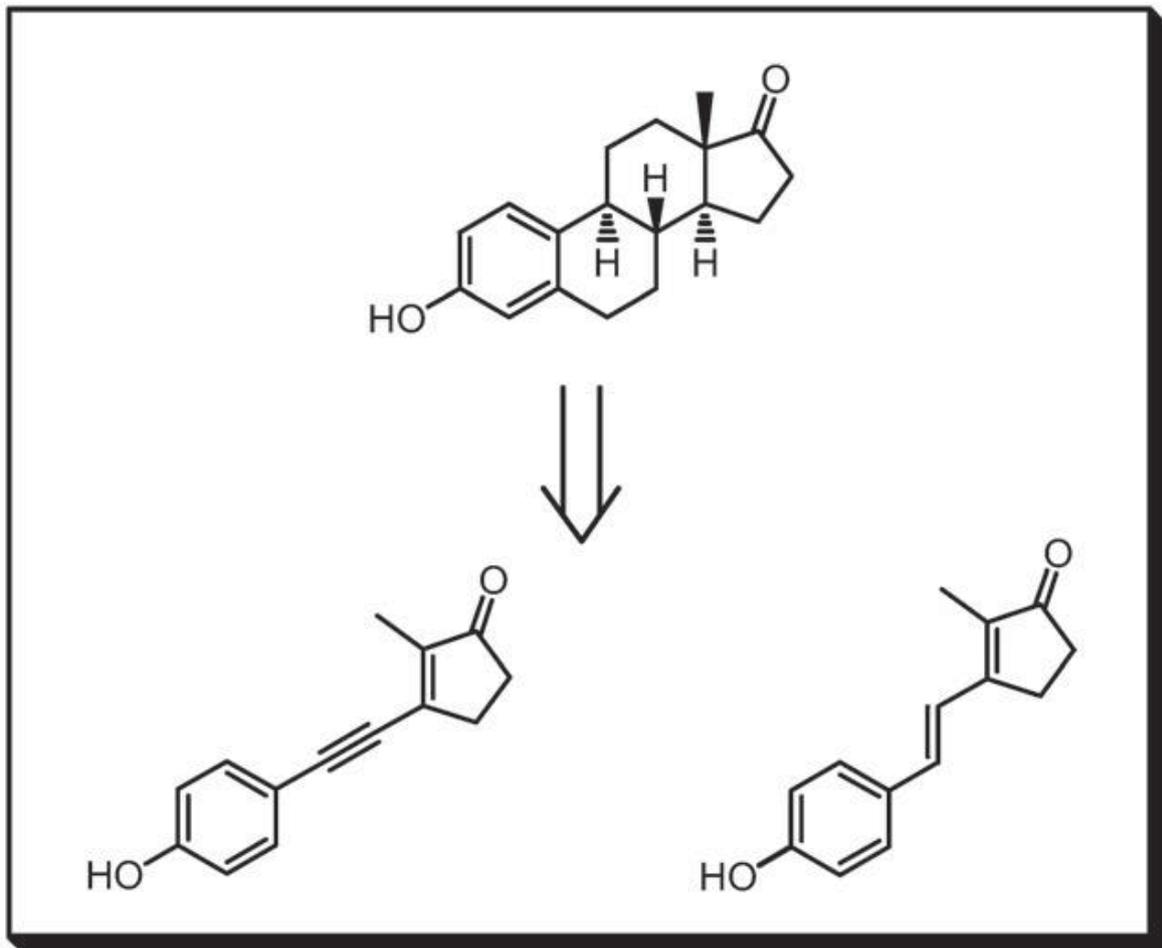

**Synthese neuartiger Estron- und Estradiol-Analoga
als Liganden für die Aktivierung von
Maxi-K⁺-Kanälen und zur Induktion von
Pflanzenpromotoren**



**Synthese neuartiger Estron- und Estradiol-Analoga
als Liganden für die Aktivierung von Maxi-K⁺-Kanälen
und zur Induktion von Pflanzenpromotoren**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Carsten Albrecht Vock
aus Göttingen

Göttingen 2004

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2005
Zugl.: Göttingen, Univ., Diss., 2004
ISBN 3-86537-418-2

D 7

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. L. F. Tietze

Korreferent: Prof. Dr. H. Laatsch

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 01. 2005

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2005
Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen
Telefon: 0551-54724-0
Telefax: 0551-54724-21
www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2005

Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-86537-418-2

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2001 bis August 2004 unter Leitung von Prof. Dr. Dr. h.c. L. F. Tietze am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Universität Göttingen angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. L. F. Tietze für die Möglichkeit, ein neues und sehr weit gefaßtes Thema mit einem hohen Maß an Selbständigkeit und in interdisziplinärer Kooperation mit verschiedenen anderen Arbeitsgruppen bearbeiten zu dürfen, für seine verlässliche Rückendeckung in schwierigen Situationen und für sein stetes Interesse am Fortgang dieser Arbeit.

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

I.	Allgemeiner Teil	1
1.	Einleitung.....	1
2.	Die Naturstoffklasse der Steroide.....	5
2.1	Nomenklatur der Steroide	5
2.2	Biosynthese der Steroide.....	7
2.3	Beispiele für bedeutende Klassen von Steroiden.....	12
2.3.1	Sexualhormone.....	12
2.3.2	Nebennierenrindenhormone	14
2.3.3	Steroid-Alkaloide	15
2.4	Verschiedene Synthesewege zum Steroid-Gerüst.....	17
2.5	Estrogen-Rezeptoren und Liganden.....	22
3.	Palladiumkatalysierte Reaktionen.....	27
3.1	Die <i>Sonogashira</i> -Kupplung	27
3.2	Die <i>Heck</i> -Reaktion.....	35
4.	Grundlagen der biologischen Untersuchungen.....	38
4.1	Entwicklung und funktionelle Prüfung neuer Liganden für den Maxi-K ⁺ -Kanal.....	38
4.2	Entwicklung chemisch induzierbarer Promotoren.....	41
II.	Aufgabenstellung.....	43
1.	Planung und Zielsetzung der Arbeit	43
III.	Darstellung der Ergebnisse	48
1.	Synthese der cyclischen Vinyljodide 130.....	48
2.	Synthese von Phenylacetylenen (Variante A).....	49
2.1	Synthese verschiedener Iodaromaten.....	50

2.2	Synthese von Phenylacetylenen über eine Sequenz aus <i>Sonogashira</i> -Reaktion und oxidativer Eliminierung	52
3.	Synthese von Phenylacetylenen (Variante B).....	57
3.1	Synthese verschiedener aromatischer Aldehyde.....	58
3.2	Synthese von Phenylacetylenen über eine Sequenz aus <i>Corey-Fuchs</i> -Reaktion und Eliminierung mit <i>n</i> BuLi.....	62
3.3	Synthese der Verbindung 168 über eine ungewöhnliche Silylgruppenumlagerung	65
3.4	Diskussion ausgewählter spektroskopischer und analytischer Daten der Verbindung 168	68
4.	Synthese der Estradiol-Analoga vom Alkin-Typ 132 und 122	71
4.1	Synthese der methylgeschützten Derivate 132	71
4.2	Versuche zur Spaltung der Methylether-Gruppe in den Phenylalkinen 132	73
4.3	Synthese von Verbindungen vom Alkin-Typ 122 mit freier phenolischer Hydroxylgruppe	75
4.4	Diskussion ausgewählter spektroskopischer und analytischer Daten der Verbindung 122a	82
4.5	Diskussion der chemischen Eigenschaften der Verbindungen 122 unter Berücksichtigung der spektroskopischen Daten	85
5.	Versuche zur weiteren Derivatisierung der Estradiol-Analoga vom Alkin-Typ.....	90
5.1	Reduktion der Ketogruppe.....	90
5.2	Selektive Hydrierung der Dreifachbindung.....	91
6.	Synthese der Estradiol-Analoga vom Alken-Typ 123	93
6.1	Synthese der benötigten Kupplungspartner	94
6.2	Synthese der methylgeschützten Derivate	97
6.3	Mögliche Ursachen für die Bildung der hydrierten Produkte 184 bei den <i>Heck</i> -Reaktionen.....	104
6.4	Synthese der ungeschützten Zielverbindungen.....	106

6.5	Diskussion ausgewählter spektroskopischer und analytischer Daten der Verbindung (<i>E</i>)- 123h	109
7.	Versuche zur weiteren Derivatisierung der Estradiol-Analoga vom Alken-Typ 123	112
8.	Synthese weiterer Estradiol-Analoga	113
8.1	Synthese von Verbindungen vom Hydrazin-Typ 196	113
IV.	Biologische Ergebnisse	115
1.	Funktionelle Prüfung der neuen Liganden für den Maxi-K⁺-Kanal	115
2.	Testung der neuen Liganden in der Entwicklung chemisch induzierbarer Promotoren	117
V.	Zusammenfassung	123
VI.	Experimenteller Teil	133
1.	Allgemeine Methoden	133
1.1	Analytik und verwendete Meßgeräte	133
1.2	Sonstige Geräte	134
1.3	Chromatographische Methoden	134
1.4	Palladiumkatalysatoren und wichtige Edukte	135
2.	Synthese der cyclischen Vinyljodide 130	136
2.1	Synthese der Verbindungen 130a–b	136
2.1.1	3-Iod-2-methyl-cyclopent-2-en-1-on (130a).....	136
2.1.2	3-Iod-2-methyl-cyclohex-2-en-1-on (130b).....	137
3.	Synthese von Phenylacetylenen (Variante A)	138
3.1	Synthese verschiedener Iodaromaten.....	138

