

Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden: Synthesen, Kristallstrukturen und antimuscarinische Eigenschaften

Reinhold Tacke, Jerzy Pikies und Frank Wiesenberger

Institut für Anorganische Chemie, Universität Karlsruhe, Engesserstraße, Geb. 30.45, D-76128 Karlsruhe (Deutschland)

Ludger Ernst

NMR-Laboratorium der Chemischen Institute, Technische Universität Braunschweig, Hagenring 30, D-38106 Braunschweig (Deutschland)

Dietmar Schomburg

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF), Mascheroder Weg 1, D-38124 Braunschweig (Deutschland)

Magali Waelbroeck und Jean Christophe

Laboratoire de Chimie Biologique et de la Nutrition, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Libre de Bruxelles, Route de Lennik 808, B-1070 Bruxelles (Belgique)

Günter Lambrecht, Jan Gross und Ernst Mutschler

Pharmakologisches Institut für Naturwissenschaftler, Universität Frankfurt, Biozentrum Niederursel, Marie-Curie-Straße 9, Geb. N260, D-60053 Frankfurt (Deutschland)

(Eingegangen den 10. Mai 1993)

Abstract

Starting from trichloro(vinyl)silane ($\text{Cl}_3\text{SiCH}=\text{CH}_2$), the muscarinic antagonists sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-2] and *endo*-sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-2] were prepared by a seven-step synthesis. Both silanols are configurationally stable in inert organic solvents but undergo slow epimerization in aqueous solution (pH 7.4, 32°C) by inversion of the configuration at the silicon atom. The relative configurations of sila-biperiden and *endo*-sila-biperiden were determined by single-crystal X-ray diffraction. Both compounds form intermolecular O–H \cdots N hydrogen bonds in the crystal leading to the formation of centrosymmetric dimers (sila-biperiden) and infinite chains (*endo*-sila-biperiden), respectively. Sila-biperiden is a silicon analogue (C/Si exchange) of the antiparkinsonian drug biperiden [*rac*-(CRS/C2SR)-*exo*-1]. In functional pharmacological experiments, as well as in radioligand competition studies, biperiden, sila-biperiden and *endo*-sila-biperiden behaved as simple competitive antagonists at muscarinic M1-, M2-, M3- and M4-receptors. The three compounds displayed the highest affinity for M1-receptors (pA_2 values: 8.72–8.80; pK_i values: 8.8–9.1), intermediate affinity for M4- and M3-receptors, and lowest affinity for M2-receptors (pA_2 values: 7.57–7.79; pK_i values: 7.7–7.8). The affinity profile (M1 > M4 > M3 > M2) of biperiden, sila-biperiden and *endo*-sila-biperiden is qualitatively similar to that of the M1-selective muscarinic antagonist pirenzepine. The antimuscarinic properties of the C/Si analogues biperiden and sila-biperiden are almost identical.

Zusammenfassung

Die Antimuscarinica Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-2] und *endo*-Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-2] wurden ausgehend von Trichlor(vinyl)silan ($\text{Cl}_3\text{SiCH}=\text{CH}_2$) durch eine siebenstufige Synthese dargestellt. Die beiden Silanole sind in inerten organischen Solvenzien konfigurationsstabil, unterliegen aber in wässriger Lösung (pH 7.4, 32°C) einer Epimerisierung durch Inversion der Konfiguration am Silicium-Atom. Die relativen Konfigurationen von Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden wurden

Correspondence to: Prof. Dr. R. Tacke.

durch Einkristall-Röntgenstrukturanalysen bestimmt. Beide Verbindungen bilden im Kristall intermolekulare O-H...N-Wasserstoff-Brückenbindungen aus, die zum Aufbau von zentrosymmetrischen Dimeren (Sila-biperiden) bzw. unendlichen Ketten (*endo*-Sila-biperiden) führen. Sila-biperiden ist ein Silicium-Analogon (C/Si-Austausch) des Antiparkinsonmittels Biperiden [*rac*-(C*RS*,C2*SR*)-*exo*-1]. Sowohl in funktionellen pharmakologischen Untersuchungen als auch in Radioligand-Kompetitionsexperimenten erwiesen sich Biperiden, Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden als rein kompetitive Antagonisten an muscarinischen M1-, M2-, M3- und M4-Rezeptoren. Alle drei Verbindungen zeigten die höchste Affinität zu den M1-Rezeptoren (pA_2 -Werte: 8.72–8.80; pK_i -Werte: 8.8–9.1), eine deutlich geringere Affinität zu den M4- und M3-Rezeptoren und die niedrigste Affinität zu den kardialen M2-Rezeptoren (pA_2 -Werte: 7.57–7.79; pK_i -Werte: 7.7–7.8). Das Affinitätsprofil (M1 > M4 > M3 > M2) von Biperiden, Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden ist dem des M1-selektiven Antimuscarinicums Pirenzepin qualitativ sehr ähnlich. Die antimuscarinischen Eigenschaften der C/Si-Analoga Biperiden und Sila-biperiden sind nahezu identisch.

Key words: Silicon; Silanol; Sila-biperiden; Bioorganosilicon chemistry; Muscarinic antagonist; Muscarinic receptor subtype

1. Einleitung

In Fortführung unserer systematischen Untersuchungen über sila-substituierte Pharmaka vom Typ des Sila-pridinols und Sila-difenidols (ausgewählte Arbeiten: [1–16]) haben wir das racemische Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2] und *endo*-Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2] synthetisiert und pharmakologisch charakterisiert. Sila-biperiden ist ein Silicium-Analogon des Antimuscarinicums Biperiden [*rac*-(C*RS*,C2*SR*)-*exo*-1], das zur Therapie der Parkinsonschen Krankheit eingesetzt wird (Handelspräparat: Akineton® [17,18]). Die relevanten Chiralitätszentren [Si (bzw. C) und C2] der genannten Verbindungen sind in den nachstehenden Formeln jeweils mit einem Stern gekennzeichnet.

Wir berichten hier über die Synthesen, Kristallstrukturanalysen und antimuscarinischen Eigenschaften der Silicium-Verbindungen Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden. Die Bestimmung der antimuscarinischen Eigenschaften, in die auch das Kohlenstoff-Analogon Biperiden einbezogen wurde, erfolgte sowohl durch funktionelle pharmakologische Untersuchungen an muscarinischen M1-, M2- und M3-Rezeptoren als auch

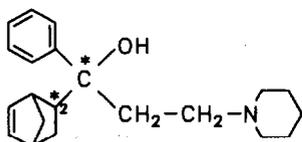
durch Radioligand-Bindungsstudien an M1-, M2-, M3- und M4-Rezeptoren.

2. Ergebnisse und Diskussion

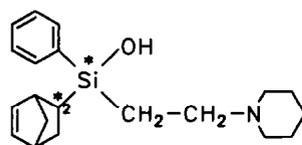
2.1. Synthesen

Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2] und *endo*-Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2] wurden ausgehend von Trichlor(vinyl)silan (**3**) gemäß Schema 2 durch eine siebenstufige Synthese hergestellt. Die beiden racemischen Silanole fielen hierbei zusammen mit den diastereomeren Racematen *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*-2 und *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*-2 als ein Gemisch von Feststoffen an, aus dem Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden durch fraktionierende Kristallisation rein isoliert werden konnten.

Durch Umsetzung von **3** mit Cyclopentadien wurde zunächst nach bekanntem Verfahren [19] ein Gemisch aus *rac*-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)trichlorsilan [*rac*-(C2*RS*)-*endo*-4] und *rac*-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)trichlorsilan [*rac*-(C2*RS*)-*exo*-4] hergestellt (Ausbeute 89%, *endo*/*exo*-Verhältnis 7:3). Durch Methanolyse dieses Trichlorsilan-Gemisches in Gegenwart von Triethylamin erhielt man ein Gemisch aus den entsprechenden Trimethoxysilanen *rac*-(C2*RS*)-*endo*-5 und *rac*-(C2*RS*)-*exo*-5 (Ausbeute 84%, *endo*/*exo*-Verhältnis 7:3). Die nachfolgende Umsetzung mit Phenylmagnesiumbromid führte dann zu einem Gemisch der Phenylsilane *rac*-(C2*RS*)-*endo*-6 und *rac*-(C2*RS*)-*exo*-6 (Ausbeute 92%, *endo*/*exo*-Verhältnis 7:3). Die Umsetzung dieses Dimethoxysilan-Gemisches mit einem Äquivalent Vinylmagnesiumchlorid und anschließend mit Lithiumaluminiumhydrid ergab dann unter Aufbau eines weiteren Asymmetriezentrums (Silicium-Atom) ein Gemisch aus den entsprechenden Vinylhydridosilanen *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*-7, *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-7, *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*-7 und *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-7 (Ausbeute 52%, Mol-Verhältnis 7:7:3:3). Dieses Vinylhydridosilan-Gemisch wurde dann mit Piperidin und dessen Lithiumamid umgesetzt, wobei man unter Substitution der SiH-Wasserstoff-Atome durch den Piperidino-Rest und unter Ad-



rac-(C*RS*,C2*SR*)-*exo*-1



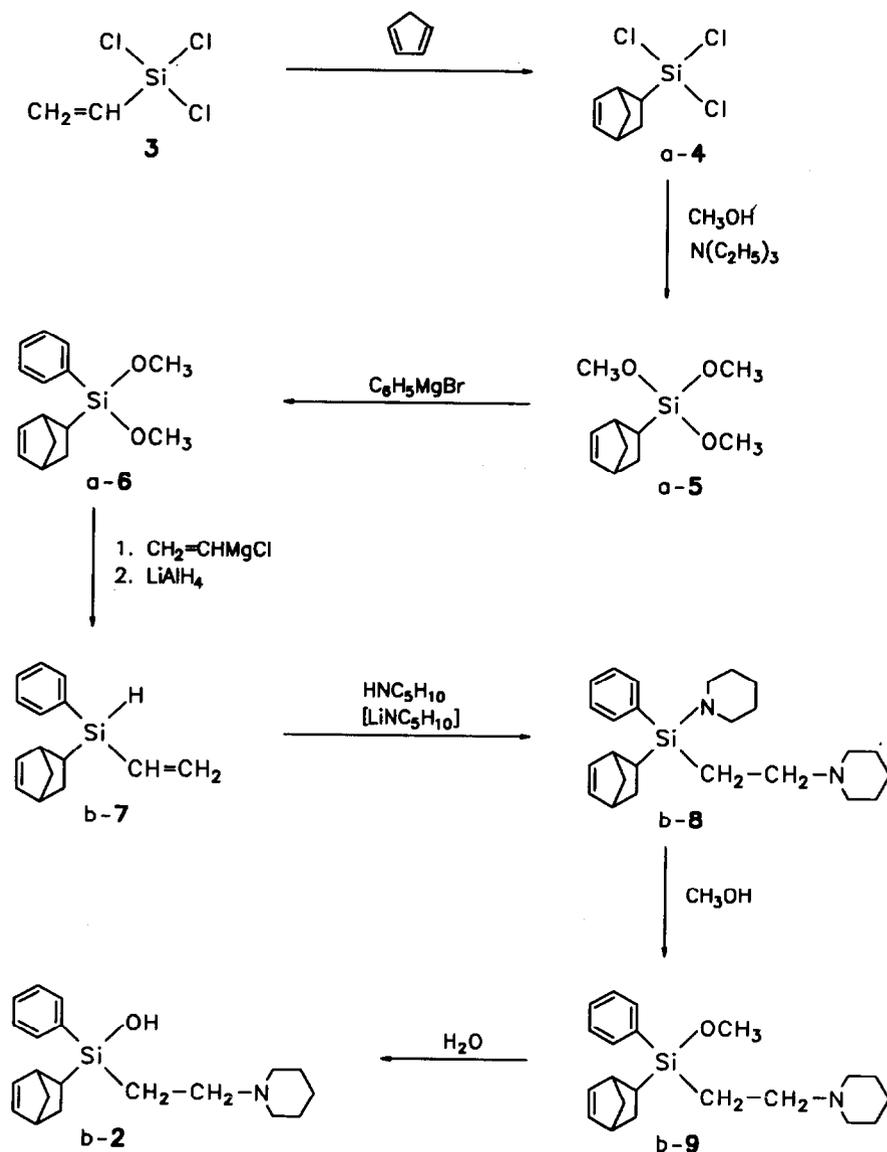
rac-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2
rac-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2

