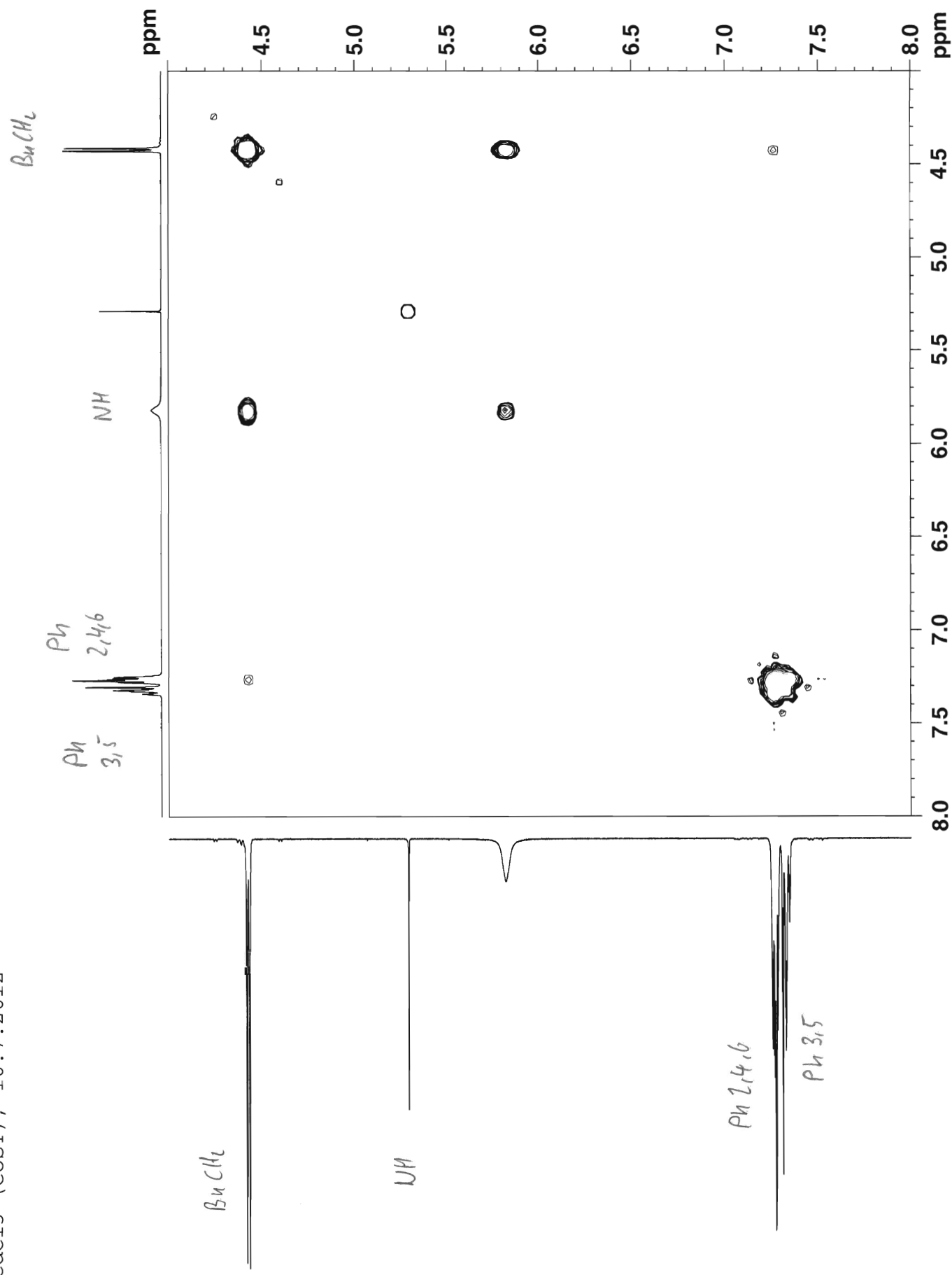




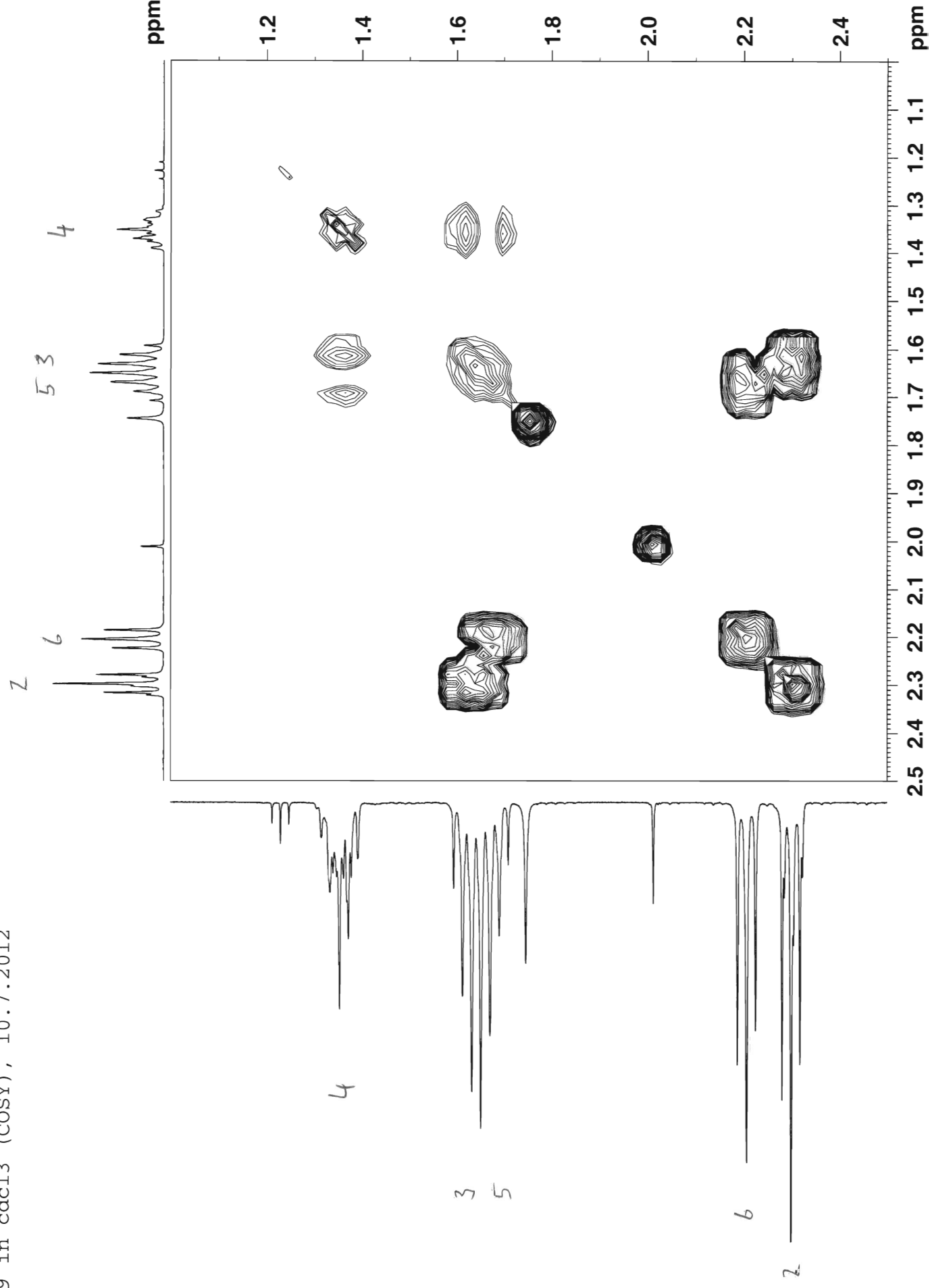
at039 in cdc13 (cosy), 10.7.2012



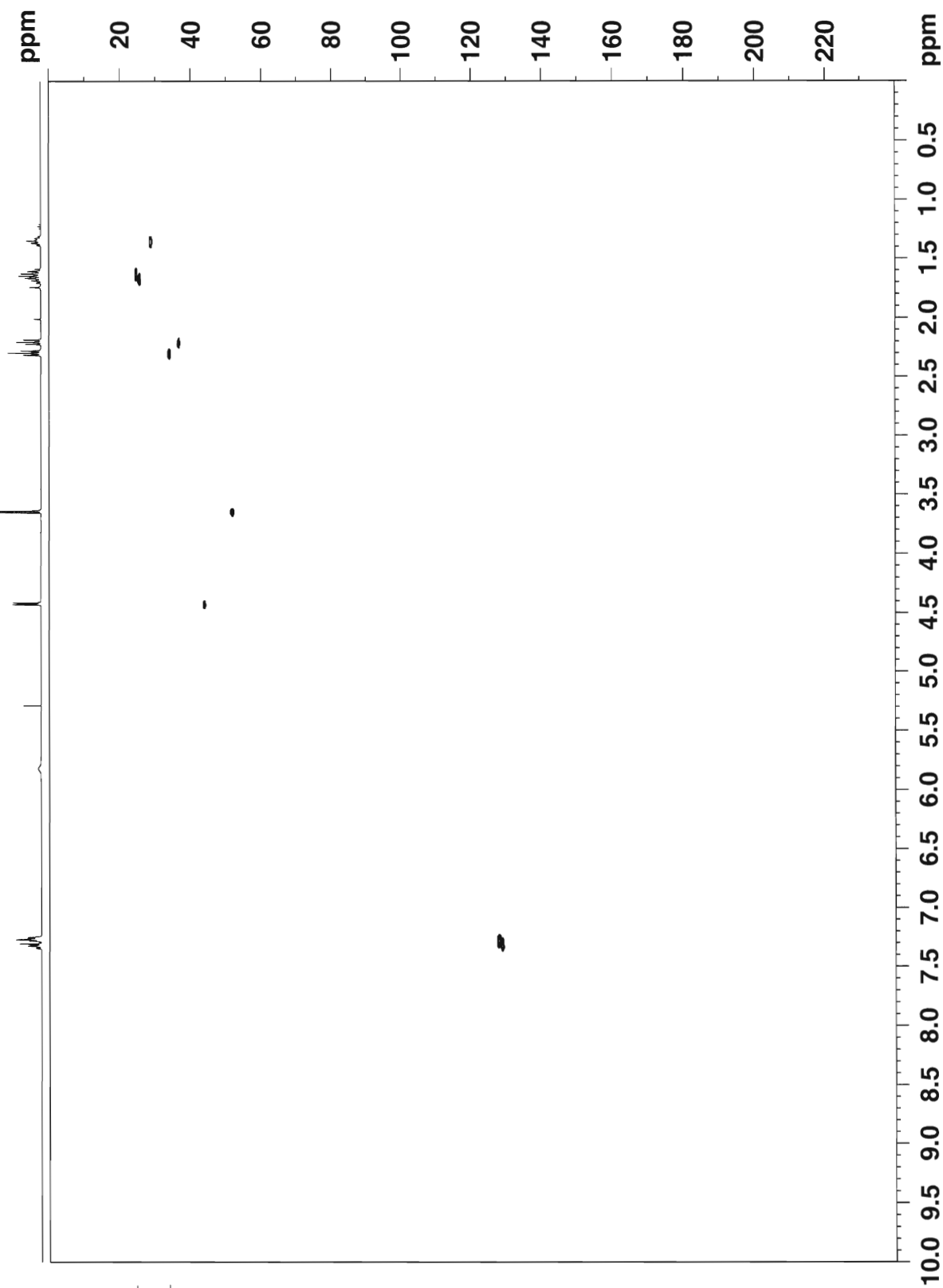
at039 in cdcl3 (COSY), 10.7.2012