3.1.1	Synthese der Verbindung 129c	138
3.1.1.1	4- <i>tert</i> -Butoxy-2-chlor-1-iod-benzol (129c)	138
3.1.2	Synthese der Verbindung 129d	139
3.1.2.1	4-[2-(4-Iod-phenoxy)-ethyl]-morpholin (129d)	139
3.1.3	Synthese der Verbindung 129e	140
3.1.3.1	(4-Iod-phenoxy)-triisopropyl-silan (129e).....	140
3.1.4	Synthese der Verbindung 129f	141
3.1.4.1	5-Hydroxy-2-iod-benzoesäure (144)	141
3.1.4.2	2-Iod-5-triisopropylsilanyloxy-benzoesäure-methylester (129f).....	142
3.1.5	Synthese der Verbindung 129g	143
3.1.5.1	4-Amino-3-brom-phenol (148).....	143
3.1.5.2	2-(3-Brom-4-iod-phenoxy)-tetrahydro-pyran (129g)	144
3.1.6	Synthese der Verbindung 129h	145
3.1.6.1	2-(3,5-Dichlor-2-iod-phenoxy)-tetrahydro-pyran (129h).....	145
3.1.6.2	2-(3,5-Dichlor-phenoxy)-tetrahydro-pyran (150).....	146
3.1.7	Synthese der Verbindung 129i	147
3.1.7.1	(4-Iod-phenyl)-carbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (129i)	147
3.1.8	Synthese der Verbindung 129j	148
3.1.8.1	1-Iod-4-trifluormethyl-benzol (129j).....	148
3.2	Synthese von Phenylacetylenen über eine Sequenz aus <i>Sonogashira</i> -Reaktion und oxidativer Eliminierung	149
3.2.1	Synthese der Verbindung 131a	149
3.2.1.1	3-(4-Methoxy-phenyl)-prop-2-in-1-ol (140a).....	149
3.2.1.2	1-Ethynyl-4-methoxy-benzol (131a).....	150
3.2.2	Synthese der Verbindung 131b	150
3.2.2.1	5-Ethynyl-2-methoxy-1,3-dimethyl-benzol (131b).....	150
3.2.3	Synthese der Verbindung 131c	152
3.2.3.1	4- <i>tert</i> -Butoxy-2-chlor-1-ethynyl-benzol (131c)	152
3.2.4	Synthese der Verbindung 131d	153
3.2.4.1	4-[2-(4-Ethynyl-phenoxy)-ethyl]-morpholin (131d).....	153
3.2.5	Synthese der Verbindung 131e	154
3.2.5.1	(4-Ethynyl-phenoxy)-triisopropyl-silan (131e)	154
3.2.6	Synthese der Verbindung 129f	155

3.2.6.1	2-(3-Hydroxy-prop-1-ynyl)-5-triisopropylsilanyloxy-benzoesäure-methylester (140f)	155
3.2.6.2	2-Ethynyl-5-triisopropylsilanyloxy-benzoesäure-methylester (131f)	156
3.2.7	Synthese der Verbindung 131g	157
3.2.7.1	2-(3-Brom-4-ethynyl-phenoxy)-tetrahydro-pyran (131g).....	157
3.2.8	Synthese der Verbindung 131h	158
3.2.8.1	2-(3,5-Dichlor-2-ethynyl-phenoxy)-tetrahydro-pyran (131h)	158
3.2.9	Synthese der Verbindung 131i	159
3.2.9.1	[4-(3-Hydroxy-prop-1-ynyl)-phenyl]-carbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (140i)	159
3.2.9.2	(4-Ethynyl-phenyl)-carbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (131i)	160
3.2.10	Synthese der Verbindung 131j	161
3.2.10.1	3-(4-Trifluormethyl-phenyl)-prop-2-yn-1-ol (140j)	161
3.2.10.2	1-Ethynyl-4-trifluormethyl-benzol (131j)	162
4.	Synthese von Phenylacetylenen (Variante B)	163
4.1	Synthese verschiedener aromatischer Aldehyde.....	163
4.1.1	Synthese der Verbindung 133a	163
4.1.1.1	1-Brom-4-methoxy-2-methyl-benzol (129k).....	163
4.1.1.2	4-Methoxy-2-methyl-benzaldehyd (133a).....	164
4.1.2	Synthese der Verbindung 133b	165
4.1.2.1	1-Brom-4-methoxy-naphthalin (129l).....	165
4.1.2.2	4-Methoxy-naphthalin-1-carbaldehyd (133b).....	166
4.1.3	Synthese der Verbindung 133c	167
4.1.3.1	4-Methoxy-2,6-dimethyl-benzaldehyd (133c).....	167
4.1.4	Synthese der Verbindungen 133d und 133e	168
4.1.4.1	3-Methoxy-biphenyl (158).....	168
4.1.4.2	5-Methoxy-biphenyl-2-carbaldehyd (133d)	169
4.1.4.3	3-Methoxy-biphenyl-4-carbaldehyd (133e).....	170
4.1.5	Synthese von Verbindung 133f	170
4.1.5.1	2-Fluor-4-methoxy-benzaldehyd (133f)	170
4.1.6	Synthese von Verbindung 133g	171
4.1.6.1	2-Brom-5-hydroxy-benzaldehyd (161)	171
4.1.6.2	4-Triisopropylsilanyloxy-2-triisopropylsilanyloxymethyl-benzaldehyd (133g)	172

4.2	Synthese von Phenylacetylenen über eine Sequenz aus <i>Corey-Fuchs</i> -Reaktion und Eliminierung mit <i>n</i> BuLi.....	174
4.2.1	Synthese der Verbindung 131k	174
4.2.1.1	1-(2,2-Dibrom-vinyl)-4-methoxy-naphthalin (153b)	174
4.2.1.2	1-Ethynyl-4-methoxy-naphthalin (131k).....	175
4.2.2	Synthese der Verbindungen 131l und 131m	176
4.2.2.1	2-(2,2-Dibrom-vinyl)-5-methoxy-biphenyl (153d)	176
4.2.2.2	4-(2,2-Dibrom-vinyl)-3-methoxy-biphenyl (153e).....	177
4.2.2.3	2-Ethynyl-5-methoxy-biphenyl (131l).....	177
4.2.2.4	4-Ethynyl-3-methoxy-biphenyl (131m)	178
4.2.3	Synthese der Verbindung 131n	179
4.2.3.1	1-(2,2-Dibrom-vinyl)-4-triisopropylsilyloxy-2-triisopropylsilyloxy- methyl-benzol (153g).....	179
4.2.3.2	1-Ethynyl-4-triisopropylsilyloxy-2-triisopropylsilyloxymethyl-benzol (131n)	180
4.2.4	Synthese der Verbindung 131o	181
4.2.4.1	1-(2,2-Dibrom-vinyl)-4-methoxy-2-methyl-benzol (153a)	181
4.2.4.2	2-[4-(2,2-Dibrom-vinyl)-3-methyl-phenoxy]-tetrahydro-pyran (153h)	182
4.2.4.3	2-(4-Ethynyl-3-methyl-phenoxy)-tetrahydro-pyran (131o).....	183
4.2.5	Synthese der Verbindung 131p	184
4.2.5.1	2-(2,2-Dibrom-vinyl)-5-methoxy-1,3-dimethyl-benzol (153c)	184
4.2.5.2	2-[4-(2,2-Dibrom-vinyl)-3,5-dimethyl-phenoxy]-tetrahydro-pyran (153i)	185
4.2.5.3	2-(4-Ethynyl-3,5-dimethyl-phenoxy)-tetrahydro-pyran (131p)	186
4.2.6	Synthese der Verbindung 131q	187
4.2.6.1	1-(2,2-Dibrom-vinyl)-2-fluor-4-methoxy-benzol (153f)	187
4.2.6.2	2-[4-(2,2-Dibrom-vinyl)-3-fluor-phenoxy]-tetrahydro-pyran (153j)	188
4.2.6.3	2-(4-Ethynyl-3-fluor-phenoxy)-tetrahydro-pyran (131q).....	190
4.3	Synthese der Verbindung 168 über eine ungewöhnliche Silylgruppenumlagerung.	191
4.3.1	Synthese der Verbindung 168	191
4.3.1.1	2-Brom-5-triisopropylsilyloxy-benzaldehyd (162).....	191
4.3.1.2	(2-Brom-5-triisopropylsilyloxy-phenyl)-methanol (163a)	192
4.3.1.3	[2-(<i>tert</i> -Butyl-dimethyl-silyl)-5-triisopropylsilyloxy-phenyl]-methanol (164)	193
4.3.1.4	2-Brommethyl-1-(<i>tert</i> -butyl-dimethyl-silyl)-4-triisopropylsilyloxy- benzol (165)	194