Schema 1.

dition von Piperidin an die Vinyl-Gruppen ein Gemisch aus den entsprechenden Piperidino(2-piperidinoethyl)silanen *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*-8, *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-8, *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*-8 und *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-8 erhielt (Ausbeute 82%, Mol-Verhältnis 7:7:3:3). Die Methanolyse dieses Piperidinosilan-Gemisches führte zu einem Gemisch der Methoxysilane *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*-9, *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-9, *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*-9 und *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-9 (Ausbeute 94%, Mol-Verhältnis

7:7:3:3). Die nachfolgende Hydrolyse ergab dann schließlich ein Gemisch aus den entsprechenden Silanolen *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*-2, *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2) (*endo*-Sila-biperiden), *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*-2 und *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2 (Sila-biperiden) (Ausbeute 93%, Mol-Verhältnis 7:7:3:3).

Während die Silane 4–9 allesamt als Flüssigkeiten anfielen, die sich nicht in die jeweiligen Isomere auftrennen ließen, wurden die Silanole 2 als ein Gemisch von Feststoffen erhalten, aus dem man durch



a: *rac*-(C2*RS*)-*endo*, *rac*-(C2*RS*)-*exo*
b: *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*, *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*,
rac-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*, *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*

Schema 2.

fraktionierende Kristallisation die beiden Verbindungen *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2 (Sila-biperiden) und *rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2 (*endo*-Sila-biperiden) abtrennen und jeweils rein isolieren konnte.

Die Konstitution der Silanole **2** wurde durch NMR-spektroskopische und massenspektrometrische Untersuchungen sichergestellt; ihre Konfiguration wurde durch Einkristall-Röntgenstrukturanalysen an Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden bestimmt [siehe Abschnitt 2.2.]. Die Identität der bisher noch nicht beschriebenen Silane **5–9** (Isomerengemische) wurde durch NMR-spektroskopische und massenspektrometrische Untersuchungen sowie durch Elementaranalysen sichergestellt.

Studien zur Konfigurationsstabilität von Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden haben gezeigt, daß beide Silanole in unpolaren organischen Solvenzien beständig sind, in wässriger Lösung jedoch durch Inversion der Konfiguration am Silicium-Atom epimerisieren [\rightarrow Bildung von *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*-2 bzw. *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*-2]. Orientierende Experimente ergaben, daß Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden in wässriger Lösung (Phosphat-Puffer, pH 7.4) bei 32°C in 15 Minuten zu etwa 10% epimerisieren. Diese Epimerisierung entspricht formal der Racemisierung, die wir bereits früher für die Enantiomere von Sila-procyclidin (**10**) und Sila-tricyclamoliodid (**11**) (Schema 3) in wässriger Lösung beobachtet haben [9].

2.2. Kristallstrukturanalysen

Geeignete Einkristalle von Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2] und *endo*-Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2] wurden durch Kristallisation aus Diethylether erhalten. Die Ergebnisse der Kristallstrukturanalysen sind in den Abb. 1–4 und in den Tabellen 1–4 zusammengefaßt.

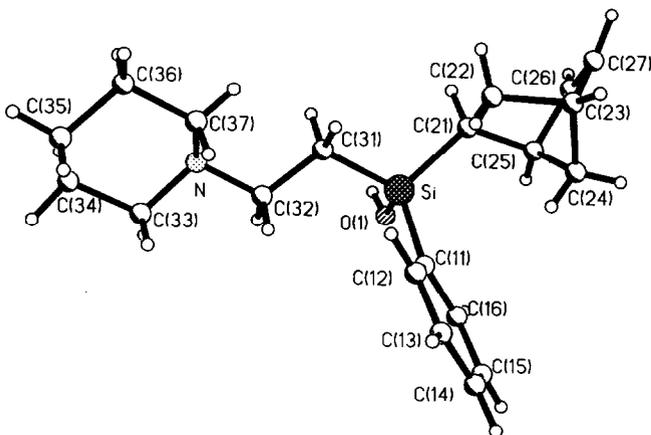


Abb. 1. Molekülstruktur des (Si*R*,C2*S*)-Enantiomers im Kristall von Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2] mit Angabe des Nummerierungsschemas.

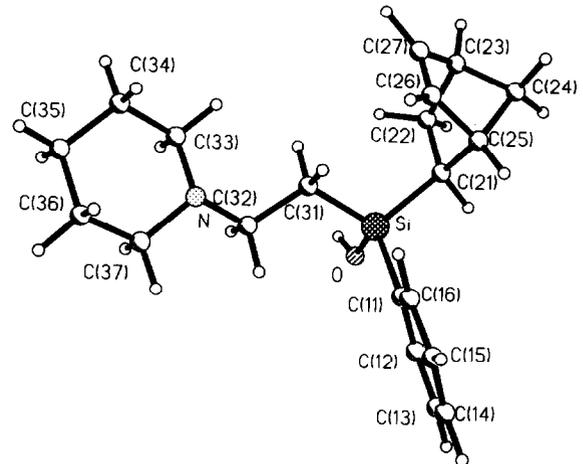


Abb. 2. Molekülstruktur des (Si*R*,C2*S*)-Enantiomers im Kristall von *endo*-Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2] mit Angabe des Nummerierungsschemas.

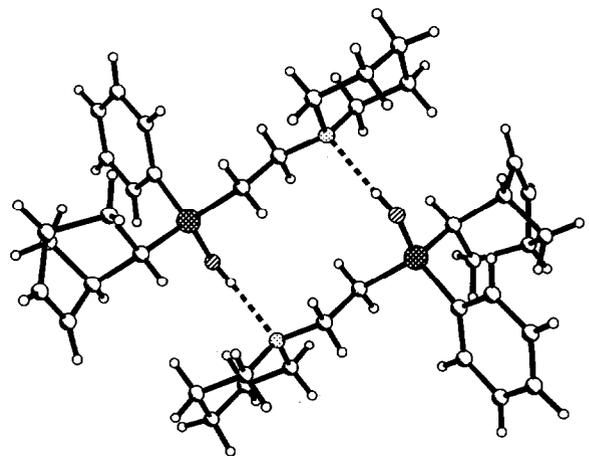


Abb. 3. Intermolekulare O–H \cdots N-Wasserstoff-Brückenbindungen im Kristall von Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*exo*-2].

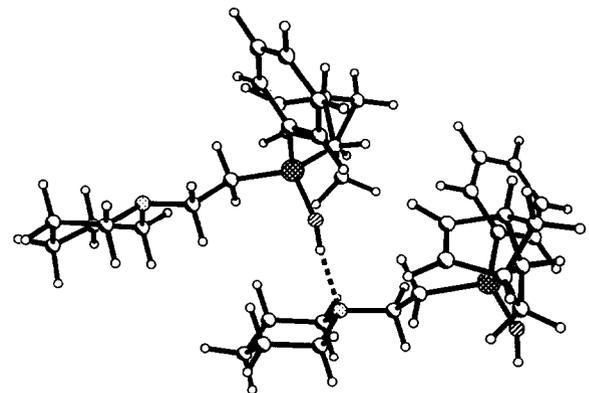
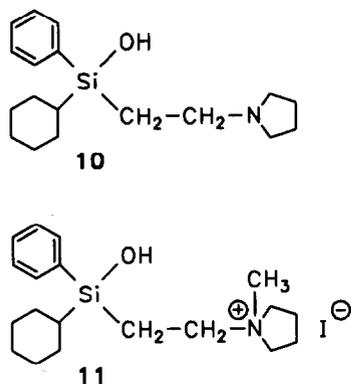


Abb. 4. Intermolekulare O–H \cdots N-Wasserstoff-Brückenbindungen im Kristall von *endo*-Sila-biperiden [*rac*-(Si*RS*,C2*SR*)-*endo*-2].



Schema 3.

Die Molekülgeometrien von Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden weisen eine Reihe auffälliger Gemeinsamkeiten auf (Abb. 1 und 2). Die beobachteten Si–O- [162.6(1) bzw. 162.1(3) pm] und Si–C-Abstände [186.3(4)–187.9(2) pm] liegen im Erwartungsbereich. Dies gilt auch – abgesehen von den relativ langen C(21)–C(25)-Abständen [157.4(2) bzw. 156.8(5) pm] in den Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl-Gruppen – für die C–C- und C–N-Abstände beider Verbindungen. Auch die beobachteten Bindungswinkel zeigen keine Besonderheiten. Bezüglich der C(31)–C(32)-Bindung wurde in beiden Fällen eine *anti*-Konformation gefun-

TABELLE 1. Ortskoordinaten und atomare Auslenkungsparameter (pm²) der Nichtwasserstoff-Atome von Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-2]

Atom	x	y	z	U_{eq}^a
Si	0.1401(0)	0.4313(0)	0.3496(0)	0.037(0)
O	-0.0194(1)	0.4425(1)	0.2778(1)	0.047(0)
C(11)	0.2224(1)	0.4861(1)	0.2567(1)	0.040(0)
C(12)	0.3509(1)	0.5208(1)	0.3058(1)	0.043(0)
C(13)	0.4139(1)	0.5556(1)	0.2348(2)	0.050(0)
C(14)	0.3506(2)	0.5571(1)	0.1137(2)	0.058(0)
C(15)	0.2233(2)	0.5231(1)	0.0618(1)	0.063(0)
C(16)	0.1603(2)	0.4883(1)	0.1329(1)	0.052(0)
C(21)	0.1897(1)	0.3142(1)	0.3715(1)	0.042(0)
C(22)	0.3417(2)	0.2964(1)	0.4339(2)	0.052(0)
C(23)	0.3711(2)	0.2285(1)	0.3525(2)	0.063(1)
C(24)	0.2847(2)	0.2641(2)	0.2320(2)	0.073(1)
C(25)	0.1548(2)	0.2575(1)	0.2557(2)	0.060(0)
C(26)	0.1673(3)	0.1645(1)	0.2994(2)	0.078(1)
C(27)	0.2943(2)	0.1482(1)	0.3555(2)	0.076(1)
C(31)	0.1943(1)	0.4824(1)	0.5007(1)	0.044(0)
C(32)	0.1724(1)	0.5796(1)	0.4999(1)	0.044(0)
N	0.1964(1)	0.6181(1)	0.6176(1)	0.039(0)
C(33)	0.1741(2)	0.7122(1)	0.6047(1)	0.051(0)
C(34)	0.1953(2)	0.7556(1)	0.7228(2)	0.061(0)
C(35)	0.3335(2)	0.7376(1)	0.8118(2)	0.065(0)
C(36)	0.3587(2)	0.6409(1)	0.8221(2)	0.061(0)
C(37)	0.3325(1)	0.6011(1)	0.7008(1)	0.050(0)

^a Äquivalenter isotroper Auslenkungsparameter, definiert als 1/3 der Spur des orthogonalisierten U_{ij} -Tensors.