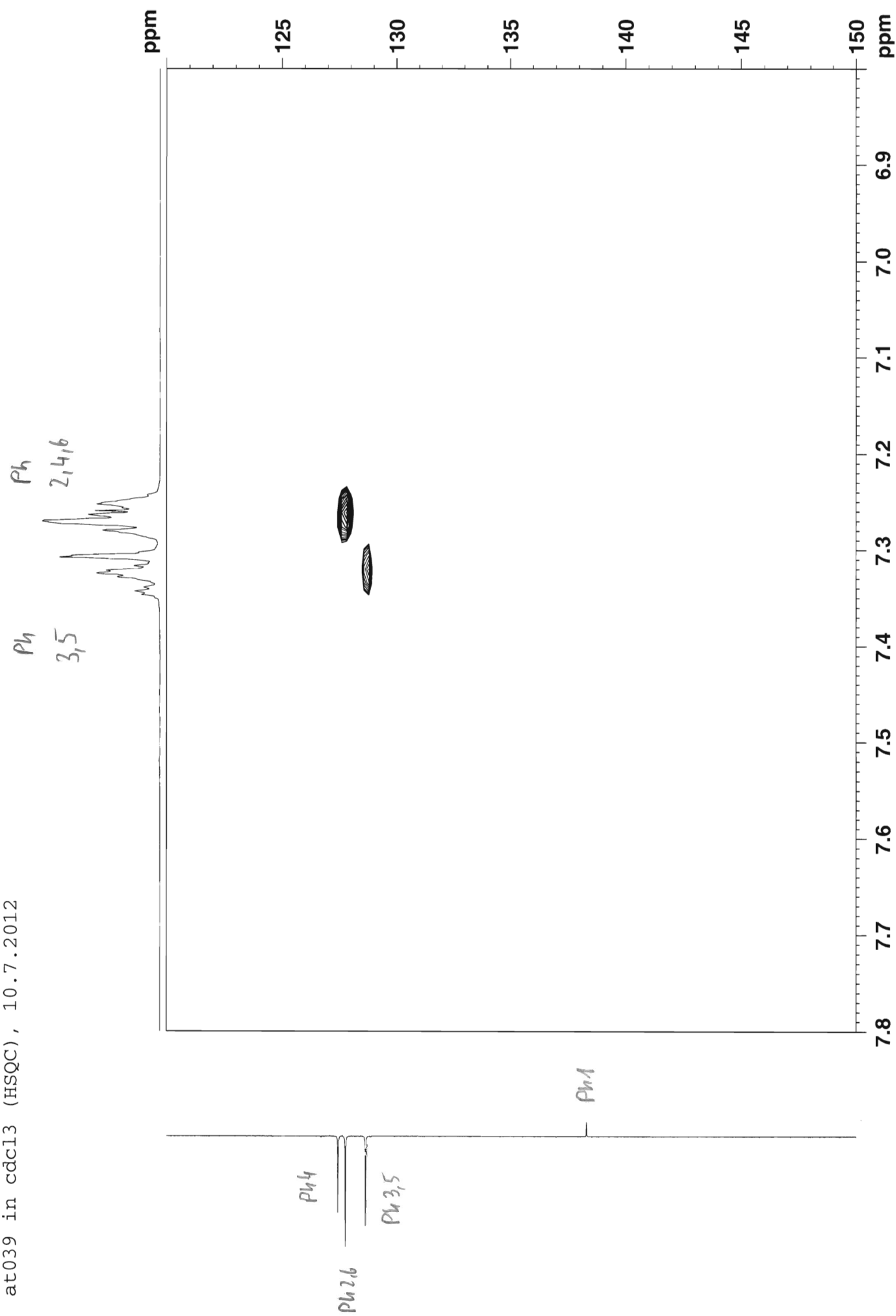
at039 in cdcl3 (COSY), 10.7.2012



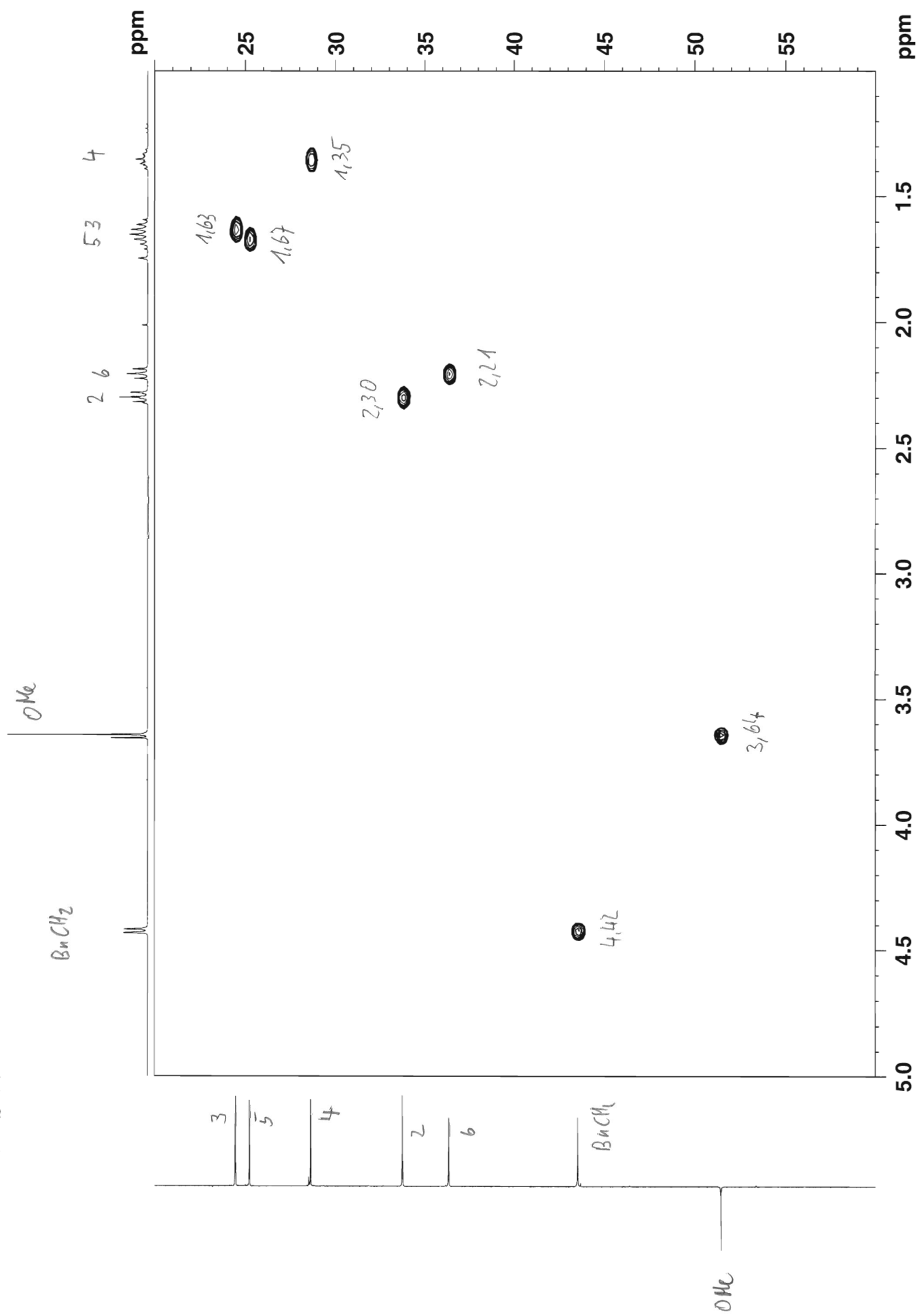
at039 in cdcl3 (HSQC), 10.7.2012



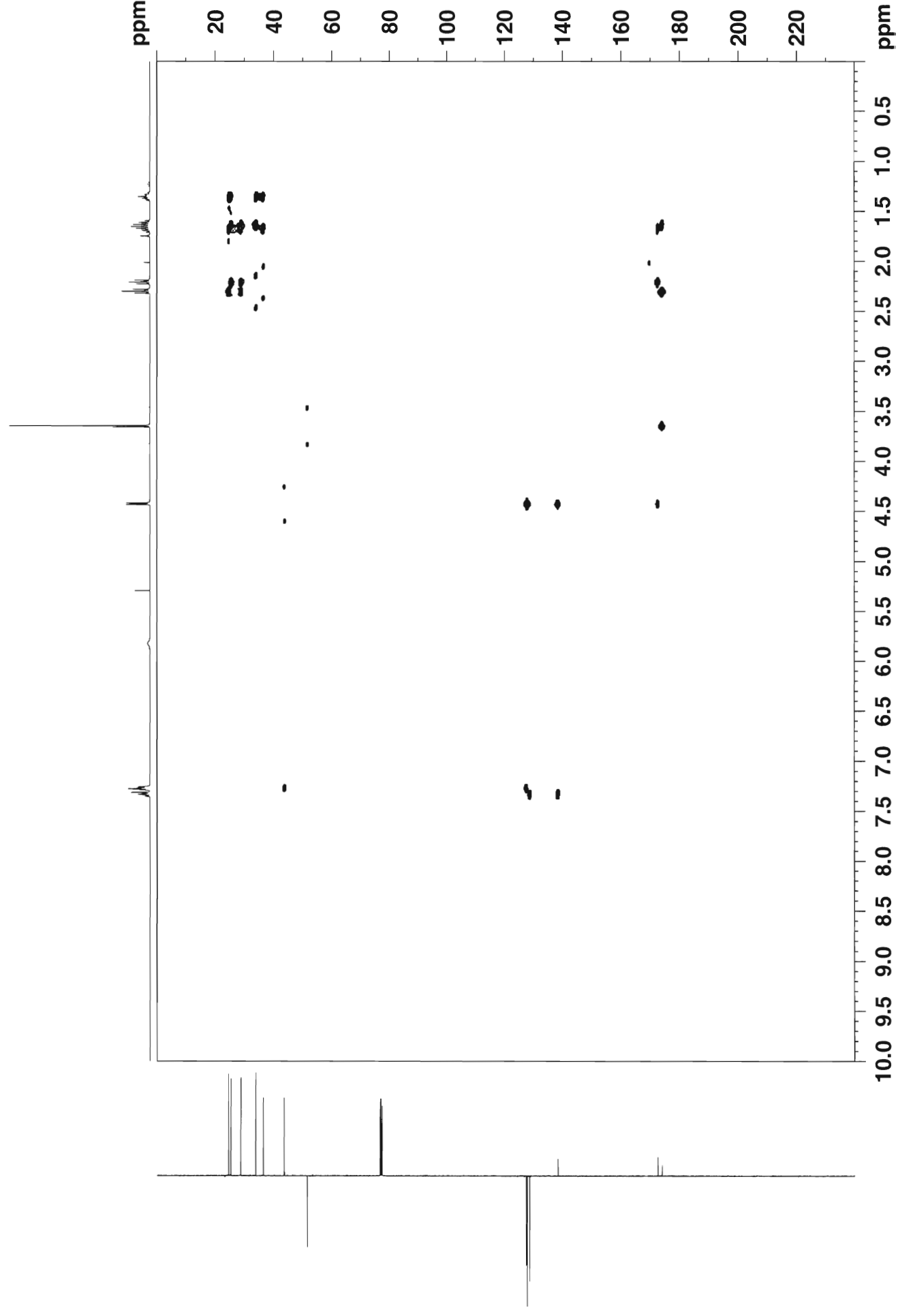