4.3.1.5	1,2-Bis[2-(<i>tert</i> -butyl-dimethyl-silanyl)-5-triisopropylsilanyloxy-phenyl]ethan (167)	195
4.3.1.6	1-(<i>tert</i> -Butyl-dimethyl-silanyl)-4-triisopropylsilanyloxy-2-pentyl-benzol (166) ...	196
4.3.1.7	1,2-Bis[2-(<i>tert</i> -butyl-dimethyl-silanyl)-5-hydroxy-phenyl]ethan (168)	197
5.	Synthese der Estradiol-Analoga vom Alkin-Typ 132 und 122.....	198
5.1	Synthese der methylgeschützten Derivate 132	198
5.1.1	Synthese der Verbindungen 132a und 132b	198
5.1.1.1	3-(4-Methoxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (132a).....	198
5.1.1.2	3-(4-Methoxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (132b).....	199
5.1.2	Synthese der Verbindungen 132c und 132d	201
5.1.2.1	3-(4-Methoxy-3,5-dimethyl-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (132c) ...	201
5.1.2.2	3-(4-Methoxy-3,5-dimethyl-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (132d).....	202
5.1.3	Synthese der Verbindungen 132e und 132f	203
5.1.3.1	3-(4-Methoxy-naphthalin-1-ylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (132e)	203
5.1.3.2	3-(4-Methoxy-naphthalin-1-ylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (132f).....	204
5.1.4	Synthese der Verbindungen 132g und 132h	206
5.1.4.1	3-(5-Methoxy-biphenyl-2-ylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (132g).....	206
5.1.4.2	3-(5-Methoxy-biphenyl-2-ylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (132h).....	207
5.2	Versuche zur Spaltung der Methylether-Gruppen in den Phenylalkinen 132	208
5.2.1	Synthese der Verbindung 122a	208
5.2.1.1	3-(4-Hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (122a)	208
5.2.2	Synthese der Verbindung 122b	209
5.2.2.1	3-(4-Hydroxy-naphthalin-1-ylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (122b)	209
5.2.3	Synthese der Verbindung 122c	210
5.2.3.1	3-(4-Hydroxy-naphthalin-1-ylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (122c)	210
5.3	Synthese von Verbindungen vom Alkin-Typ 122 mit freier phenolischer Hydroxylgruppe	211
5.3.1	Synthese der Verbindungen 122a und 122b	211
5.3.1.1	2-Methyl-3-(4-triisopropylsilanyloxy-phenylethynyl)-cyclopent-2-enon (132i)	211
5.3.1.2	3-(4-Hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (122a)	213
5.3.1.3	3-(4-Hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122b).....	214

5.3.2	Synthese der Verbindung 122d	215
5.3.2.1	2-(2-Methyl-3-oxo-cyclohex-1-enylethynyl)-5-triisopropylsilanyloxy- benzoesäure-methylester (132k).....	215
5.3.2.2	5-Hydroxy-2-(2-methyl-3-oxo-cyclohex-1-enylethynyl)-benzoesäure- methylester (122d).....	217
5.3.3	Synthese der Verbindungen 122e und 122f	218
5.3.3.1	2-Methyl-3-(4-triisopropylsilanyloxy-2-triisopropylsilanyloxymethyl-phenyl- ethynyl)-cyclopent-2-enon (132l).....	218
5.3.3.2	3-(4-Hydroxy-2-hydroxymethyl-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (122e).....	219
5.3.3.3	2-Methyl-3-(4-triisopropylsilanyloxy-2-triisopropylsilanyloxymethyl-phenyl- ethynyl)-cyclohex-2-enon (132m).....	220
5.3.3.4	3-(4-Hydroxy-2-hydroxymethyl-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122f).....	221
5.3.4	Synthese der Verbindung 122g	222
5.3.4.1	3-(4- <i>tert</i> -Butoxy-2-chlor-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (132n).....	222
5.3.4.2	3-(2-Chlor-4-hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122g).....	223
5.3.5	Synthese der Verbindungen 122h und 122i	224
5.3.5.1	[4-(2-Methyl-3-oxo-cyclopent-1-enylethynyl)-phenyl]-carbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (132o).....	224
5.3.5.2	3-(4-Amino-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (122h).....	226
5.3.5.3	[4-(2-Methyl-3-oxo-cyclohex-1-enylethynyl)-phenyl]-carbaminsäure- <i>tert</i> -butylester (132p).....	227
5.3.5.4	3-(4-Amino-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122i).....	228
5.3.6	Synthese der Verbindung 122j	229
5.3.6.1	3-(2-Brom-4-hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122j).....	229
5.3.7	Synthese der Verbindungen 122k und 122l	230
5.3.7.1	3-(4-Hydroxy-2-methyl-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enon (122k).....	230
5.3.7.2	3-(4-Hydroxy-2-methyl-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122l).....	232
5.3.8	Synthese der Verbindung 122m	233
5.3.8.1	3-(4-Hydroxy-2,6-dimethyl-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122m).....	233
5.3.9	Synthese der Verbindung 122n	235
5.3.9.1	3-(2-Fluor-4-hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122n).....	235
5.3.10	Synthese der Verbindung 122o	236

5.3.10.1	3-(2,4-Dichlor-6-hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclohex-2-enon (122o)	236
5.3.11	Synthese der Verbindungen 132q und 132r	238
5.3.11.1	2-Methyl-3-[4-(2-morpholin-4-yl-ethoxy)-phenylethynyl]-cyclopent-2-enon Hydrochlorid (132q)	238
5.3.11.2	2-Methyl-3-[4-(2-morpholin-4-yl-ethoxy)-phenylethynyl]-cyclohex-2-enon Hydrochlorid (132r).....	239
5.3.12	Synthese der Verbindung 132s	241
5.3.12.1	2-Methyl-3-(4-trifluormethyl-phenylethynyl)-cyclopent-2-enon (132s).....	241
6.	Versuche zur weiteren Derivatisierung der Estradiol-Analoga vom Alkin-Typ.....	242
6.1	Reduktion der Ketogruppe	242
6.1.1	Synthese der Verbindungen 169 , 170 und 125a	242
6.1.1.1	3-(4-Methoxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enol (169).....	242
6.1.1.2	Essigsäure-2-methyl-3-(4-trifluormethyl-phenylethynyl)-cyclopent-2-enylester (170).....	243
6.1.1.3	2-Methyl-3-(4-triisopropylsilanyloxy-phenylethynyl)-cyclopent-2-enol (171)	245
6.1.1.4	3-(4-Hydroxy-phenylethynyl)-2-methyl-cyclopent-2-enol (125a).....	246
6.2	Selektive Hydrierung der Dreifachbindung	247
6.2.1	Synthese der Verbindung 172	247
6.2.1.1	3-[2-(4-Methoxy-phenyl)-ethyl]-2-methyl-cyclohex-2-enon (172).....	247
7.	Synthese der Zielverbindungen vom Alken-Typ.....	248
7.1	Synthese der benötigten Kupplungspartner	248
7.1.1	Synthese der Verbindungen (<i>E</i>)- 134a–b	248
7.1.1.1	(<i>E</i>)-1-(2-Brom-vinyl)-4-methoxy-benzol ((<i>E</i>)- 134a)	248
7.1.1.2	(<i>E</i>)-3-(4-Methoxy-phenyl)-but-2-ensäure ((<i>E</i>)- 174b).....	249
7.1.1.3	(<i>Z</i>)-3-(4-Methoxy-phenyl)-but-2-ensäure ((<i>Z</i>)- 174b)	250
7.1.1.4	(<i>E</i>)-1-(2-Brom-1-methyl-vinyl)-4-methoxy-benzol ((<i>E</i>)- 134b)	250
7.1.1.5	(<i>Z</i>)-1-(2-Brom-1-methyl-vinyl)-4-methoxy-benzol ((<i>Z</i>)- 174b).....	251
7.1.2	Synthese der Verbindungen 135a–f	251
7.1.2.1	1-Methoxy-4-vinyl-benzol (135a)	251
7.1.2.2	4-Methoxy-2-methyl-1-vinyl-benzol (135b)	252