TABELLE 2. Ortskoordinaten und atomare Auslenkungsparameter (pm²) der Nichtwasserstoff-Atome von *endo*-Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-2]

Atom	x	y	z	U_{eq}^a
Si	0.2390(1)	0.1298(1)	0.7263(1)	0.041(0)
O	0.2755(2)	0.0249(2)	0.7680(2)	0.060(1)
C(11)	0.3257(2)	0.1675(3)	0.6662(2)	0.043(1)
C(12)	0.3871(2)	0.0910(3)	0.6518(2)	0.059(1)
C(13)	0.4528(3)	0.1153(5)	0.6071(2)	0.075(1)
C(14)	0.4577(3)	0.2163(5)	0.5760(2)	0.074(1)
C(15)	0.3969(3)	0.2916(4)	0.5885(2)	0.076(1)
C(16)	0.3324(3)	0.2676(3)	0.6336(2)	0.061(1)
C(21)	0.1456(2)	0.0895(3)	0.6746(2)	0.049(1)
C(22)	0.0693(2)	0.0503(4)	0.7170(2)	0.067(1)
C(23)	-0.0038(3)	0.1147(5)	0.6836(3)	0.072(1)
C(24)	0.0222(3)	0.1144(4)	0.6074(2)	0.075(1)
C(25)	0.1052(3)	0.1734(4)	0.6228(2)	0.069(1)
C(26)	0.0718(3)	0.2661(4)	0.6671(3)	0.087(2)
C(27)	0.0090(3)	0.2291(5)	0.7028(3)	0.089(2)
C(31)	0.2153(2)	0.2462(3)	0.7857(2)	0.049(1)
C(32)	0.2856(2)	0.2794(3)	0.8347(2)	0.050(1)
N	0.2716(2)	0.3826(2)	0.8715(1)	0.041(1)
C(33)	0.1986(2)	0.3760(3)	0.9172(2)	0.051(1)
C(34)	0.1839(2)	0.4847(3)	0.9537(2)	0.059(1)
C(35)	0.2599(3)	0.5205(4)	0.9955(2)	0.070(1)
C(36)	0.3360(3)	0.5200(4)	0.9487(2)	0.062(1)
C(37)	0.3455(2)	0.4100(3)	0.9125(2)	0.056(1)

^a Äquivalenter isotroper Auslenkungsparameter, definiert als 1/3 der Spur des orthogonalisierten U_{ij} -Tensors.

den [Torsionswinkel Si–C(31)–C(32)–N: 171.5 bzw. 169.2°].

Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden bilden im Kristall intermolekulare O–H ⋯ N-Wasserstoff-Brückenbindungen aus (Sila-biperiden: O ⋯ N 281.0, O–H 79, N ⋯ H 203 pm, O–H ⋯ N 176.6°; *endo*-Sila-biperiden: O ⋯ N 274.5, O–H 96, N ⋯ H 182 pm, O–H ⋯ N 162.0°). Im Falle von Sila-biperiden (Abb. 3) führen diese zur Ausbildung von zentrosymmetrischen Dimeren, während im Kristall von *endo*-Sila-biperiden (Abb. 4) unendliche Ketten vorliegen. Diese unterschiedlichen Wasserstoff-Brückenbindungs-Muster implizieren auch unterschiedliche Orientierungen des freien Elektronenpaares am Stickstoff-Atom relativ zur OH-Gruppe des gleichen Moleküls (*exo*-Verbindung: C(31)–C(32)–N–C(33) – 62.5, C(31)–C(32)–N–C(37) 175.7°; *endo*-Verbindung: C(31)–C(32)–N–C(33) 179.0, C(31)–C(32)–N–C(37) 57.8°). Ein ähnliches Wasserstoff-Brückenbindungs-System, wie es für Sila-biperiden beobachtet wurde, findet sich auch im Kristall des Racemats von Sila-procyclidin (10) [20].

2.3. Pharmakologische Untersuchungen und Rezeptor-Bindungsstudien

Alle im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Verbindungen hemmen am Vas deferens des

TABELLE 3. Bindungsabstände (pm) und -winkel (°) der Nichtwasserstoff-Atome von Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-2]

Abstände			
O-Si	162.6(1)	C(11)-Si	187.2(2)
C(21)-Si	187.9(2)	C(31)-Si	187.4(1)
C(12)-C(11)	139.9(2)	C(16)-C(11)	139.6(2)
C(13)-C(12)	138.3(3)	C(14)-C(13)	136.8(2)
C(15)-C(14)	138.7(2)	C(16)-C(15)	138.5(3)
C(22)-C(21)	155.7(2)	C(25)-C(21)	157.4(2)
C(23)-C(22)	155.0(3)	C(24)-C(23)	151.5(3)
C(27)-C(23)	150.0(3)	C(25)-C(24)	153.4(4)
C(26)-C(25)	152.1(3)	C(27)-C(26)	131.0(3)
C(32)-C(31)	152.1(2)	N-C(32)	147.4(2)
C(33)-N	147.4(2)	C(37)-N	146.7(2)
C(34)-C(33)	151.6(3)	C(35)-C(34)	150.9(2)
C(36)-C(35)	151.7(3)	C(37)-C(36)	151.7(2)
Winkel			
C(11)-Si-O	105.9(1)	C(21)-Si-O	111.6(1)
C(21)-Si-C(11)	110.3(1)	C(31)-Si-O	111.4(1)
C(31)-Si-C(11)	110.2(1)	C(31)-Si-C(21)	107.4(1)
C(12)-C(11)-Si	122.4(1)	C(16)-C(11)-Si	120.4(1)
C(16)-C(11)-C(12)	117.0(1)	C(13)-C(12)-C(11)	121.5(1)
C(14)-C(13)-C(12)	120.2(1)	C(15)-C(14)-C(13)	119.9(2)
C(16)-C(15)-C(14)	119.8(1)	C(15)-C(16)-C(11)	121.5(1)
C(22)-C(21)-Si	115.7(1)	C(25)-C(21)-Si	116.7(1)
C(25)-C(21)-C(22)	101.4(1)	C(23)-C(22)-C(21)	103.8(1)
C(24)-C(23)-C(22)	99.5(2)	C(27)-C(23)-C(22)	107.5(2)
C(27)-C(23)-C(24)	100.0(2)	C(25)-C(24)-C(23)	94.5(2)
C(24)-C(25)-C(21)	101.1(1)	C(26)-C(25)-C(21)	104.9(2)
C(26)-C(25)-C(24)	99.1(2)	C(27)-C(26)-C(25)	107.6(2)
C(26)-C(27)-C(23)	108.2(2)	C(32)-C(31)-Si	114.8(1)
N-C(32)-C(31)	114.9(1)	C(33)-N-C(32)	109.5(1)
C(37)-N-C(32)	111.4(1)	C(37)-N-C(33)	109.5(1)
C(34)-C(33)-N	112.1(1)	C(35)-C(34)-C(33)	110.9(2)
C(36)-C(35)-C(34)	109.9(1)	C(37)-C(36)-C(35)	111.0(1)
C(36)-C(37)-N	111.8(1)		

Kaninchens konzentrationsabhängig die durch den M1-selektiven Agonisten 4-Cl-McN-A-343 ($-\log EC_{50} = 6.60 \pm 0.09$; $n = 27$) induzierte Abnahme der neurogenen Kontraktionen. In gleicher Weise wurden die durch Arecaidinpropargylester ausgelösten negativ inotropen Effekte ($-\log EC_{50} = 8.07 \pm 0.08$; $n = 47$) am Meerschweinchen-Atrium sowie die Kontraktionen ($-\log EC_{50} = 7.59 \pm 0.09$; $n = 51$) des Meerschweinchen-Ileum antagonisiert. An allen drei Geweben verschoben Biperiden, Sila-biperiden und endo-Sila-biperiden die Agonisten-Konzentrations-Wirkungs-Kurven parallel zu höheren Konzentrationen ohne nennenswerten Einfluß auf den Basaltonus der Organe und den Maximaleffekt der Agonisten. Die Arunlakshana-Schild-Darstellungen zeigten einen linearen Verlauf, und die Steigungen der Regressionsgeraden waren in keinem Fall von 1.00 verschieden ($P > 0.05$). In allen Konkurrenzexperimenten konnte die Bindung der Antagonisten an die vier Muscarinrezeptor-Subtypen unter der Annahme einer einheitlichen Population von Bindungsstellen beschrieben werden.

So waren die Hill-Koeffizienten in keinem Fall signifikant von 1.00 verschieden ($P > 0.05$). Alle diese Befunde sprechen für einen rein kompetitiven Antagonismus an jeweils nur einer Bindungsstelle, so daß die erhaltenen pA_{2-} bzw. pK_{i-} Werte als echtes Maß für die Affinität der Antagonisten zu den Muscarin-Rezeptoren gelten können. Die Ergebnisse der pharmakologischen Experimente und Rezeptor-Bindungsstudien sind in den Tabellen 5 und 6 sowie in Abb. 5 zusammengefaßt. Aus Vergleichsgründen sind in beiden Tabellen sowie in Abb. 5 zusätzlich die der Literatur entnommenen pA_{2-} [13] bzw. pK_{i-} Werte [21] des M1-selektiven Antagonisten Pirenzepin aufgeführt.