at039 in cdcl3 (HSQC), 10.7.2012



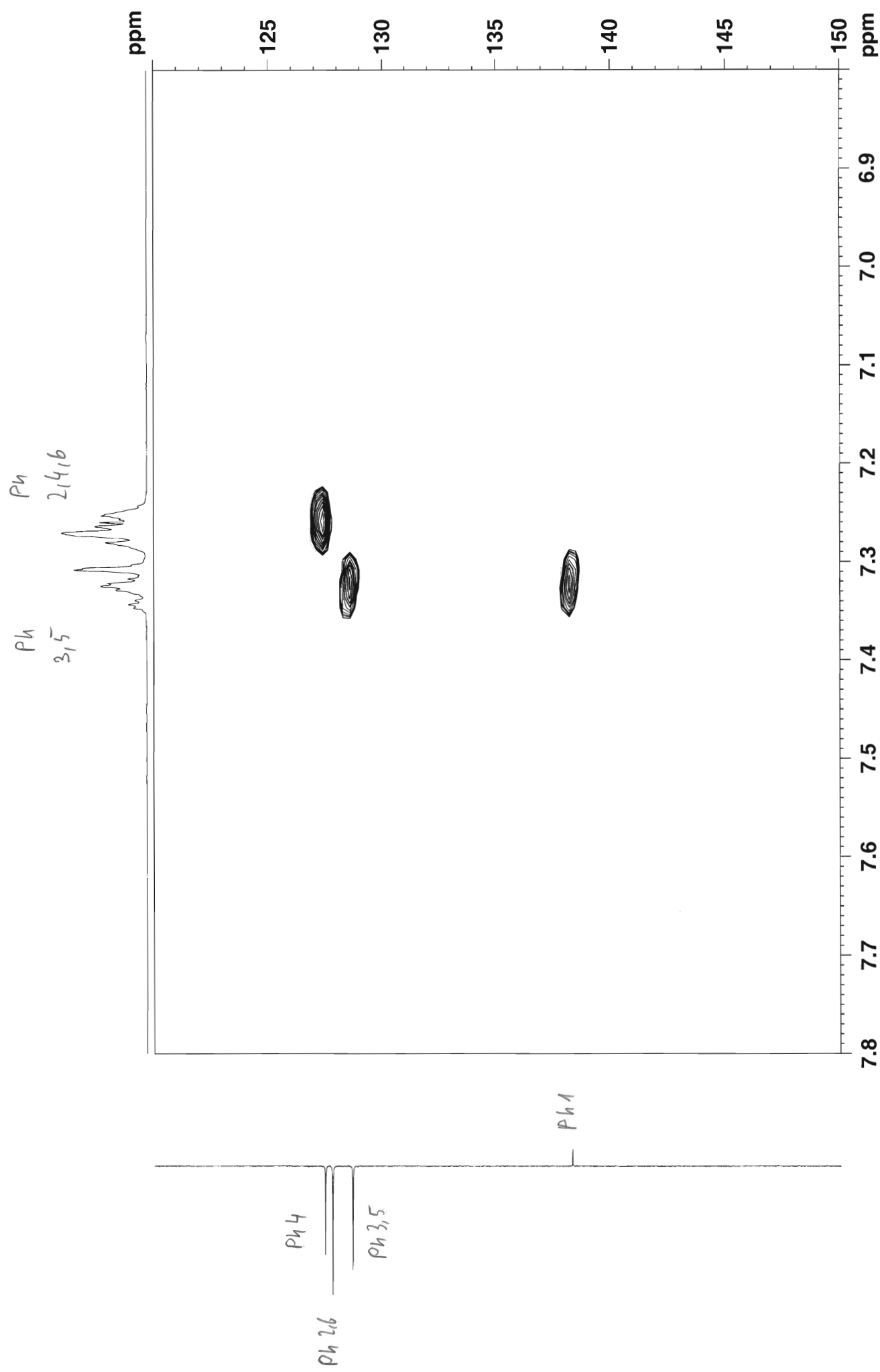
at039 in cdcl3 (HSQC), 10.7.2012



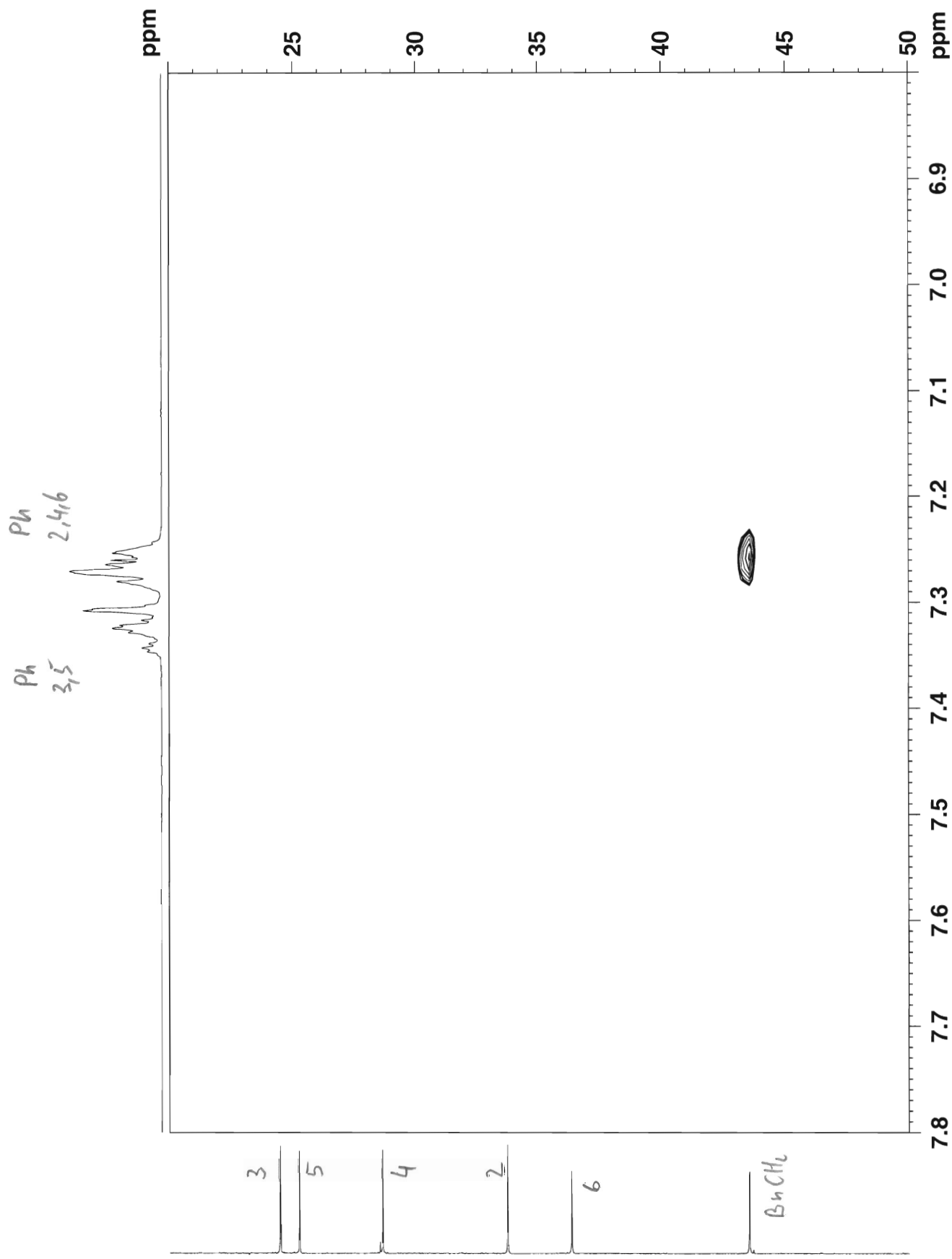
at039 in cdcl3 (HMBC), 10.7.2012



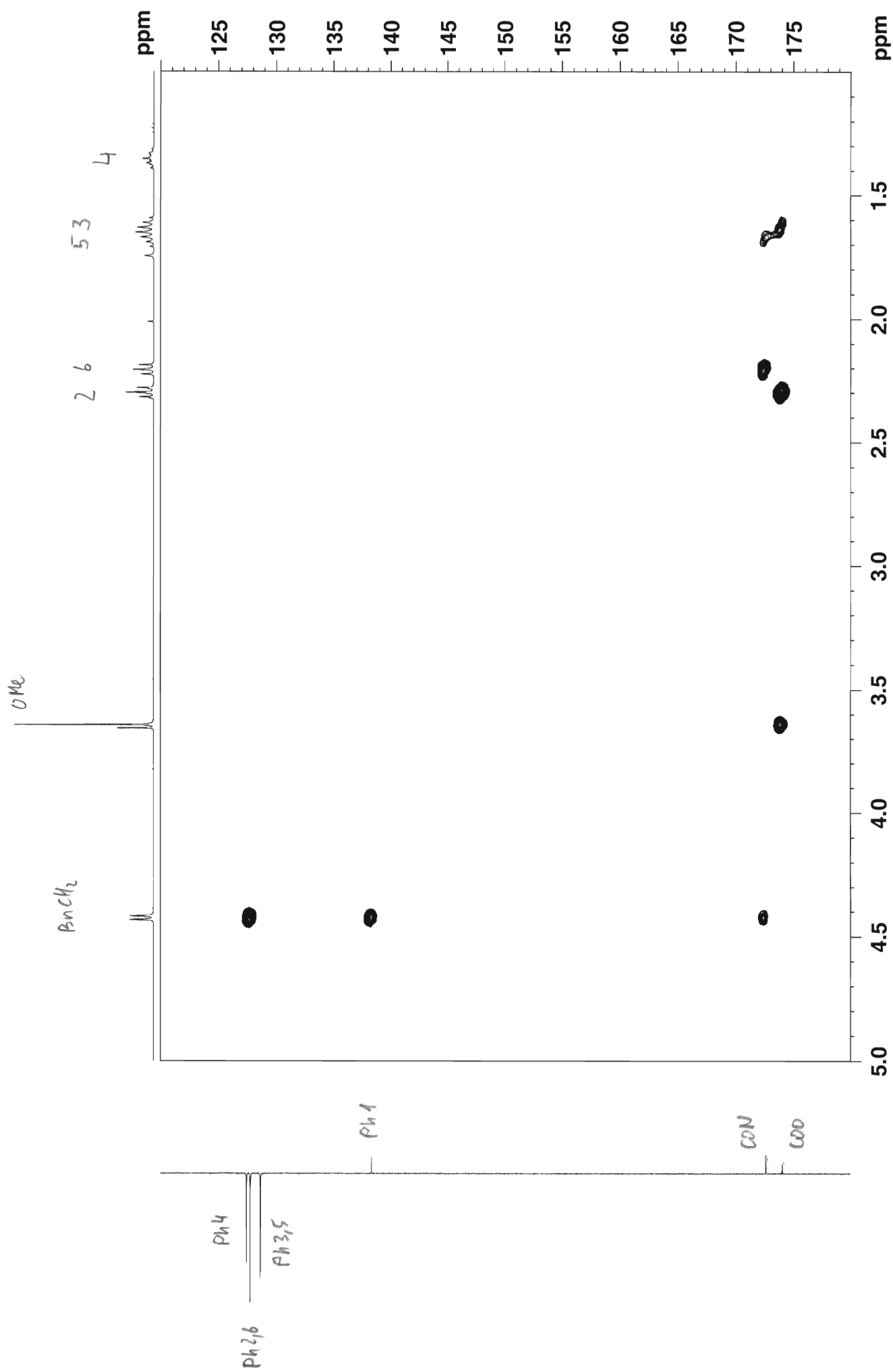