7.1.2.3	1-Methoxy-4-vinyl-naphthalin (135c)	253
7.1.2.4	5-Methoxy-1,3-dimethyl-2-vinyl-benzol (135d)	254
7.1.2.5	1-Isopropenyl-4-methoxy-benzol (135e)	255
7.1.2.6	1-(4-Triisopropylsilyloxy-phenyl)-ethanon (182).....	255
7.1.2.7	(4-Isopropenyl-phenoxy)-triisopropyl-silan (135f)	256
7.2	Synthese der methylgeschützten Derivate	258
7.2.1	Synthese der Verbindungen (<i>trans</i>)- 136a und (<i>trans</i>)- 136b	258
7.2.1.1	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Methoxy-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>trans</i>)- 136a).....	258
7.2.1.2	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Methoxy-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclohex-2-enon ((<i>trans</i>)- 136b)	260
7.2.2	Synthese der Verbindungen (<i>trans</i>)- 136c , (<i>trans</i>)- 136d und 186	261
7.2.2.1	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Methoxy-2-methyl-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>trans</i>)- 136c).....	261
7.2.2.2	3-[2-(4-Methoxy-2-methyl-phenyl)-ethyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon (184c).....	262
7.2.2.3	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Methoxy-2-methyl-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclohex-2-enon ((<i>trans</i>)- 136d)	263
7.2.2.4	3-[2-(4-Methoxy-2-methyl-phenyl)-ethyl]-2-methyl-cyclohex-2-enon (184d)	264
7.2.2.5	(<i>trans</i>)-4-Methoxy-1-[2-(3-methoxy-phenyl)-vinyl]-2-methyl-benzol (186).....	265
7.2.2.6	4-Methoxy-1-[1-(3-methoxy-phenyl)-vinyl]-2-methyl-benzol (187).....	266
7.2.3	Synthese der Verbindungen (<i>trans</i>)- 136e und (<i>trans</i>)- 136f	267
7.2.3.1	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Methoxy-naphthalin-1-yl)-vinyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>trans</i>)- 136e).....	267
7.2.3.2	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Methoxy-naphthalin-1-yl)-vinyl]-2-methyl-cyclohex-2-enon ((<i>trans</i>)- 136f)	268
7.2.4	Synthese der Verbindung (<i>trans</i>)- 136g	269
7.2.4.1	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Methoxy-2,6-dimethyl-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclopent- 2-enon ((<i>trans</i>)- 136g)	269
7.2.5	Synthese der Verbindung (<i>E</i>)- 136h	270
7.2.5.1	(<i>E</i>)-3-[2-(4-Methoxy-phenyl)-propenyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>E</i>)- 136h) ...	270
7.2.5.2	(<i>Z</i>)-3-[2-(4-Methoxy-phenyl)-propenyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>Z</i>)- 136h) ...	273
7.2.5.3	3-[2-(4-Methoxy-phenyl)-allyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon (183a)	274
7.2.6	Synthese der Verbindung (<i>E</i>)- 136i	275

7.2.6.1	(<i>E</i>)-2-Methyl-3-[2-(4-triisopropylsilanyloxy-phenyl)-propenyl]-cyclopent-2-enon ((<i>E</i>)- 136i)	275
7.2.6.2	2-Methyl-3-[2-(4-triisopropylsilanyloxy-phenyl)-allyl]-cyclopent-2-enon (183b)	276
7.3	Synthese der ungeschützten Zielverbindungen	277
7.3.1	Synthese der Verbindung (<i>trans</i>)- 123a	277
7.3.1.1	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Hydroxy-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>trans</i>)- 123a)	277
7.3.2	Synthese der Verbindungen (<i>trans</i>)- 123c , (<i>trans</i>)- 123d und 192	278
7.3.2.1	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Hydroxy-2-methyl-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>trans</i>)- 123c)	278
7.3.2.2	(<i>trans</i>)-3-[2-(4-Hydroxy-2-methyl-phenyl)-vinyl]-2-methyl-cyclohex-2-enon ((<i>trans</i>)- 123d)	279
7.3.2.3	(<i>trans</i>)-4-[2-(3-Hydroxy-phenyl)-vinyl]-3-methyl-phenol (192)	280
7.3.3	Synthese der Verbindung (<i>E</i>)- 123h	281
7.3.3.1	(<i>E</i>)-3-[2-(4-Hydroxy-phenyl)-propenyl]-2-methyl-cyclopent-2-enon ((<i>E</i>)- 123h)	281
8.	Versuche zur weiteren Derivatisierung der Estradiol-Analoga vom Alken-Typ 123	283
8.1	Versuche zur Synthese der Verbindungen (<i>E</i>)- 126h und (<i>E</i>)- 194	283
8.1.1	(<i>E</i>)-3-[2-(4-Hydroxy-phenyl)-propenyl]-2-methyl-cyclopent-2-enol ((<i>E</i>)- 126h) ...	283
8.1.2	(<i>E</i>)-2-Methyl-3-[2-(4-triisopropylsilanyloxy-phenyl)-propenyl]-cyclopent-2-enol ((<i>E</i>)- 194)	284
9.	Synthese weiterer Estradiol-Analoga	285
9.1	Synthese von Verbindungen vom Hydrazin-Typ 196	285
9.1.1	Synthese der Verbindungen 196a–c	285
9.1.1.1	Benzoessäure- <i>N'</i> -benzoyl- <i>N-tert</i> -butyl-hydrazid (196a)	285
9.1.1.2	4-Methoxy-benzoessäure- <i>N-tert</i> -butyl- <i>N'</i> -(4-methoxy-benzoyl)-hydrazid (196b)	286
9.1.1.3	4-Chlor-benzoessäure- <i>N-tert</i> -butyl- <i>N'</i> -(4-chlor-benzoyl)-hydrazid (196c)	287

VII.	Biologische Testsysteme.....	289
1.	Funktionelle Prüfung der neuen Liganden für den Maxi-K⁺-Kanal	289
2.	Testung der neuen Liganden in der Entwicklung chemisch induzierbarer Promotoren.....	293
VIII.	Anhang	295
1.	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Akronyme	295
2.	Literaturverzeichnis	297
3.	Danksagung	307
4.	Lebenslauf.....	311

I. Allgemeiner Teil

1. Einleitung

„Um Chemotherapie erfolgreich zu betreiben, müssen wir Substanzen aufsuchen, bei denen die Verwandtschaft und Abtötungskraft in der Weise überwiegt, daß eine Abtötung der Parasiten ohne erhebliche Schädigung des Organismus möglich ist. Wir wollen also den Parasiten an erster Stelle möglichst isoliert treffen, das heißt: zielen lernen, chemisch zielen lernen.“

(Paul Ehrlich^[1a])

Diese Worte stammen von *Paul Ehrlich*, dem Begründer der modernen Chemotherapie. Er beschrieb damit schon vor über 100 Jahren ein Prinzip, welches heute in der Pharma- und Pflanzenschutzforschung von fundamentaler Bedeutung ist: das Ziel – häufig auch als „Target“ bezeichnet – soll *selektiv* und *effektiv* getroffen werden. Zu *Ehrlichs* Zeiten waren diese Ziele Parasiten, d. h. Mikroorganismen und Bakterien, die gefürchtete Infektionskrankheiten wie Tuberkulose und Syphilis auslösten. Mit den Fortschritten in Chemie und Mikrobiologie gelang es seitdem zunehmend, diese „Targets“ zu spezifizieren. Heute sind es nicht mehr ganze Organismen oder Zellen, sondern molekulare Rezeptoren und Enzyme auf Proteinbasis, die Signalkaskaden auslösen können und durch geeignete Liganden aktiviert oder blockiert werden. Aufgabe der modernen Chemie ist es, mit geeigneten Mitteln auf diese Ziele zu feuern, oder – um es weniger martialisch auszudrücken – die richtigen Schlüssel für die vorhandenen Schlösser zu finden.

Auf der Suche nach solchen Liganden hat insbesondere die industrielle Chemie in den letzten 15 Jahren dramatische Veränderungen durchgemacht. Testverfahren im Mikromaßstab, weitgehende Automatisierung und die Anlage riesiger Substanzbibliotheken eröffneten die Möglichkeit, bis zu 100000 Verbindungen täglich auf ihre Wirksamkeit zu testen. Man sprach bereits davon, daß der klassische Synthesechemiker mit der Zeit überflüssig werden würde. Durch entsprechendes Screening der Substanzbibliotheken auf wirksame Substanzen könnte die Forschung weitgehend im automatisierten Betrieb von Computern und Syntheserobotern abgewickelt werden. Doch vor einigen Jahren hat man von dieser Vision Abstand genommen. Das blinde Testen tausender Verbindungen führte nämlich fast nie zu einem befriedigenden

Ergebnis, und die Kosten stiegen in astronomische Höhen. Der Grund für das Scheitern lag im Fehlen eines geeigneten Ansatzes, eines geeigneten Konzepts.

Ehrlich hatte ein Konzept. Basierend auf eigenen Arbeiten und den Erkenntnissen von *Robert Koch* war ihm der Gedanke gekommen, daß Substanzen, mit denen sich Krankheitserreger selektiv anfärben ließen, unter Umständen auch in der Lage sein müßten, diese selektiv zu bekämpfen. In jahrelangen Arbeiten gelang es ihm und seinen Mitarbeitern dann auch, einen hochselektiven Farbstoff für Trypanosomen, die Erreger von z. B. Malaria und Schlafkrankheit, zu finden. Diese Verbindung, das sogenannte Trypanrot **1**, wies allerdings kein hinreichend toxisches Potential für deren Bekämpfung auf. Andererseits zeigten die Untersuchungen, daß die von *Antoine Béchamp* 1863 entdeckte organische Arsenverbindung Atoxyl **2** die untersuchten Krankheitserreger in Kultur sehr wirksam abtötete. Bei Tierversuchen mit Mäusen starben dann allerdings auch die Versuchstiere: die Verbindung war zu toxisch. *Ehrlich* formulierte nun ein neues Konzept: durch gezielte Derivatisierung der Arsenverbindung konnte möglicherweise ein selektiver und weniger systemtoxischer Wirkstoff gefunden werden.