Die in den funktionellen Experimenten bestimmten pA_{2-} Werte (Tabelle 5) zeigen eine sehr gute Übereinstimmung mit den pK_{i-} Werten (Tabelle 6), die in den Radioligand-Kompetitionsexperimenten erhalten wurden (Abb. 5). Weiterhin bestätigen die im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse die von anderen

TABELLE 4. Bindungsabstände (pm) und -winkel (°) der Nichtwasserstoff-Atome von endo-Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-2]

Abstände			
O-Si	162.1(3)	C(11)-Si	186.7(4)
C(21)-Si	186.8(4)	C(31)-Si	186.3(4)
C(12)-C(11)	139.0(5)	C(16)-C(11)	137.9(5)
C(13)-C(12)	139.3(5)	C(14)-C(13)	137.5(7)
C(15)-C(14)	136.6(6)	C(16)-C(15)	138.2(6)
C(22)-C(21)	154.9(5)	C(25)-C(21)	156.8(5)
C(23)-C(22)	155.4(6)	C(24)-C(23)	151.9(6)
C(27)-C(23)	146.2(7)	C(25)-C(24)	154.8(6)
C(26)-C(25)	151.5(6)	C(27)-C(26)	130.3(7)
C(32)-C(31)	152.5(5)	N-C(32)	146.4(4)
C(33)-N	146.9(4)	C(37)-N	146.5(4)
C(34)-C(33)	152.1(5)	C(35)-C(34)	152.8(5)
C(36)-C(35)	151.9(5)	C(37)-C(36)	152.1(5)
Winkel			
C(11)-Si-O	103.2(2)	C(21)-Si-O	110.1(2)
C(21)-Si-C(11)	109.9(2)	C(31)-Si-O	112.3(2)
C(31)-Si-C(11)	109.9(2)	C(31)-Si-C(21)	111.1(2)
C(12)-C(11)-Si	119.2(3)	C(16)-C(11)-Si	123.9(3)
C(16)-C(11)-C(12)	116.9(4)	C(13)-C(12)-C(11)	121.3(4)
C(14)-C(13)-C(12)	120.1(4)	C(15)-C(14)-C(13)	119.3(4)
C(16)-C(15)-C(14)	120.4(4)	C(15)-C(16)-C(11)	122.0(4)
C(22)-C(21)-Si	116.3(3)	C(25)-C(21)-Si	119.7(3)
C(25)-C(21)-C(22)	101.8(3)	C(23)-C(22)-C(21)	103.2(3)
C(24)-C(23)-C(22)	100.7(3)	C(27)-C(23)-C(22)	106.0(4)
C(27)-C(23)-C(24)	101.8(5)	C(25)-C(24)-C(23)	93.1(3)
C(24)-C(25)-C(21)	100.0(4)	C(26)-C(25)-C(21)	106.6(3)
C(26)-C(25)-C(24)	98.6(4)	C(27)-C(26)-C(25)	108.0(4)
C(26)-C(27)-C(23)	108.1(5)	C(32)-C(31)-Si	115.3(2)
N-C(32)-C(31)	114.3(3)	C(33)-N-C(32)	111.3(3)
C(37)-N-C(32)	109.3(3)	C(37)-N-C(33)	110.1(3)
C(34)-C(33)-N	110.6(3)	C(35)-C(34)-C(33)	111.5(3)
C(36)-C(35)-C(34)	109.6(3)	C(37)-C(36)-C(35)	110.7(3)
C(36)-C(37)-N	111.4(3)		

TABELLE 5. Affinitäten (pA_2 -Werte) und Steigungen in den Arunlakshana-Schild-Darstellungen (in Klammern) von Biperiden, Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden an muscarinischen M1- (Vas deferens des Kaninchens), M2- (Meerschweinchen-Atrium) und M3-Rezeptoren (Meerschweinchen-Ileum). Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte für 8–16 Einzelexperimente. Die Steigungen waren in keinem Falle signifikant von 1.00 verschieden ($P > 0.05$). Aus Vergleichsgründen sind zusätzlich die Ref. 13 entnommenen pA_2 -Werte des M1-selektiven Antagonisten Pirenzepin aufgeführt.

Antagonist	pA_2 -Werte		
	M1	M2	M3
Biperiden	8.80 \pm 0.03 (1.06 \pm 0.06)	7.57 \pm 0.04 (1.06 \pm 0.07)	8.14 \pm 0.03 (1.00 \pm 0.06)
Sila-biperiden	8.79 \pm 0.02 (1.06 \pm 0.03)	7.79 \pm 0.02 (1.01 \pm 0.04)	8.21 \pm 0.02 (0.99 \pm 0.04)
<i>endo</i> -Sila-biperiden	8.72 \pm 0.04 (1.00 \pm 0.07)	7.73 \pm 0.06 (1.17 \pm 0.10)	8.11 \pm 0.03 (0.98 \pm 0.05)
Pirenzepin	8.24 \pm 0.06	6.82 \pm 0.03	6.88 \pm 0.04

Arbeitsgruppen bestimmten Affinitäten des Biperidens an nativen M1-, M2- und M3-Rezeptoren bzw. an klonierten humanen m1-, m2-, m3- und m4-Rezeptoren [22,23].

Sowohl Biperiden als auch Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden zeigten die höchste Affinität zu den M1- und die niedrigste Affinität (bis zu einem Faktor von 25: M1 > M2) zu den kardialen M2-Rezeptoren. Alle drei Verbindungen besitzen folgendes Affinitätsprofil: M1 > M4 > M3 > M2. Dieses Profil ist dem des Pirenzepins qualitativ sehr ähnlich (Tabellen 5 und 6; Abb. 5), jedoch sind die Affinitäten des Pirenzepins zu allen vier Muscarinrezeptor-Subtypen deutlich niedriger als die von Biperiden, Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden.

Auffällig ist, daß die Sila-Substitution von Biperiden (C/Si-Austausch: \rightarrow Sila-biperiden) keinen nennenswerten Einfluß auf die Affinität zu den einzelnen Muscarinrezeptor-Subtypen hat. Bemerkenswert ist

TABELLE 6. Affinitäten (pK_i -Werte) von Biperiden, Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden an muscarinischen M1- (NB-OK-1-Zellen), M2- (Rattenherz), M3-(Rattenpankreas) und M4-Rezeptoren (Rattenstriatum). Die pK_i -Werte wurden in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von [3H]-NMS als Radioligand ermittelt. Angegeben sind die Mittelwerte aus mindestens drei voneinander unabhängigen Experimenten. Aus Vergleichsgründen sind zusätzlich die Ref. 21 entnommenen pK_i -Werte des M1-selektiven Antagonisten Pirenzepin aufgeführt.

Antagonist	pK_i -Werte			
	M1	M2	M3	M4
Biperiden	9.1	7.7	8.1	8.4
Sila-biperiden	9.1	7.8	8.3	8.6
<i>endo</i> -Sila-biperiden	8.8	7.7	8.1	8.5
Pirenzepin	8.3	6.5	6.8	7.1

pA_2 -Werte: ■ M1, ● M2, ▲ M3 / pK_i -Werte: □ M1, ○ M2, ▲ M3

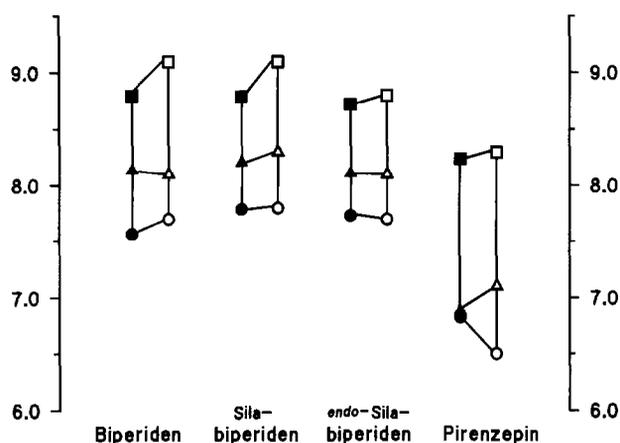


Abb. 5. Affinitätsprofile von Biperiden, Sila-biperiden, *endo*-Sila-biperiden und Pirenzepin an Muscarinrezeptor-Subtypen. Die pA_2 -Werte (geschlossene Symbole; Tabelle 5) wurden in funktionellen Experimenten am Vas deferens des Kaninchens (M1-Rezeptoren) sowie am Atrium (M2-Rezeptoren) und Ileum (M3-Rezeptoren) des Meerschweinchens bestimmt. Die pK_i -Werte (offene Symbole; Tabelle 6) wurden in Bindungsstudien unter Verwendung von [3H]-NMS als Radioligand an M1- (NB-OK-1-Zellen), M2- (Rattenherz) und M3-Rezeptoren (Rattenpankreas) ermittelt.

auch, daß sich die beiden diastereomeren Silicium-Verbindungen Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden in ihren Affinitäten zu den Muscarin-Rezeptoren praktisch nicht unterscheiden. Es ist allerdings eine noch offene Frage, ob die beobachteten Struktur-Wirkungs-Beziehungen durch eine (zumindest partielle) Epimerisierung von Sila-biperiden und *endo*-Sila-biperiden zu *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*exo*-2 bzw. *rac*-(Si*RS*,C2*RS*)-*endo*-2 beeinflusst werden (vgl. hierzu Abschnitt 2.1.).

3. Experimenteller Teil

3.1. Synthesen

Schmelzpunkte (nicht korrigiert): Kofler-Heiztischmikroskop der Fa. Reichert. 1H -NMR-Spektren [Lösungsmittel $CDCl_3$, interner Standard $CHCl_3$ ($\delta = 7.25$): AC-250- (250.1 MHz), AM-300- (300.1 MHz) und WM-400-Gerät (400.1 MHz) der Fa. Bruker; zur Kennzeichnung der H-Atome siehe Abb. 6. ^{13}C -NMR-Spektren [Lösungsmittel und interner Standard $CDCl_3$ ($\delta = 77.05$): AC-250- (62.9 MHz), AM-300- (75.5 MHz)

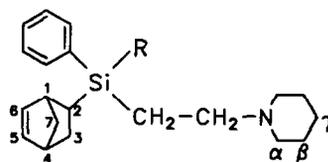


Abb. 6. Kennzeichnung der Atome für die Angabe der 1H - und ^{13}C -NMR-Daten (R = OCH_3 , OH).

und WM-400-Gerät (100.6 MHz) der Fa. Bruker; zur Kennzeichnung der C-Atome siehe Abb. 6. Die Signalzuordnungen wurden aus DEPT-Experimenten und im Falle der Endstufen aus ^1H , ^1H - und ^1H , ^{13}C -COSY-Experimenten abgeleitet; die Ergebnisse dieser Experimente sind in den Zuordnungen enthalten. ^{29}Si -NMR-Spektren [Lösungsmittel CDCl_3 , interner Standard TMS ($\delta = 0$)]: AC-250-Gerät der Fa. Bruker (49.7 MHz). EI-MS-Spektren (70 eV): Gerät Finnigan-MAT-711. Die angegebenen m/z -Werte für die Molekülionen und intensivitätsstärksten Fragmentionen basieren auf den Massenzahlen der jeweiligen Isotope mit der größten natürlichen relativen Häufigkeit (^1H , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O , ^{28}Si). Alle Synthesen wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in getrockneten Lösungsmitteln (Siedebereich des verwendeten Petrolethers 40–65°C) unter Stickstoff durchgeführt.