at039 in cdcl3 (HMBC), 10.7.2012



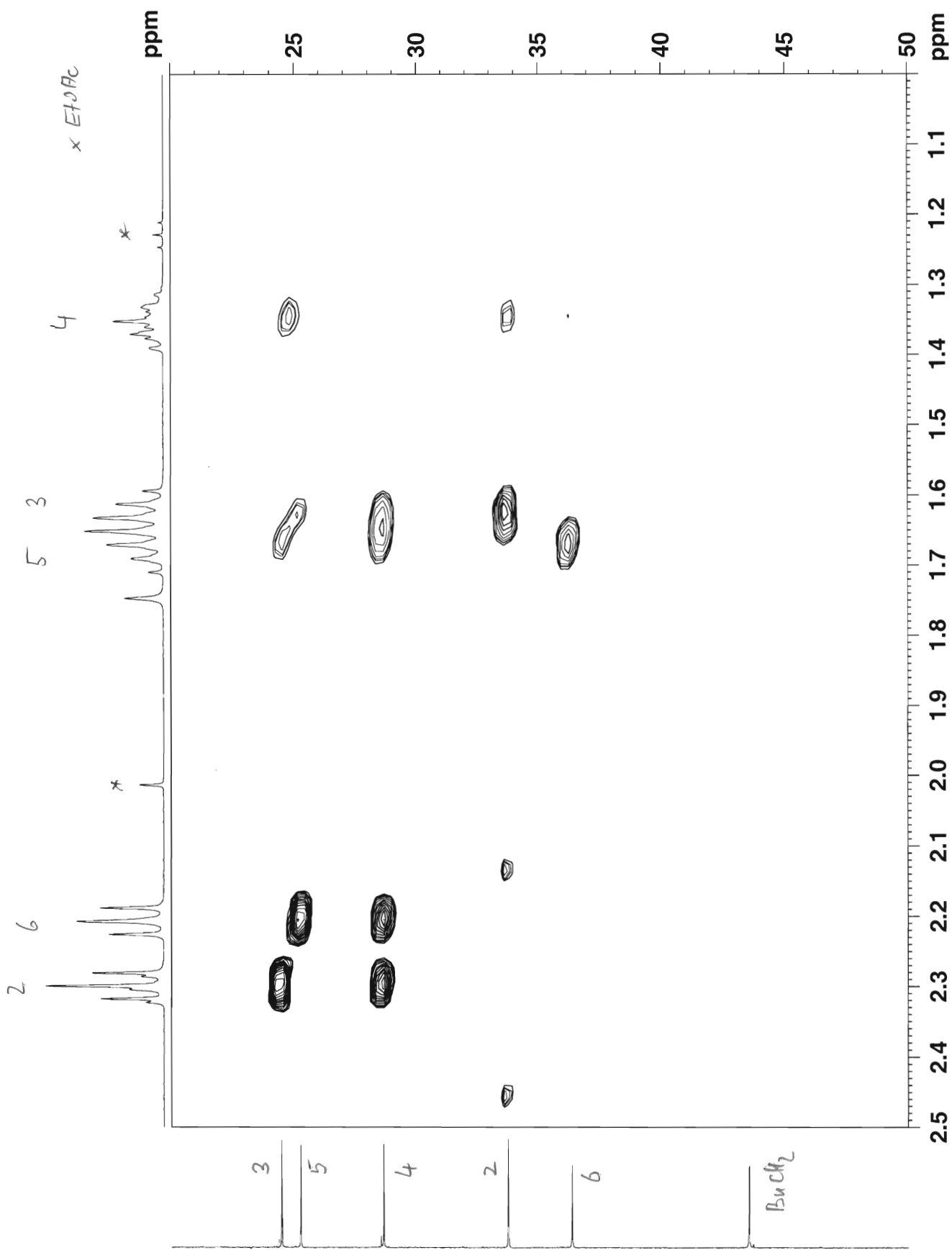
at039 in cdcl3 (HMBC), 10.7.2012



at039 in cdcl3 (HMBC), 10.7.2012



at039 in cdcl3 (HMBC), 10.7.2012



Lebenslauf:

Persönliche Daten:

<u>Name:</u>	Alexander Taschauer
<u>Geburtsdatum:</u>	27.12.1988
<u>Geburtsort:</u>	Oberwart
<u>Eltern:</u>	Ferdinand und Gabriele Taschauer
<u>Geschwister:</u>	Daniela Taschauer
<u>Staatsangehörigkeit:</u>	Österreich

Ausbildung:

<u>1995-1999:</u>	Volksschule Loipersdorf-Kitzladen
<u>1999-2007:</u>	Bundesrealgymnasium Oberschützen
<u>Juni 2007:</u>	Matura mit ausgezeichnetem Erfolg
<u>Seit WS 2007:</u>	Studium der Pharmazie an der Universität Wien

Praktika:

<u>Juli 2006, Juli 2007:</u>	Ferialpraktika in der Firma Kandlbauer (Transport und Handel GmbH) in Markt Allhau
<u>September 2008:</u>	Ferialpraktikum in der Firma Austrotherm in Pinkafeld
<u>Juli 2010, Februar 2011,</u>	Ferialpraktika in der „Amandus Apotheke“ in
<u>August 2011, September 2011:</u>	Vösendorf