Trotz der Kenntnis einer Leitstruktur für die Derivatisierungen war der Weg bis zur ersten wirksamen Verbindung quälend lang. In seinen Aufzeichnungen findet sich der verzweifelte Satz^[1a]:

„Wir werden tausend und noch mehr Verbindungen herstellen, wenn es nötig werden sollte.“

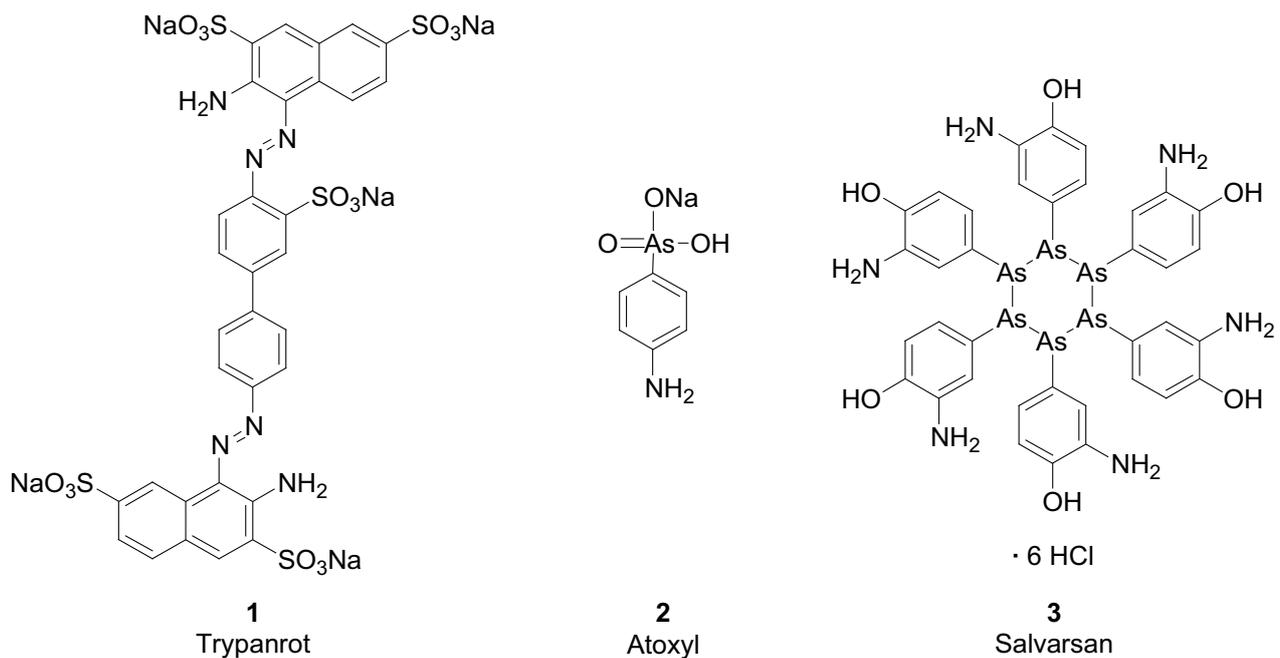


Abb. 1. Meilensteine auf dem Weg zur Entwicklung des ersten Chemotherapeutikums Salvarsan **3**

Erst Verbindung 592 führte zu einem hoffnungsvollen Ergebnis, und mit Verbindung 606 (3) hielt *Ehrlich* dann wenig später das erste Chemotherapeutikum in den Händen, welches unter dem Handelsnamen Salvarsan ein Meilenstein in der Bekämpfung der Syphilis wurde.

Die Erfolgsgeschichte des *Paul Ehrlich* zeigt, daß Ideen und Konzepte für die chemische Forschung von fundamentaler Bedeutung sind. Das massenhafte Screening von Verbindungen ohne Vorstellung über die Struktur einer möglichen wirksamen Substanz gleicht der Suche nach der sprichwörtlichen Nadel im Heuhaufen oder ist vielleicht sogar noch aussichtsloser. Die Kunst des Chemikers oder allgemein jedes Naturwissenschaftlers besteht darin, aus einem eingeschränkten Satz von Basisinformationen, die sich häufig unbeabsichtigt oder rein zufällig bei Experimenten ergeben, neue Ideen oder Theorien zu entwickeln, diese dann so gut wie möglich zu verifizieren und in ein praktisch umsetzbares Konzept zu überführen. Daß die Umsetzung der Konzepte – wie im Fall von *Ehrlich* – auch einer langwierigen und mühseligen Suche gleichkommt, und daß sich Postulate als unbeweisbar oder als schlicht falsch herausstellen, ist an vielen Beispielen belegt. Sie stellen aber gerade bei der Suche nach neuen medizinischen Wirkstoffen eine große Hilfe dar, da sie das Suchfeld extrem einschränken und so die Wahrscheinlichkeit des Erfolges erhöhen. Die Verifizierung der Ideen obliegt letztendlich dem experimentellen Chemiker, der sich durch gezielte Variierung von Leitstrukturen in einem kognitiven Lernprozeß immer näher an die Zielverbindung – den neuen Wirkstoff – herantastet. Die Arbeit entspricht einem Puzzle, dessen Lösung um so leichter fällt, je besser die zugrundeliegende Theorie ist. Der Chemiker wird dabei, angeleitet vom Vorbild der Natur, selbst schöpferisch tätig. Der Nobelpreisträger *J.-M. Lehn* formulierte es wie folgt^[2]:

„Dies appelliert an die kreative Vorstellungskraft des Chemikers am Berührungspunkt von Chemie, Biologie und Physik, nicht nur zu entdecken, sondern schöpferisch zu arbeiten und zu erfinden. Die Noten der Chemie sollen nicht nur gespielt, sondern es muß immer neu komponiert werden!“

Und er fügte ein Zitat von *Leonardo da Vinci* an, das vielleicht die Natur des Chemikers und überhaupt des ganzen Menschen am besten beschreibt^[2]:

„Wo die Natur aufhört, ihre eigenen Spezies zu erzeugen, dort beginnt der Mensch unter Verwendung natürlicher Dinge und in Harmonie mit der Natur, eine unendliche Zahl von Spezies zu erschaffen.“

Für den Synthesechemiker aus dem Bereich der Organischen Chemie, der sich auch der Medizinischen Chemie verbunden fühlt, ist diese schöpferische Tätigkeit eine alltägliche Aufgabe, und nach vielen Mühen erfüllt es ihn mit Genugtuung und Freude, wenn seine Theorien bestätigt werden und eventuell die Möglichkeit besteht, daß seine Arbeit kranken Menschen Linderung oder Heilung verschafft.

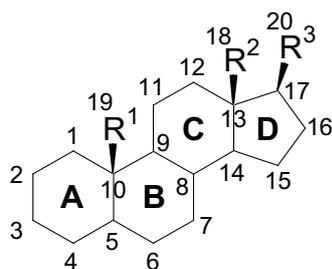
Das Ziel dieser Doktorarbeit ist die experimentelle Überprüfung eines neuen Konzepts auf dem Gebiet der Steroidchemie. Trotz zahlloser Arbeiten in diesem Bereich ist der gewählte Ansatz vollkommen neu und soll dazu dienen, die strukturell komplexen und synthetisch schwer zugänglichen Steroide durch einfachere Verbindungen bei vergleichbarer oder sogar höherer Wirkung an spezifischen Rezeptoren zu ersetzen. Außerdem wird geprüft, ob es möglich ist, wünschenswerte steroidale Effekte von der allgemeinen hormonellen Aktivität der Verbindungen zu trennen. Aus diesem Grund wurden für diese Doktorarbeit eine Vielzahl von strukturell eng verwandten Steroid-Analoga hergestellt und auf ihre biologische Wirksamkeit in verschiedenen Testsystemen untersucht.

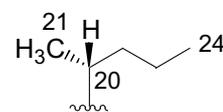
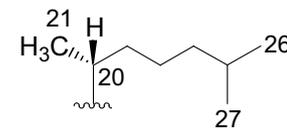
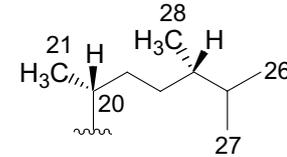
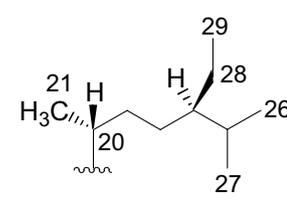
2. Die Naturstoffklasse der Steroide

Die Steroide sind eine äußerst umfangreiche Gruppe von Naturstoffen und synthetischen Derivaten, denen stets das Gerüst des (partiell) hydrierten Cyclopenta[*a*]phenanthrens zugrunde liegt.^[3] Bis heute sind weit mehr als 200000 Verbindungen dieser Substanzklasse bekannt. Der Name Steroid leitet sich aus dem Griechischen (*stereos* = starr, fest und *eides* = gestaltet) ab und nimmt Bezug auf die flache, sterisch fixierte Struktur der natürlich vorkommenden Moleküle. Ein charakteristisches Merkmal der Steroide ist ihre ubiquitäre Verbreitung in Tier-, Pilz- und Pflanzenwelt, und viele Verbindungen dieses Typs zeigen hohe biologische und physiologische Aktivität; sie sind deshalb als potentielle Arzneimittel Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Forschung. Von besonderer Bedeutung sind dabei die sogenannten Steroid-Hormone, zu denen die Sexualhormone (Androgene, Estrogene, Gestagene) und die Nebennierenrindenhormone (Corticoide) gezählt werden. Aufgrund ihrer vielseitigen pharmakologischen Wirkungen sind sie weit verbreitete Arzneimittel und haben somit auch eine große wirtschaftliche Bedeutung. Weitere Gruppen der natürlich vorkommenden Steroide sind u. a. Sterine bzw. Sterole (Cholesterin, Ergosterin, Stigmasterin), herzaktive Steroide (Cardenolide, Bufadienolide), Vitamine der D-Reihe, Saponine (Digitonin), Gallensäuren und die teilweise hochaktiven Steroid-Alkaloide (*Solanum*-, *Veratrum*- und *Holarrhena*-Alkaloide).^[4]