3.1.1. *rac*-(SiRS,C2RS)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(2-piperidinoethyl)silanol / *rac*-(SiRS,C2SR)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(2-piperidinoethyl)silanol / *rac*-(SiRS,C2RS)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(2-piperidinoethyl)silanol / *rac*-(SiRS,C2SR)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(2-piperidinoethyl)silanol [*rac*-(SiRS,C2RS)-endo-2 / *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-2 / *rac*-(SiRS,C2RS)-exo-2 / *rac*-(SiRS,C2SR)-exo-2]

Zu einer Lösung von 20.9 g (61.2 mmol) *rac*-(SiRS,C2RS)-endo-9 / *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-9 / *rac*-(SiRS,C2RS)-exo-9 / *rac*-(SiRS,C2SR)-exo-9 (7:7:3:3) in 400 ml 2-Propanol wurden bei Raumtemperatur unter Rühren 100 ml einer 0.1 M wässrigen KOH-Lösung gegeben. Man rührte 3 d bei Raumtemperatur, befreite unter vermindertem Druck bei 40°C von den leichtflüchtigen Anteilen, nahm den Rückstand in 300 ml Diethylether auf, wusch fünfmal mit jeweils 30 ml Wasser, trocknete die etherische Lösung über Magnesiumsulfat und entfernte im Vakuum das Lösungsmittel. Ausb. 18.6 g (93%) eines Feststoffes, der sich aus einem Gemisch aus *rac*-(SiRS,C2RS)-endo-2 / *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-2 / *rac*-(SiRS,C2RS)-exo-2 und *rac*-(SiRS,C2SR)-exo-2 (Mol-Verhältnis 7:7:3:3, ^{13}C -NMR) zusammensetzte. Durch fraktionierende Kristallisation dieses Gemisches (^{13}C -NMR-Kontrolle) wurden *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-2 und *rac*-(SiRS,C2SR)-exo-2 rein isoliert (siehe nachfolgende Angaben).

3.1.1.1. Gewinnung von endo-Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-endo-2] 63.2 g eines Gemisches aus *rac*-(SiRS,C2RS)-endo-2 / *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-2 / *rac*-(SiRS,C2RS)-exo-2 und *rac*-(SiRS,C2SR)-exo-2 (7:7:3:3) wurden in 120 ml Diethylether/*n*-Hexan (1/1, v/v) gelöst. Man ließ diese Lösung 14 d bei

–10°C ungestört stehen, isolierte die ausgefallenen Kristalle (19.7 g) durch Filtration und kristallisierte sechsmal aus Diethylether um (Kristallisation durch langsames Verdunsten des Lösungsmittels bei Raumtemperatur). Ausb. 5.2 g weiße, nadelförmige Kristalle; Schmp. 95–98°C. ^1H -NMR (400 MHz): δ 0.78 (ddd, 1H, $^2J = 15.5$ Hz, $^3J = 5.6$ Hz, $^3J = 5.6$ Hz, SiCH₂); 1.07 (ddd, 1H, $^2J = 15.5$ Hz, $^3J = 6.3$ Hz, $^3J = 9.5$ Hz, SiCH₂); 1.13 (ddd, 1H, $^2J_{7,7'} = 7.8$ Hz, $^3J_{1,7} = 1.6$ Hz, $^3J_{4,7} = 1.6$ Hz, H7); 1.16 (ddd, 1H, $^2J_{3endo,3exo} = 11.3$ Hz, $^3J_{2,3endo} = 5.6$ Hz, $^4J_{3endo,7'} = 1.9$ Hz, endo-H3); 1.37 (ddd, 1H, $^3J_{1,2} = 2.9$ Hz, $^3J_{2,3endo} = 5.6$ Hz, $^3J_{2,3exo} = 9.6$ Hz, H2); 1.36–1.40 (m, 1H, H7'); 1.39–1.46 (m, 2H, γ -H); 1.51–1.62 (m, 4H, β -H); 1.91 (ddd, 1H, $^2J_{3endo,3exo} = 11.3$ Hz, $^3J_{2,3exo} = 9.6$ Hz, $^3J_{3exo,4} = 3.8$ Hz, exo-H3); 2.1–2.6 (m, 6H, NCH₂, α -H); 2.88 (breites "s", 1H, H4); 2.98 (breites "s", 1H, H1); 5.95 (dd, 1H, $^3J_{1,6} = 2.8$ Hz, $^3J_{5,6} = 5.6$ Hz, H6); 5.99 (dd, 1H, $^3J_{4,5} = 3.0$ Hz, $^3J_{5,6} = 5.6$ Hz, H5); 7.27–7.36 und 7.56–7.62 (m, 3H bzw. 2H, SiC₆H₅). ^{13}C -NMR: δ 11.2 (SiCH₂); 24.2 (γ -C); 25.78 (C2); 25.83 (β -C); 26.8 (C3); 42.2 (C4); 44.2 (C1); 51.2 (C7); 54.1 (α -C); 54.6 (NCH₂); 127.5 (*m*-C); 128.8 (*p*-C); 133.4 (*o*-C); 134.0 (CH); 135.5 (CH); 138.9 (*i*-C). ^{29}Si -NMR: δ 5.4. EI-MS: m/z 327 (10%, M⁺); 98 (100%, CH₂=NC₅H₁₀⁺). Anal. Gef.: C, 73.9; H, 9.0; Si, 8.8. C₂₀H₂₉NOSi (327.5) ber.: C, 73.34; H, 8.92; Si, 8.57%.

3.1.1.2. Gewinnung von Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-exo-2] Ein Teil der bei der oben beschriebenen Gewinnung von *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-2 durch Umkristallisieren aus Diethylether anfallenden Mutterlaugen wurde vom Lösungsmittel befreit, und man erhielt 2.72 g eines Feststoffes, der sich aus 20% *rac*-(SiRS,C2RS)-endo-2, 25% *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-2, 20% *rac*-(SiRS,C2RS)-exo-2 und 35% *rac*-(SiRS,C2SR)-exo-2 (^{13}C -NMR) zusammensetzte. Man löste diesen Feststoff in 8 ml Diethylether, ließ die resultierende Lösung 3 d bei Raumtemperatur ungestört stehen und isolierte die ausgefallenen Kristalle (2.24 g) durch Filtration. Die größeren, blättchenförmigen Kristalle (1.62 g) wurden durch mechanische Auslese von den kleineren, nadelförmigen Kristallen (0.62 g) abgetrennt und vierzehnmals aus Diethylether umkristallisiert (Kristallisation durch langsames Abkühlen einer siedenden Lösung auf Raumtemperatur). Ausb. 40 mg farblose Kristalle, Schmp. 100–102°C. ^1H -NMR (300 MHz): δ 0.64 (ddd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $^3J_{2,3endo} = 9.7$ Hz, $^3J_{2,3exo} = 5.8$ Hz, H2); 0.90–0.99 (m, 1H, SiCH₂); 1.03–1.27 (m, 4H, endo-H3, H7, H7' und 1H von SiCH₂); 1.44–1.70 (m, 6H, β -H, γ -H); 1.72 (ddd, 1H, $^2J_{3endo,3exo} = 11.3$ Hz, $^3J_{2,3exo} = 5.8$ Hz, $^3J_{3exo,4} = 3.5$ Hz, exo-H3); 2.19–2.68 (m, 6H, NCH₂, α -H); 2.88 (breites "s", 1H, H4); 2.95–

3.00 (m, 1H, H1); 5.94 (dd, 1H, $^3J_{4,5} = 3.0$ Hz, $^3J_{5,6} = 5.6$ Hz, H5); 6.16 (dd, 1H, $^3J_{1,6} = 3.0$ Hz, $^3J_{5,6} = 5.6$ Hz, H6); 7.26–7.38 und 7.54–7.66 (m, 3H bzw. 2H, SiC₆H₅). ¹³C-NMR: δ 10.9 (SiCH₃); 24.3 (γ-C); 25.0 (C2); 26.1 (β-C); 26.5 (C3); 42.5 (CH); 42.9 (CH); 46.9 (C7); 54.3 (α-C); 54.9 (NCH₂); 127.7 (m-C); 129.1 (p-C); 133.6 (o-C); 134.1 (CH); 137.9 (CH); 138.7 (i-C). ²⁹Si-NMR: δ 5.1. EI-MS: *m/z* 327 (10%, M⁺); 98 (100%, CH₂=NC₅H₁₀⁺). Anal. Gef.: C, 73.7; H, 9.0; Si, 8.6. C₂₀H₂₉NOSi (327.5) ber.: C, 73.34; H, 8.92; Si, 8.57%.

3.1.2. Trichlor(vinyl)silan (3)

Trichlor(vinyl)silan (3) stand als Handelsprodukt (Merck) zur Verfügung.

3.1.3. *rac*-(C2RS)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)trichlorsilan / *rac*-(C2RS)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)trichlorsilan [*rac*-(C2RS)-endo-4 / *rac*-(C2RS)-exo-4]

Ein Gemisch aus *rac*-(C2RS)-endo-4 und *rac*-(C2RS)-exo-4 (Mol-Verhältnis 7:3, ¹H-NMR) wurde gemäß Ref. 19 hergestellt; Ausb. 89%.

3.1.4. *rac*-(C2RS)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)trimethoxysilan / *rac*-(C2RS)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)trimethoxysilan [*rac*-(C2RS)-endo-5 / *rac*-(C2RS)-exo-5]

Zu einer Lösung von 352 g (1.55 mol) *rac*-(C2RS)-endo-4/*rac*-(C2RS)-exo-4 (7:3) und 475 g (4.69 mol) Triethylamin in 6 L Petrolether wurden bei Raumtemperatur innerhalb von 45 min unter kräftigem Rühren 155 g (4.84 mol) Methanol getropft. Man rührte 20 min bei Raumtemperatur, filtrierte den Niederschlag ab, wusch diesen mit Petrolether, vereinigte Filtrat und Waschlösung, befreite unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel und destillierte den Rückstand im Vakuum fraktionierend über eine Vigreux-Kolonne. Ausb. 277 g (84%) einer farblosen Flüssigkeit; Sdp. 50–53°C/0.1 Torr; *endo*/*exo*-Verhältnis 7:3 (¹H-NMR). ¹H-NMR (*endo*/*exo*, 300 MHz): δ 0.4–0.5, 1.0–1.5 und 1.7–2.1 (m, 5H, H2, H3, H7); 2.9–3.0 (m, 2H, H1, H4); 3.53 (*endo*) und 3.60 (*exo*) (s, 9H, OCH₃); 6.0–6.2 (m, 2H, H5, H6). ¹³C-NMR (*endo*): δ 20.1 (C2); 26.7 (C3); 42.0 (CH); 44.0 (CH); 50.3 (OCH₃); 50.7 (C7); 134.6 (CH); 135.3 (CH). ¹³C-NMR (*exo*): δ 19.5 (C2); 26.0 (C3); 42.4 (CH); 42.6 (CH); 47.0 (C7); 50.5 (OCH₃); 133.6 (CH); 137.4 (CH). ²⁹Si-NMR (*endo*): δ –17.8. ²⁹Si-NMR (*exo*): δ –17.2. EI-MS: *m/z* 214 (45%, M⁺); 121 (100%, M⁺ – C₇H₉). Anal. Gef.: C, 56.1; H, 8.5; Si, 13.0. C₁₀H₁₈O₃Si (214.3) ber.: C, 56.04; H, 8.46; Si, 13.10%.