2.1 Nomenklatur der Steroide

Das Grundgerüst aller Steroide ist das aus vier kondensierten Ringen bestehende Perhydrocyclopenta[*a*]phenanthren $C_{17}H_{28}$, kurz Gonan genannt. Die Ringe werden mit A, B, C und D bezeichnet.^[3] Die Numerierung des Gerüsts erfolgt in von regulärer Zählweise abweichender Art wie in Tab. 1 beschrieben. Der Stammkohlenwasserstoff wird ausschließlich durch das Vorhandensein oder Fehlen von Substituenten an C-10, C-13 und C-17 definiert. Als Beispiel ist das Estrangerüst durch das Vorliegen einer angulären Methylgruppe an C-13 bei gleichzeitigem Fehlen von Substituenten an C-10 und C-17 charakterisiert. Als Basis für die Nomenklatur der Stereochemie dient die Konfiguration an C-5 des Stammkohlenwasserstoffs. Liegt an diesem Zentrum eine *R*-Konfiguration vor, so spricht man von einem Steroid der 5α -Reihe; liegt eine *S*-Konfiguration vor, so spricht man von einem Steroid der 5β -Reihe. Alle anderen Substituenten des Steroids werden bezüglich ihrer relativen Konfiguration zu C-5 bezeichnet. Befinden sie sich auf der gleichen Seite der durch das Ringgerüst aufgespannten Molekülebene wie das Wasserstoffatom an C-5, so erhalten sie auch den gleichen griechischen Buchstaben zur



Grundgerüst	R ¹	R ²	R ³
Gonan (C ₁₇)	H	H	H
Estran (C ₁₈)	H	CH ₃	H
Androstan (C ₁₉)	CH ₃	CH ₃	H
Pregnan (C ₂₁)	CH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅
Cholan (C ₂₄)	CH ₃	CH ₃	
Cholestan (C ₂₇)	CH ₃	CH ₃	
Ergostan (C ₂₈)	CH ₃	CH ₃	
Stigmastan (C ₂₉)	CH ₃	CH ₃	

Tab. 1. Bezifferung und Nomenklatur der Steroidgrundkörper

Beschreibung ihrer Stereochemie; befinden sie sich auf der entgegengesetzten Seite, so erhalten sie den entsprechend anderen Buchstaben. Ist die Stereochemie unbekannt oder beliebig, so wird ein ξ als Stereodeskriptor verwendet. Dabei ist zu berücksichtigen, daß nach der Häufigkeit der natürlichen Verbindungen die Stereozentren C-8 (β), C-9 (α), C-10 (β), C-13 (β), C-14 (α) und C-17 (β , wenn C-20 vorhanden) *per definitionem* festgelegt wurden und bei der Benennung einer Verbindung nur dann anzugeben sind, wenn sie von der Definition abweichen oder gleichzeitig ein Substituent mit höherer Priorität vorhanden ist (s. Abb. 2, Beispiel 2). Doppelbindungen werden unter Angabe des C-Atoms mit der kleineren Nummer regulär in den Namen eingebaut.

Sind zwei C-Atome durch eine Doppelbindung verbunden, die gemäß der Numerierung nicht direkt hintereinander folgen, so wird das C-Atom mit der höheren Nummer dem anderen in Klammern nachgestellt. Zwei Beispiele für die systematische Nomenklatur von Steroiden sind zusammen mit den gängigen Trivialnamen in Abb. 2 dargestellt.

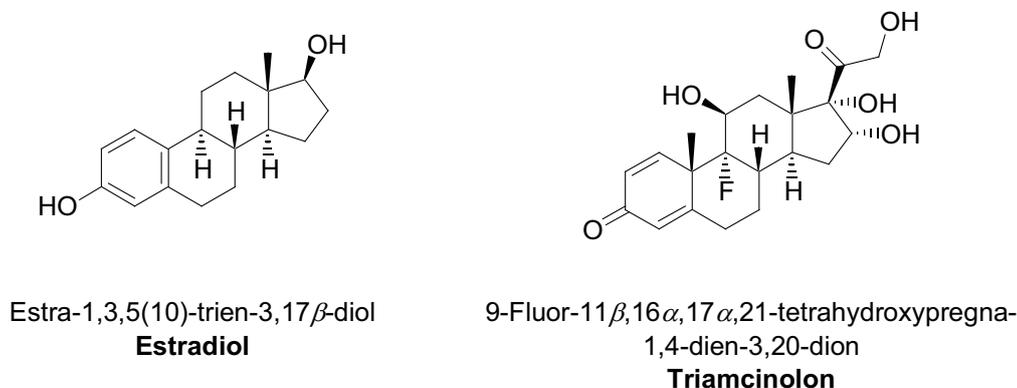


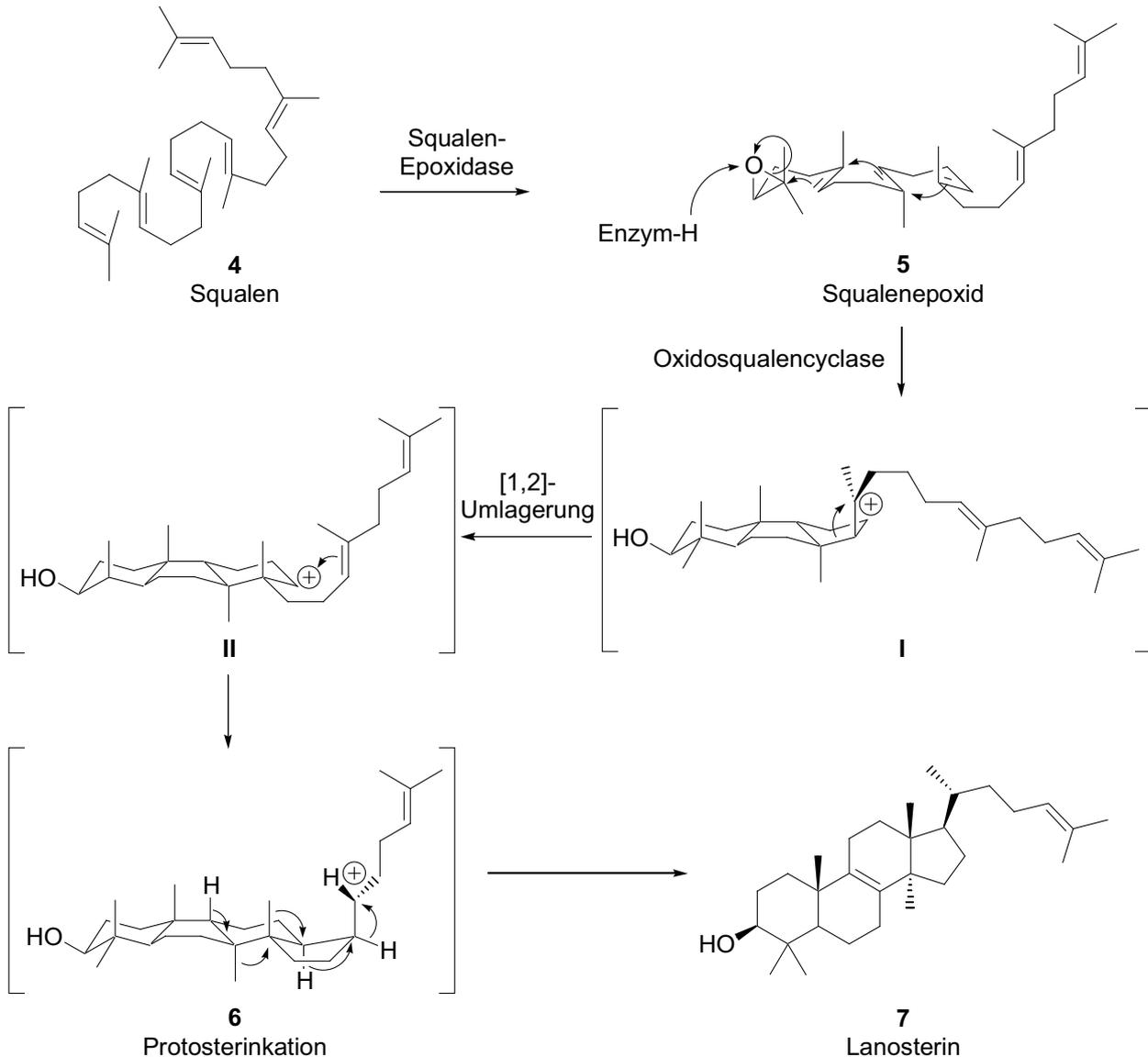
Abb. 2. Zwei Beispiele für die systematische Benennung von Steroiden

Natürlich vorkommende Steroide zeigen nur wenige der theoretisch denkbaren Ringverknüpfungsmöglichkeiten. Im A/B-System werden sowohl *trans*- als auch (seltener) *cis*-Verknüpfung beobachtet. B- und C-Ring zeigen in der Natur stets eine 8 β ,9 α -*trans*-Verknüpfung, und die Ringe C und D sind überwiegend *trans*-verknüpft; für die herzaktiven Verbindungen (Cardenolide, Bufadienolide) wird hier allerdings eine *cis*-Verknüpfung beobachtet. Die meisten natürlich vorkommenden Steroide liegen in der thermodynamisch bevorzugten *trans,anti,trans,anti,trans*-Sesselkonformation vor.

2.2 Biosynthese der Steroide

Ausgangspunkt für die Biosynthese der Steroide ist das Triterpen Squalen **4**, welches zunächst enzymatisch aus Acetat-Einheiten aufgebaut wird.^[5] Nach selektiver Oxidation zum (3*S*)-2,3-Oxidosqualen (Squalenepoxid) **5** durch das Enzym Squalen-Epoxidase erfolgt eine enzymatisch induzierte und gesteuerte kationische Kaskadencyclisierung zum tetracyclischen Protosterinkation **6**, aus welchem durch eine Sequenz von 1,2-Methylgruppen- und Hydrid-Shifts Lanosterin **7** gebildet wird (s. Schema 1).^[6] Dabei werden hochselektiv sechs Stereozentren gleichzeitig aufgebaut. Die Gesamtreaktion ist stark exotherm, da insgesamt drei Doppelbindungen aufgelöst und vier Einfachbindungen neu geknüpft werden. Zusätzliche Energie liefert die enzymatisch katalysierte Ringöffnung des Epoxids. Die Aktivierungsenergie für kationische Cyclisierungen ist dagegen sehr gering. Bei konformativ beweglichen Substraten

konkurrieren deshalb stets zahlreiche energetisch wenig unterschiedliche Reaktionsvarianten miteinander und führen ohne enzymatische Kontrolle der Substratkonformation zu einer Vielzahl von Produkten.^[7] Aus diesem Grund konnte bis heute die Squalencyclisierung synthetisch nur unter Beteiligung von Enzymen erfolgreich durchgeführt werden.



Schema 1. Postulierter Mechanismus der Biosynthese von Lanosterin 7

Der genaue Mechanismus der Lanosterin-Biosynthese ist weiterhin nicht vollständig geklärt und deshalb Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Forschung.^[7] Als gesichert gilt, daß die Öffnung des Epoxidringes einer elektrophilen Aktivierung durch das Enzym bedarf und konzertiert mit einem nucleophilen Angriff der Doppelbindung abläuft. Verschiedene kinetische Messungen an Modellverbindungen oder modifizierten Squalenen konnten zeigen, daß die Geschwindigkeit der Cyclisierung bei steigender Nucleophilie der Doppelbindung erheblich

zunimmt.^[8] Auch Computersimulationen legen nahe, daß Epoxidöffnung und nucleophiler Angriff konzertiert verlaufen.^[9]

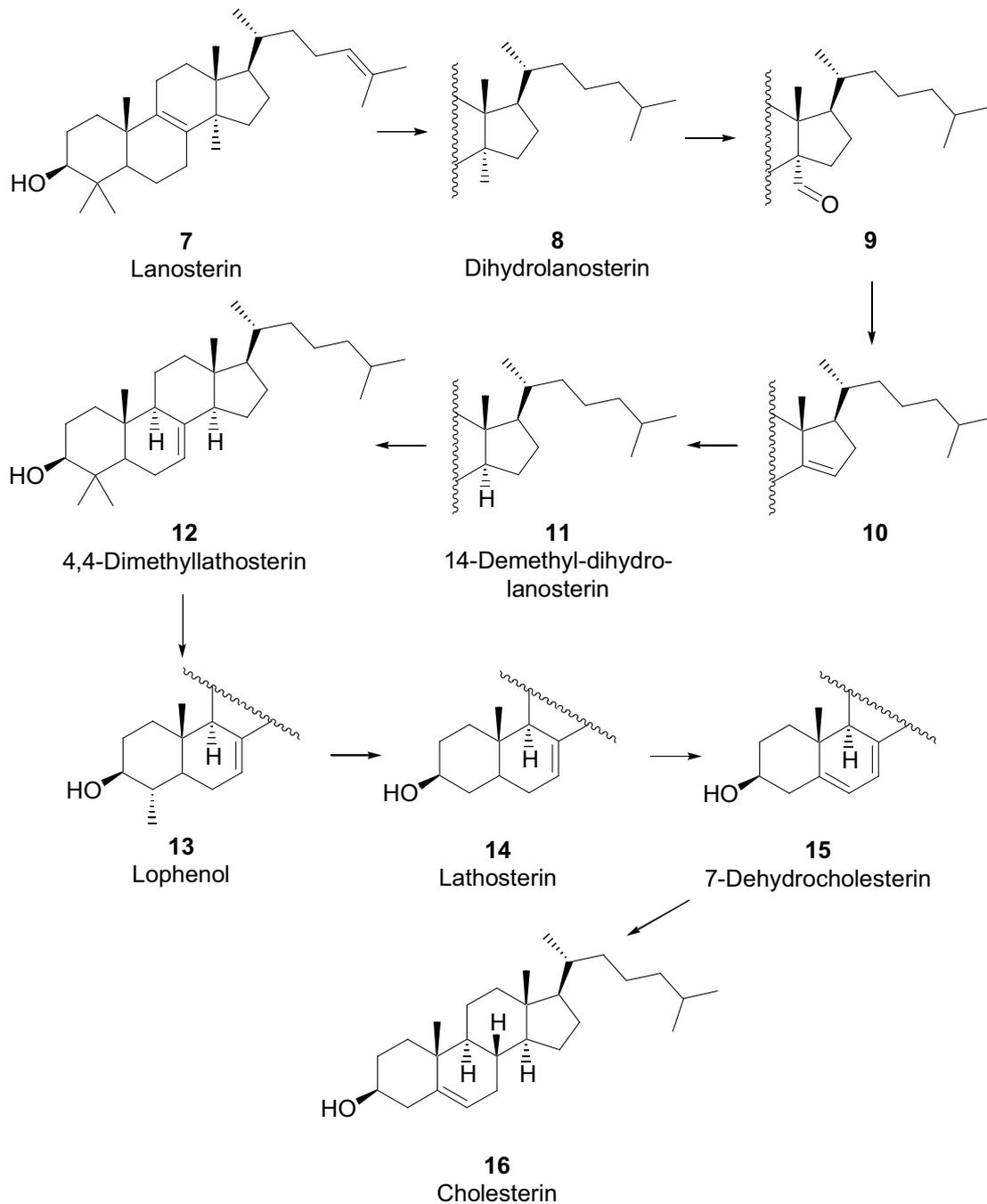
Ob die Bildung des B- und C-Rings gleichzeitig mit der Bildung des A-Rings ablaufen, ist noch ungeklärt. Experimentelle Ergebnisse^[10] und Computersimulationen^[9a] legen aber die Vermutung nahe, daß zunächst ein fünfgliedriger C-Ring und damit das zu erwartende *Markownikow*-Produkt **I** gebildet wird. Bei mechanistischen Untersuchungen konnten mehrere Produkte auf dieser Stufe abgefangen werden.^[10] Anschließend erfolgt wahrscheinlich eine [1,2]-Umlagerung zu **II**, wobei der sechsgliedrige C-Ring entsteht.

Im Gegensatz zu früheren Annahmen^[4,10e,11] ist die Seitenkette an C-17 des Protosterinkations **6** nicht α -, sondern β -ständig. Experimentell konnte ein Protosterinkation mit der vermuteten β -Konfiguration abgefangen werden.^[12] Der fünfgliedrige D-Ring wird damit nicht über eine *exo*-, sondern über eine *endo*-Cyclisierung gebildet. Begründet wird dies mit der beobachteten Stereochemie an C-20 des Lanosterins **7**, für deren Realisierung die Seitenkette im Falle einer α -Orientierung eine weit größere Drehung um die C-17–C-20-Einfachbindung als im Falle einer β -Orientierung vollführen müßte.

Die abschließende Kaskade von 1,2-Methyl- und Hydrid-Shifts kann möglicherweise auch ohne enzymatische Beteiligung ablaufen. Mehrere Untersuchungen zur Cyclisierung von Squalenepoxid **5** und Strukturanaloga zeigt das Auftreten von Umlagerungen auch in Gegenwart einfacher *Lewis*-Säuren.^[13] Somit ist es wahrscheinlich, daß für diesen Teil der Biosynthese das umgebende Enzym nur eine Schutzfunktion vor Nucleophilen (Wasser) und basischen Gruppen ausübt, die unerwünschte Eliminierungen oder Abfangreaktionen auslösen könnten.^[7] Lediglich die abschließende Deprotonierung an C-9 zum Lanosterin **7** verläuft höchstwahrscheinlich unter aktiver Beteiligung des Enzyms.