3.1.5. *rac*-(C2RS)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)dimethoxy(phenyl)silan / *rac*-(C2RS)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)dimethoxy(phenyl)silan [*rac*-(C2RS)-endo-6 / *rac*-(C2RS)-exo-6]

Ein aus 16.5 g (0.68 mol) Magnesium und 107 g (0.68 mol) Brombenzol in 300 ml Diethylether hergestelltes Grignard-Reagenz wurde bei 0°C innerhalb von 1.5 h unter kräftigem Rühren zu einer Lösung von 122 g (0.57 mol) *rac*-(C2RS)-endo-5/*rac*-(C2RS)-exo-5 (7:3) in 300 ml Diethylether getropft. Man rührte 2 h bei Raumtemperatur, filtrierte den Niederschlag ab, wusch diesen mit Petrolether, vereinigte Filtrat und Waschlösung, entfernte das Lösungsmittel unter vermindertem Druck und destillierte den Rückstand im Vakuum fraktionierend über eine Vigreux-Kolonne. Ausb. 137 g (92%) einer farblosen Flüssigkeit; Sdp. 113–116°C/0.1 Torr; *endo*/*exo*-Verhältnis 7:3 (¹H-NMR). ¹H-NMR (*endo*/*exo*, 250 MHz): δ 0.7–0.8, 1.0–1.5 und 1.8–2.0 (m, 5H, H2, H3, H7); 2.8–3.0 (m, 2H, H1, H4); 3.58 und 3.59 (*endo*) sowie 3.646 und 3.648 (*exo*) (s, 6H, OCH₃); 5.9–6.1 (m, 2H, H5, H6); 7.3–7.7 (m, 5H, SiC₆H₅). ¹³C-NMR (*endo*): δ 23.2 (C2); 26.9 (C3); 42.2 (CH); 44.2 (CH); 50.65 und 50.69 (OCH₃); 50.9 (C7); 127.7 (m-C); 129.7 (p-C); 133.5 (i-C); 134.5 (o-C); 134.6 (CH); 135.2 (CH). ¹³C-NMR (*exo*): δ 22.4 (C2); 26.2 (C3); 42.5 (CH); 42.7 (CH); 46.9 (C7); 50.9 (OCH₃); 127.9 (m-C); 130.0 (p-C); 132.9 (i-C); 133.8 (CH); 134.6 (o-C); 137.8 (CH). ²⁹Si-NMR (*endo*): δ –17.8. ²⁹Si-NMR (*exo*): δ –17.3. EI-MS: *m/z* 260 (23%, M⁺); 167 (100%, M⁺ – C₇H₉). Anal. Gef.: C, 68.8; H, 7.7; Si, 10.8. C₁₅H₂₀O₂Si (260.4) ber.: C, 69.19; H, 7.74; Si, 10.79%.

3.1.6. *rac*-(SiRS,C2RS)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(vinyl)silan / *rac*-(SiRS,C2SR)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(vinyl)silan / *rac*-(SiRS,C2RS)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(vinyl)silan / *rac*-(SiRS,C2SR)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(vinyl)silan [*rac*-(SiRS,C2RS)-endo-7 / *rac*-(SiRS,C2SR)-endo-7 / *rac*-(SiRS,C2RS)-exo-7 / *rac*-(SiRS,C2SR)-exo-7]

Zu einer Lösung von 50.1 g (0.19 mol) *rac*-(C2RS)-endo-6/*rac*-(C2RS)-exo-6 (7:3) in 200 ml Diethylether wurden unter Rühren bei 0°C innerhalb von 2 h 115 ml einer 1.75 M Lösung von Vinylmagnesiumchlorid in Tetrahydrofuran (0.2 mol CH₂=CHMgCl) getropft. Man rührte 2 h bei Raumtemperatur, filtrierte den Niederschlag ab, befreite das Filtrat unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel, versetzte das Filtrat mit *n*-Hexan, filtrierte erneut, befreite das Filtrat unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel und destillierte den Rückstand im Vakuum fraktionierend über eine Vigreux-Kolonne. Es wurden 42.6 g einer farb-

losen Flüssigkeit (Sdp. 94–96°C/0.05 Torr) erhalten. 40.2 g dieser Flüssigkeit wurden in 300 ml Diethylether gelöst und bei Raumtemperatur unter Rühren mit 6.10 g (0.16 mol) Lithiumaluminiumhydrid versetzt. Man rührte 18 h unter Rückfluß, filtrierte den Niederschlag ab, wusch diesen zweimal mit jeweils 50 ml Diethylether, vereinigte Filtrat und Waschlösungen und tropfte zu dieser Lösung bei Raumtemperatur unter kräftigem Rühren 100 ml einer 10%igen wässrigen Ammoniumhydrochlorid-Lösung. Anschließend trennte man die etherische Phase ab, trocknete diese über Magnesiumsulfat, entfernte unter vermindertem Druck das Lösungsmittel und destillierte den Rückstand im Vakuum fraktionierend über eine Vigreux-Kolonnen. Ausb. 21.5 g (52%) einer farblosen Flüssigkeit; Sdp. 88–91°C/0.1 Torr; Mol-Verhältnis *rac*-(SiRS,C2RS)-*endo*-7/*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-7/*rac*-(SiRS,C2RS)-*exo*-7/*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-7 7:7:3:3 (¹H-NMR). ¹H-NMR (*endo*/*exo*, 300 MHz): δ 0.7–0.8 und 0.9–2.1 (m, 5H, H₂, H₃, H₇); 2.9–3.2 (m, 2H, H₁, H₄); 4.3–4.4 (*endo*) und 4.6–4.7 (*exo*) (m, 1H, SiH); 5.9–6.5 (m, 5H, SiCH=CH₂, H₅, H₆); 7.4–7.7 (m, 5H, SiC₆H₅). ¹³C-NMR (*endo*): δ 22.15/22.19 (C₂); 28.0/28.1 (C₃); 42.46/42.51 (CH); 44.83/44.87 (CH); 51.0 (C₇); 127.8/127.9 (*m*-C); 129.27/129.30 (*p*-C); 133.95 (CH); 134.1/134.2 (CH); 134.8/135.0 (*i*-C); 135.0/135.1 (*o*-C); 135.0/135.2 (SiCH=CH₂); 135.8/135.9 (CH). ¹³C-NMR (*exo*): δ 21.4 (C₂); 28.1/28.3 (C₃); 42.96/43.00 (CH); 43.55/43.61 (CH); 46.7 (C₇); 127.9/128.0 (*m*-C); 129.4/129.5 (*p*-C); 133.5/133.7 (CH); 133.95/134.04 (CH); 134.45/134.65 (*i*-C); 135.11/135.14 (*o*-C); 135.6/135.7 (SiCH=CH₂); 137.68/137.72 (CH). ²⁹Si-NMR (*endo*): δ –12.35/–13.01. ²⁹Si-NMR (*exo*): δ –10.98/–11.14. EI-MS: *m/z* 226 (12%, M⁺); 159 (100%, C₁₀H₁₁Si⁺). Anal. Gef.: C, 79.7; H, 8.0; Si, 12.5. C₁₅H₁₈Si (226.4) ber.: C, 79.58; H, 8.01; Si, 12.41%.

3.1.7. *rac*-(SiRS,C2RS)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(piperidino)(2-piperidinoethyl)silan / *rac*-(SiRS,C2SR)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(piperidino)(2-piperidinoethyl)silan / *rac*-(SiRS,C2RS)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(piperidino)(2-piperidinoethyl)silan / *rac*-(SiRS,C2SR)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)phenyl(piperidino)(2-piperidinoethyl)silan [*rac*-(SiRS,C2RS)-*endo*-8 / *rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-8 / *rac*-(SiRS,C2RS)-*exo*-8 / *rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-8]

Zu einer Lösung von 103 g (1.21 mol) Piperidin in 280 ml Tetrahydrofuran wurden unter Rühren bei 40°C innerhalb von 40 min 125 ml einer 1.6 M n-Butyllithium-Lösung in Hexan (0.20 mol n-BuLi) getropft. Dann rührte man 30 min bei 40°C, versetzte innerhalb von 1 h tropfenweise mit einer Lösung von 77.5 g (0.34

mol) *rac*-(SiRS,C2RS)-*endo*-7/*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-7/*rac*-(SiRS,C2RS)-*exo*-7/*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-7 (7:7:3:3) in 200 ml Tetrahydrofuran und rührte weitere 3 h bei 40°C und 12 h bei Raumtemperatur. Zu diesem Reaktionsgemisch tropfte man eine Lösung von 135 g (1.33 mol) Triethylamin und 56.1 g (0.52 mol) Chlortrimethylsilan in 130 ml Diethylether, rührte 4 h bei Raumtemperatur, filtrierte den Niederschlag ab, wusch diesen mit 150 ml Diethylether, vereinigte Filtrat und Waschlösung und befreite unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel. Der Rückstand wurde mit 300 ml n-Hexan versetzt, und man filtrierte erneut. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in 10-g-Portionen im Kugelrohrverdampfer (200°C/0.05 Torr) destilliert. Ausb. 111.1 g (82%) einer farblosen Flüssigkeit; Mol-Verhältnis *rac*-(SiRS,C2RS)-*endo*-8/*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-8/*rac*-(SiRS,C2RS)-*exo*-8/*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-8 7:7:3:3 (¹³C-NMR). ¹H-NMR (*endo*/*exo*, 250 MHz): δ 0.6–3.1 (m, 31H, aliph. H); 5.8–6.3 (m, 2H, olefin. H); 6.2–7.7 (m, 5H, SiC₆H₅). ²⁹Si-NMR (*endo*): δ –1.84/–1.22. ²⁹Si-NMR (*exo*): δ –1.03/–1.25. EI-MS: *m/z* 394 (<1%, M⁺); 309 (100%). Anal. Gef.: C, 75.9; H, 10.1; N, 6.9; Si, 7.2. C₂₅H₃₈N₂Si (394.7) ber.: C, 76.08; H, 9.70; N, 71.0; Si, 7.12%.

3.1.8. *rac*-(SiRS,C2RS)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)methoxy(phenyl)(2-piperidinoethyl)silan / *rac*-(SiRS,C2SR)-(endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)methoxy(phenyl)(2-piperidinoethyl)silan / *rac*-(SiRS,C2RS)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)methoxy(phenyl)(2-piperidinoethyl)silan / *rac*-(SiRS,C2SR)-(exo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)methoxy(phenyl)(2-piperidinoethyl)silan [*rac*-(SiRS,C2RS)-*endo*-9 / *rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-9 / *rac*-(SiRS,C2RS)-*exo*-9 / *rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-9]

Eine Mischung aus 111 g (0.28 mol) *rac*-(SiRS,C2RS)-*endo*-8/*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-8/*rac*-(SiRS,C2RS)-*exo*-8/*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-8 (7:7:3:3) und 30 ml (0.74 mol) Methanol wurde 20 h bei 60°C gerührt. Anschließend entfernte man unter vermindertem Druck die leichtflüchtigen Bestandteile und destillierte den Rückstand zunächst in 10-g-Portionen im Kugelrohrverdampfer und sodann über eine Vigreux-Kolonnen. Ausb. 90.6 g (94%) einer farblosen Flüssigkeit; Sdp. 157–160°C/0.01 Torr; Mol-Verhältnis *rac*-(SiRS,C2RS)-*endo*-9/*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-9/*rac*-(SiRS,C2RS)-*exo*-9/*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-9 7:7:3:3 (¹H-NMR). ¹H-NMR (*endo*/*exo*, 300 MHz): δ 0.6–3.0 (m, 21H, aliph. H); 3.46/3.50 (*endo*) und 3.538/3.544 (*exo*) (s, 3H, OCH₃); 5.9–6.1 (m, 2H, olefin. H); 7.3–7.6 (m, 5H, SiC₆H₅). ¹³C-NMR (*endo*): δ 11.4/11.7 (SiCH₂); 24.5 (*γ*-C); 24.60/24.64 (C₂); 26.0 (*β*-C); 27.2/27.3 (C₃); 42.27/42.29 (C₄); 44.4/44.5 (C₁); 51.2

(C7); 51.27/51.31 (OCH₃); 53.8 (NCH₂); 54.0 (α -C); 127.59/127.62 (m -C); 129.20/129.24 (p -C); 134.0 (o -C); 134.3/134.4 (CH); 135.4/135.5 (CH); 136.0/136.1 (i -C). ¹³C-NMR (*exo*): δ 11.0/11.2 (SiCH₂); 23.6/23.7 (C2); 24.5 (γ -C); 26.0 (β -C); 26.4/26.5 (C3); 42.4/42.5 (CH); 42.7/42.8 (CH); 46.8/46.9 (C7); 51.4 (OCH₃); 53.7 (NCH₂); 54.0 (α -C); 127.7 (m -C); 129.4 (p -C); 133.6/133.7 (CH); 134.1 (o -C); 135.3/135.5 (i -C); 138.0 (CH). ²⁹Si-NMR (*endo*): δ 6.3/6.5. ²⁹Si-NMR (*exo*): δ 6.63/6.64. EI-MS: m/z 341 (84%, M⁺); 98 (100%, CH₂=NC₅H₁₀⁺). Anal. Gef.: C, 73.8; H, 9.2; N, 4.3; Si, 8.3. C₂₁H₃₁NOSi (341.6) ber.: C, 73.85; H, 9.15; N, 4.10; Si, 8.22%.

3.2. Kristallstrukturanalysen

3.2.1. Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*exo*-2]

Sila-biperiden kristallisiert aus Diethylether in der monoklinen Raumgruppe $P2_1/c$; $a = 1078.98(10)$, $b = 1546.67(13)$, $c = 1207.79(9)$ pm, $\beta = 111.579(8)^\circ$, $Z = 4$, $d_{\text{ber}} = 1.208$ g cm⁻³. Die Beugungsintensitäten wurden bei 20°C auf einem Syntex-Vierkreisdiffraktometer (Typ $P2_1$) unter Verwendung von Graphit-monochromatisierter Cu-K α -Strahlung ($\lambda = 154.178$ pm) im θ - 2θ -Betrieb ($3^\circ \leq 2\theta \leq 135^\circ$) gemessen. Die Meßgeschwindigkeit variierte in Abhängigkeit von der Reflexintensität zwischen $2.93^\circ \text{ min}^{-1}$ und $29.30^\circ \text{ min}^{-1}$. Die Daten wurden bezüglich Lorentz- und Polarisations-effekten korrigiert, eine Absorptionskorrektur wurde jedoch nicht durchgeführt ($\mu = 1.037$ mm⁻¹). Die Struktur wurde mit Direkten Methoden und Differenz-Fourier-Synthesen gelöst. Für die Verfeinerung wurden 3116 von 3360 gemessenen unabhängigen Reflexen herangezogen ($I \geq 2.5\sigma(I)$). Die Verfeinerung konvergierte bei $R = 0.040$ ($R_w = 0.046$). Eine abschließende Differenz-Fourier-Synthese ergab für die größten Elektronendichte-Maxima Werte von 0.26×10^{-6} e pm⁻³. Neben eigenen Programmen wurde das Programm SHELX-76 [24] verwendet. Es wurden komplexe Atomformfaktoren [25] verwendet.

3.2.2. endo-Sila-biperiden [*rac*-(SiRS,C2SR)-*endo*-2]

endo-Sila-biperiden kristallisiert aus Diethylether in der orthorhombischen Raumgruppe $Pbca$; $a = 1610.69(7)$, $b = 1223.73(4)$, $c = 1914.63(9)$ pm, $Z = 8$, $d_{\text{ber}} = 1.153$ g cm⁻³. Die Beugungsintensitäten wurden bei 20°C auf einem Syntex-Vierkreisdiffraktometer (Typ $P2_1$) unter Verwendung von Graphit-monochromatisierter Mo-K α -Strahlung ($\lambda = 71.069$ pm) im θ - 2θ -Betrieb ($3^\circ \leq 2\theta \leq 50^\circ$) gemessen. Die Meßgeschwindigkeit variierte in Abhängigkeit von der Reflexintensität zwischen $2.93^\circ \text{ min}^{-1}$ und $29.30^\circ \text{ min}^{-1}$. Die Daten wurden bezüglich Lorentz- und Polarisations-effekten korrigiert, eine Absorptionskorrektur wurde

jedoch nicht durchgeführt ($\mu = 0.094$ mm⁻¹). Die Struktur wurde mit Direkten Methoden und Differenz-Fourier-Synthesen gelöst. Für die Verfeinerung wurden 2337 von 3337 gemessenen unabhängigen Reflexen herangezogen ($I \geq 2.5\sigma(I)$). Die Verfeinerung konvergierte bei $R = 0.074$ ($R_w = 0.068$). Eine abschließende Differenz-Fourier-Synthese ergab für die größten Elektronendichte-Maxima Werte von 0.32×10^{-6} e pm⁻³. Neben eigenen Programmen wurde das Programm SHELX-76 [24] verwendet. Es wurden komplexe Atomformfaktoren [25] benutzt.

Weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturanalysen können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-57432, der Autorennamen und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

3.3. Pharmakologische Untersuchungen

3.3.1. Vas deferens des Kaninchens

Die Untersuchungen am Vas deferens des Kaninchens erfolgten weitgehend nach der in Ref. 26 beschriebenen Methodik. Männliche weiße New-Zealand-Kaninchen wurden durch *i.v.*-Injektion von Pentobarbital-Natrium (120 mg Kg⁻¹) getötet. Die Vasa deferentia wurden entnommen und Segmente von 1.5 cm Länge in einem 6-ml-Organbad an einem isometrischen DMS-Aufnehmer fixiert. Als Badflüssigkeit [pH 7.4; Begasung mit O₂/CO₂ (95/5, v/v)] diente ein modifizierter Krebs-Puffer (Ca²⁺-Konzentration 1.0 mM), der zur Blockade präsynaptischer α_2 -Rezeptoren Yohimbin (1.0 μ M) enthielt. Nach einer Äquilibrationszeit von 30 min (Vorspannung 750 mg) wurden durch kontinuierliche Feldstimulation (0.5 ms, 40 V, 0.05 Hz) neurogene Einzelkontraktionen ausgelöst und auf einem Mehrkanalschreiber registriert. Diese Twitchkontraktionen wurden durch den M1-selektiven Agonisten [4-(4-Chlorphenylcarbamoxy)-2-butinyl]trimethylammoniumiodid (4-CIMcN-A-343) Konzentrations-abhängig gehemmt.

3.3.2. Vorhof und Ileum des Meerschweinchens

Meerschweinchen beiderlei Geschlechts wurden durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet. Der linke Vorhof und Streifen der Longitudinalmuskulatur des Ileum wurden in 6-ml-Organbäder überführt und unter einer Vorspannung von 500 mg an DMS-Aufnehmern befestigt. Als Badflüssigkeit diente eine mit O₂/CO₂ (95/5, v/v) durchströmte Tyrode-Lösung (pH 7.4, 32°C). Die Vorhöfe wurden elektrisch stimuliert (3 ms, 5 V, 2 Hz). Als Agonist wurde Are-

caindinpropargylester verwendet. Die durch den Agonisten am Vorhof ausgelösten negativ inotropen Effekte wurden unter isometrischen und die Kontraktionen der Ileum-Muskulatur unter isotonischen Bedingungen auf einem Mehrkanalschreiber registriert. Für weitere experimentelle Details siehe Ref. 13.

3.3.3. Affinität der Antagonisten

Mit den oben genannten Agonisten wurden an den drei Geweben kumulative Konzentrations-Wirkungskurven in Ab- und Anwesenheit der Antagonisten erstellt und die EC_{50} -Werte der Agonisten graphisch ermittelt (halblogarithmische Darstellung). Es wurden jeweils 3–5 Antagonisten-Konzentrationen (log Konzentrationsdifferenz = 0,5; $n = 4–6$) getestet (Inkubationszeit 30–60 min). Die Bestimmung der antimuscarinischen Potenz (pA_2 -Werte) erfolgte gemäß Ref. 27. Da die Steigungen der Regressionsgeraden in den Arunlakshana-Schild-Darstellungen in keinem Fall von dem für einen kompetitiven Antagonismus theoretisch zu fordernden Wert von 1,00 signifikant abwichen, wurden die pA_2 -Werte der Antagonisten als Abszissenabschnitt der Regressionsgerade mit festgelegter Steigung von 1,00 ("constrained plot") berechnet [28].

Die pharmakologischen Kenngrößen sind in Tabelle 5 als Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte angegeben. Die linearen Regressionsanalysen wurden nach der Methode der kleinsten Abweichungsquadrate durchgeführt. Die Prüfung auf Signifikanz des Unterschiedes zweier Mittelwerte erfolgte mit dem t-Test nach Student [28] auf einem Signifikanzniveau von $P < 0,05$.

3.3.4. Pharmaka

Yohimbhydrochlorid wurde von der Firma Sigma (Deisenhofen, Deutschland) bezogen. Arecaidinpropargylester [29] und 4-Cl-McN-A-343 [30] wurden nach Literaturvorschriften synthetisiert.

3.4. Rezeptor-Bindungsstudien

Die Radioligand-Kompetitionsexperimente wurden mit Homogenaten von NB-OK-1-Zellen (M1-Rezeptoren) sowie mit Homogenaten des Rattenherzens (M2-Rezeptoren), Rattenpankreas (M3-Rezeptoren) und Rattenstriatum (M4-Rezeptoren) in einem Natriumphosphat-Puffer (50 mM, 25°C) durchgeführt, der zusätzlich [3 H]-N-Methylscopolamin ([3 H]-NMS), steigende Konzentrationen der zu testenden Antagonisten sowie 2 mM $MgCl_2$ enthielt (Gesamtvolumen 1,2 ml). Bei den Experimenten mit Homogenaten des Rattenpankreas enthielt der Inkubationspuffer außerdem 1% Rinderserum-Albumin. Im Folgenden werden die experimentellen Bedingungen und die Auswertung

kurz beschrieben. Für weitere experimentelle Details siehe Ref. 31 und Ref. 32.

3.4.1. NB-OK-1-Zellen

80 μ l des Zellhomogenates wurden 2 h mit 0,25 nM [3 H]-NMS (entsprechend $2 \times K_D$ des Radioliganden) und steigenden Antagonisten-Konzentrationen inkubiert. Der Proteingehalt von 80 μ l Homogenat betrug etwa 200 μ g.

3.4.2. Rattenherz

80 μ l des Herzhomogenates (entsprechend 400–500 μ g Protein) wurden 2 h mit 1,0 nM [3 H]-NMS (entsprechend $2 \times K_D$ des Radioliganden) und steigenden Antagonisten-Konzentrationen inkubiert.

3.4.3. Rattenpankreas

1,0 ml (entsprechend 800–1000 μ g Protein) Pankreashomogenat wurde 4 h mit 0,24 nM [3 H]-NMS (entsprechend $2 \times K_D$ des Radioliganden an den M3-Rezeptoren des Pankreas) und steigenden Antagonisten-Konzentrationen inkubiert.

3.4.4. Rattenstriatum

Im Rattenstriatum bindet [3 H]-NMS an vier Muscarinrezeptor-Subtypen (M1–M4). Um die ausschließliche Bindung an die M4-Rezeptoren zu bestimmen, wurde die Tatsache ausgenutzt, daß [3 H]-NMS wesentlich schneller von den M1- und M2-Rezeptoren dissoziiert als von den M4- und M3-Rezeptoren [31,32]. Es wurde wie folgt vorgegangen.

80 μ l des Striatumhomogenates (entsprechend 30 μ g Protein) wurden 2 h mit 0,24 nM [3 H]-NMS und steigenden Konzentrationen der zu testenden Antagonisten inkubiert. Dann wurde Atropin (1 μ M; dies entspricht etwa $1000 \times K_D$ von Atropin) hinzugegeben, 35 min gewartet und sodann filtriert. In früheren Kontrolluntersuchungen konnte gezeigt werden, daß nach der Dissoziationsperiode von 35 min der Radioligand 85% M4- und 15% M3-Rezeptoren besetzt [31,32]. Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Kompetitionsexperimenten störte die geringe [3 H]-NMS-Besetzung der M3-Rezeptoren von 15% die exakte Ermittlung der M4-Affinitäten nicht. Die eingesetzte [3 H]-NMS-Konzentration (0,24 nM) entspricht etwa $5 \times K_D$ von [3 H]-NMS an den M4-Rezeptoren.

Am Ende der Inkubationszeit wurde mit 2 ml eiskaltem Natriumphosphat-Puffer (50 mM, pH 7,4) versetzt und das gebundene vom freien [3 H]-NMS durch schnelle Filtration über Whatman-GF/C-Glasfaser-Filter getrennt. Alle Filter wurden vor ihrem Einsatz über Nacht mit 0,05%iger wässriger Polyethylenimin-Lösung behandelt. Nach der Filtration wurden die Filter zum Auswaschen des ungebundenen

[³H]-NMS dreimal mit eiskalter Puffer-Lösung (siehe oben) gewaschen und dann getrocknet. Die Bestimmung der gebundenen Radioaktivität erfolgte in einem Szintillationszähler.

Die unspezifische [³H]-NMS-Bindung wurde in Kontrolleexperimenten bei Anwesenheit von Atropin (1 µM) ermittelt. Die Bestimmung der Proteinkonzentration in den Homogenaten erfolgte gemäß Ref. 33 unter Verwendung von Rinder Serum-Albumin als Referenzsubstanz. Alle Konkurrenzexperimente wurden mindestens dreimal als Doppelbestimmungen durchgeführt.

3.4.5. Auswertung

Die Auswertung aller Konkurrenzexperimente erfolgte durch nichtlineare iterative Kurvenanpassung mittels eines in Ref. 34 beschriebenen Computerprogramms. Aus den so erhaltenen IC₅₀-Werten wurden gemäß Ref. 35 die entsprechenden Gleichgewichts-Dissoziationskonstanten (K_i-Werte) der Antagonisten berechnet. Die in Tabelle 6 zusammengestellten pK_i-Werte entsprechen -log K_i. Die Standardabweichungen aller pK_i-Werte betragen ≤ 0.15 log-Einheiten (≤ 40% bei den K_i-Werten).

3.4.6. Pharmaka

[N-Methyl-³H]scopolamin-chlorid ([³H]-NMS; etwa 80 Ci/mmol) wurde von Amersham International (Bucks, England) und Atropinsulfat von Sigma Chemical Co. (St. Louis, MS, USA) bezogen.

Dank

Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert sowie durch Chemikalienspenden der Bayer AG (Leverkusen und Wuppertal-Elberfeld) unterstützt. J.P. dankt der Alexander von Humboldt-Stiftung und J.G. der Firma Boehringer Ingelheim für ein Forschungsstipendium.

Literatur

- R. Tacke, M. Strecker, W.S. Sheldrick, E. Heeg, B. Berndt und K.M. Knapstein, *Z. Naturforsch.*, 34b (1979) 1279.
- L. Steiling, R. Tacke und U. Wannagat, *Liebigs Ann. Chem.*, (1979) 1554.
- R. Tacke, M. Strecker, W.S. Sheldrick, L. Ernst, E. Heeg, B. Berndt, C.-M. Knapstein und R. Niedner, *Chem. Ber.*, 113 (1980) 1962.
- R. Tacke, M. Strecker, G. Lambrecht, U. Moser und E. Mutschler, *Liebigs Ann. Chem.*, (1983) 922.
- R. Tacke, M. Strecker, G. Lambrecht, U. Moser und E. Mutschler, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 317 (1984) 207.
- R. Tacke, H. Linoh, H. Zilch, J. Wess, U. Moser, E. Mutschler und G. Lambrecht, *Liebigs Ann. Chem.*, (1985) 2223.
- R. Tacke und H. Zilch, *Endeavour, New Series*, 10 (1986) 191.
- R. Tacke, J. Pikies, H. Linoh, R. Rohr-Aehle und S. Gönne, *Liebigs Ann. Chem.*, (1987) 51.
- R. Tacke, H. Linoh, L. Ernst, U. Moser, E. Mutschler, S. Sarge, H.K. Cammenga und G. Lambrecht, *Chem. Ber.*, 120 (1987) 1229.
- G. Lambrecht, R. Feifel, B. Forth, C. Strohmann, R. Tacke und E. Mutschler, *Eur. J. Pharmacol.*, 152 (1988) 193.
- M. Eltze, G. Gmelin, J. Wess, C. Strohmann, R. Tacke, E. Mutschler und G. Lambrecht, *Eur. J. Pharmacol.*, 158 (1988) 233.
- M. Waelbroeck, M. Tastenoy, J. Camus, J. Christophe, C. Strohmann, H. Linoh, H. Zilch, R. Tacke, E. Mutschler und G. Lambrecht, *Br. J. Pharmacol.*, 98 (1989) 197.
- G. Lambrecht, R. Feifel, M. Wagner-Röder, C. Strohmann, H. Zilch, R. Tacke, M. Waelbroeck, J. Christophe, H. Boddeke und E. Mutschler, *Eur. J. Pharmacol.*, 168 (1989) 71.
- G. Lambrecht, J. Wess, R. Tacke und E. Mutschler, in H. van der Goot, G. Domany, L. Pallos und H. Timmerman (Hrsg.), *Trends in Medicinal Chemistry '88*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1989, S. 265-282.
- G. Lambrecht, R. Feifel, U. Moser, M. Wagner-Röder, L.K. Choo, J. Camus, M. Tastenoy, M. Waelbroeck, C. Strohmann, R. Tacke, J.F. Rodrigues de Miranda, J. Christophe und E. Mutschler, *Trends Pharmacol. Sci. (Suppl.)*, 10 (1989) 65.
- R. Tacke, K. Mahner, C. Strohmann, B. Forth, E. Mutschler, T. Friebe und G. Lambrecht, *J. Organomet. Chem.*, 417 (1991) 339.
- H.-P. Bächtold, A. Fürst, T. Struller und H. Kreiskott, in E. Bartholomé, E. Biekert, H. Hellman, H. Ley, W.M. Weigert und E. Weise (Hrsg.), *Ullmanns Enzyklopädie der Technischen Chemie*, 4. Aufl., Bd. 21, Verlag Chemie, Weinheim, 1982, S. 619-631.
- W. Birkmayer und P. Riederer, *Die Parkinson-Krankheit: Biochemie, Klinik, Therapie*, 2. Aufl., Springer-Verlag, Wien, 1985.
- R.F. Cunico, *J. Org. Chem.*, 36 (1971) 929.
- W.S. Sheldrick, H. Linoh, R. Tacke, G. Lambrecht, U. Moser und E. Mutschler, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1985) 1743.
- M. Waelbroeck, M. Tastenoy, J. Camus und J. Christophe, *Mol. Pharmacol.*, 38 (1990) 267.
- M. Eltze und V. Figala, *Eur. J. Pharmacol.*, 158 (1988) 11.
- C. Bolden, B. Cusack und E. Richelson, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 260 (1992) 576.
- G.M. Sheldrick, unveröffentlichte Ergebnisse.
- D.T. Cromer und J.T. Waber, in J.A. Ibers und W.C. Hamilton (Hrsg.), *International Tables for Crystallography*, Bd. IV, Kynoch Press, Birmingham, 1974, S. 99-102 und S. 149.
- M. Eltze, *Eur. J. Pharmacol.*, 151 (1988) 205.
- O. Arunlakshana und H.O. Schild, *Br. J. Pharmacol.*, 14 (1959) 48.
- R.J. Tallarida und R.B. Murray, *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*, Springer-Verlag, Berlin, 1986.
- U. Moser, G. Lambrecht, M. Wagner, J. Wess und E. Mutschler, *Br. J. Pharmacol.*, 96 (1989) 319.
- W.L. Nelson, D.S. Freeman und F.F. Vincenzi, *J. Med. Chem.*, 19 (1976) 153.
- M. Waelbroeck, J. Camus, M. Tastenoy, E. Mutschler, C. Strohmann, R. Tacke, L. Schjelderup, A. Aasen, G. Lambrecht und J. Christophe, *Eur. J. Pharmacol. - Mol. Pharmacol. Sect.*, 227 (1992) 33.
- M. Waelbroeck, M. Tastenoy, J. Camus und J. Christophe, *Mol. Pharmacol.*, 38 (1990) 267.
- O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr und R.J. Randall, *J. Biol. Chem.*, 193 (1951) 265.
- A. Richardson und A. Humrich, *Trends Pharmacol. Sci.*, 5 (1984) 47.
- Y. Cheng und W.H. Prusoff, *Biochem. Pharmacol.*, 22 (1973) 3099.