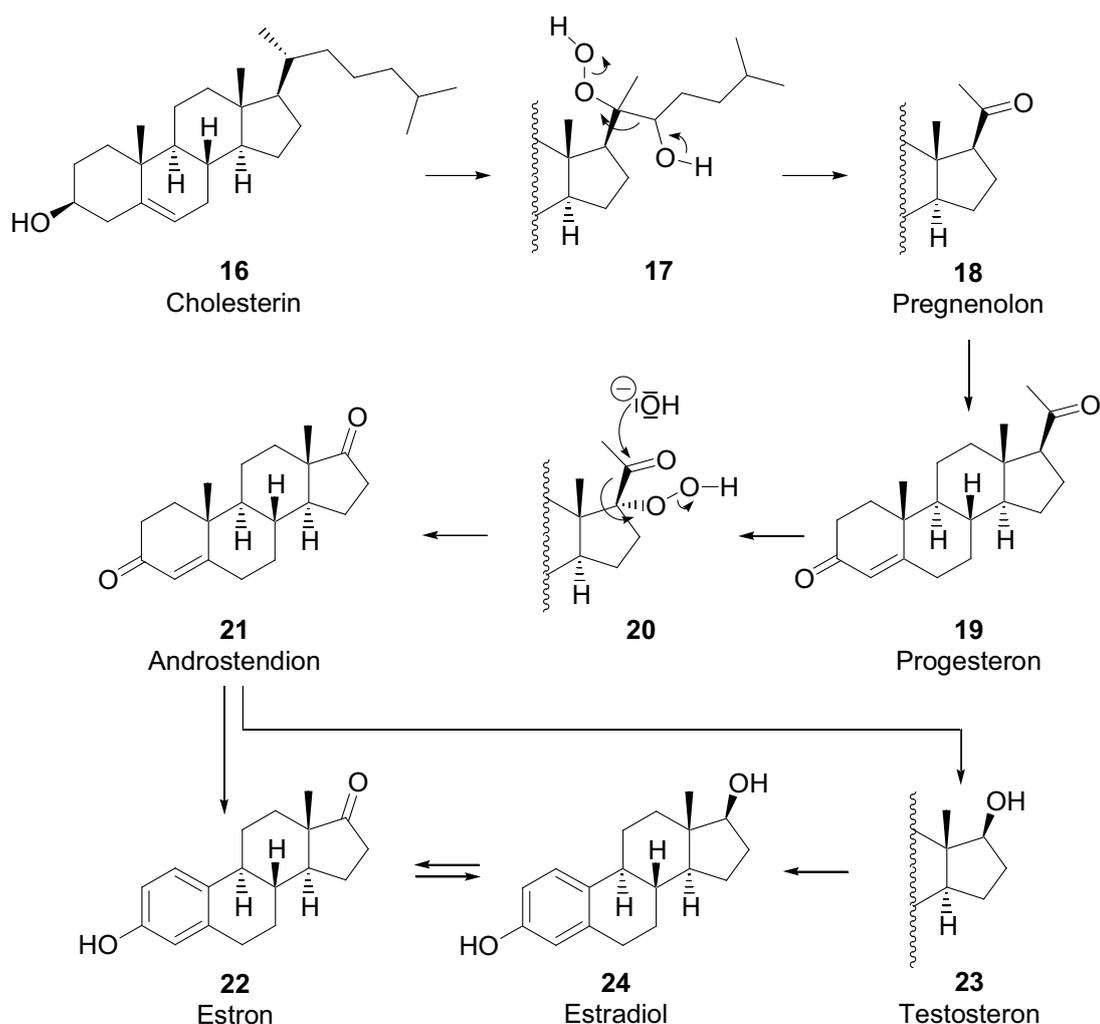
Alle Steroid-Hormone in Säugetieren leiten sich vom Cholesterin **16** ab, welches seinerseits biosynthetisch in einer vielstufigen Sequenz aus Lanosterin **7** gewonnen wird (s. Schema 2).^[14] Dabei sind allerdings bis heute zahlreiche der postulierten Intermediate nicht zweifelsfrei nachgewiesen. Im ersten Schritt wird die Doppelbindung zwischen C-24 und C-25 durch eine NADPH-abhängige Reduktase zur Einfachbindung reduziert. Das so erhaltene Dihydrolanosterin **8** wird an C-14 demethyliert, wobei Verbindung **9** als Zwischenstufe auftritt und ein Molekül Ameisensäure abgespalten wird. Die entstandene Doppelbindung in **10** wird wiederum NADPH-abhängig reduziert. Als nächstes findet im erhaltenen 14-Demethyl-dihydrolanosterin **11** eine Doppelbindungsisomerisierung zum 4,4-Dimethylathosterin **12** statt. Die 4 α -Methylgruppe wird oxidativ abgespalten, wobei ein Molekül CO₂ frei wird und eine abschließende Isomerisierung

der 4β -Methylgruppe in die 4α -Orientierung erfolgt. Das jetzt vorliegende Lophenol **13** wird an C-4 nochmals unter Abspaltung von CO_2 zu Lathosterin **14** demethyliert, welches durch Einwirkung der Lathosterin-Oxidase zum 7-Dehydrocholesterin **15** dehydriert wird. Abschließende Reduktion der Doppelbindung zwischen C-7 und C-8 durch die NADPH-abhängige 7-Dehydrocholesterin-Reduktase liefert Cholesterin **16**, welches im menschlichen Körper mittels Biosynthese täglich in Mengen von bis zu zwei Gramm hergestellt wird.



Schema 2. Postulierte Biosynthese von Cholesterin **16** aus Lanosterin **7**

Die für diese Doktorarbeit bedeutsamen weiblichen Sexualhormone Estron **22** und Estradiol **24** werden biosynthetisch durch eine Reihe von oxidativen Abbauprozessen aus Cholesterin **16** hergestellt (s. Schema 3).^[14,15] Zunächst erfolgt die Bildung des Peroxids **17** durch eine Cytochrom P450-abhängige Oxygenase. Die Seitenkette wird dann als 4-Methylpentanal abgespalten. Das resultierende Pregnenolon **18** wird durch Oxidation der Alkoholfunktionalität an C-3 zum Keton und Isomerisierung der Doppelbindung in Progesteron **19** umgewandelt. Eine weitere Oxidation an C-17 führt zum Hydroperoxid **20**, aus welchem unter Abspaltung von Essigsäure Androstendion **21** hervorgeht. Estron **22** entsteht bei der oxidativen Entfernung der Methylgruppe an C-10, wobei eine Aromatisierung des A-Ringes eintritt. Estradiol **24** kann aus Estron **22** durch Reduktion der Ketogruppe gebildet werden. Es entsteht aber auch aus Testosteron **23** durch oxidative Demethylierung an C-10 unter Aromatisierung des Ringes A. Durch Oxidation kann es in Estron **22** überführt werden.



Schema 3. Biosynthese von Estron **22** und Estradiol **24** aus Cholesterin **16**

2.3 Beispiele für bedeutende Klassen von Steroiden

2.3.1 Sexualhormone

Die Sexualhormone werden in den Keimdrüsen gebildet und sind für die Entwicklung und die normale Funktion der Geschlechtsorgane sowie für die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale verantwortlich. Sie entstammen dem gleichen Biosyntheseweg (s. Schema 3) und sind deshalb strukturell sehr ähnliche Verbindungen. Man unterscheidet männliche (Androgene) und weibliche (Estrogene, Gestagene) Sexualhormone, woraus aber lediglich die Wirkung und nicht das Vorkommen abgeleitet werden kann. So enthält z. B. Hengstharn mehr weibliche Hormone als Stutenharn, was jedoch durch ein entsprechend höheres Vorkommen an männlichen Hormonen überkompensiert wird.

Das wichtigste männliche Geschlechtshormon ist das Testosteron **23** (Schema 3). Es fördert u. a. die Entwicklung der Muskulatur, des Knochenbaus, des Kehlkopfes, der Stimmbänder und der roten Blutkörperchen und ist verantwortlich für das Wachstum der Körperbehaarung. Unverzichtbar ist es für die Spermatogenese, die Funktion bestimmter Geschlechtsdrüsen sowie für die Aufrechterhaltung von Aktivität, Aggressivität, Spannkraft und Leistungsfähigkeit. Von Testosteron **23** werden täglich im männlichen Körper ca. 7 mg, im weiblichen immerhin noch ca. 0.3 mg produziert. Ein weiterer wichtiger Vertreter der Androgene ist das Androsteron **25**, welches ein Abbauprodukt des Testosterons **23** darstellt, aber nur ca. 10 % von dessen Aktivität erreicht (Abb. 3). Ein charakteristisches Merkmal der männlichen Geschlechtshormone ist ihre anabole Wirkung, d. h. die Förderung des Eiweiß- und damit des Muskelaufbaus. Viele Versuche wurden unternommen, diesen Effekt durch synthetische Modifikationen von den übrigen hormonellen Wirkungen zu trennen; Beispiele hierfür sind das Clostebol **26** und das Nandrolon **27** (Abb. 3). Die so entstandenen synthetischen anabolen Steroide waren ursprünglich zur Behandlung schwerster Krankheiten gedacht, finden aber heute ihr Haupteinsatzgebiet als illegale und aufgrund der Nebenwirkungen höchst riskante Dopingmittel im Hochleistungssport.

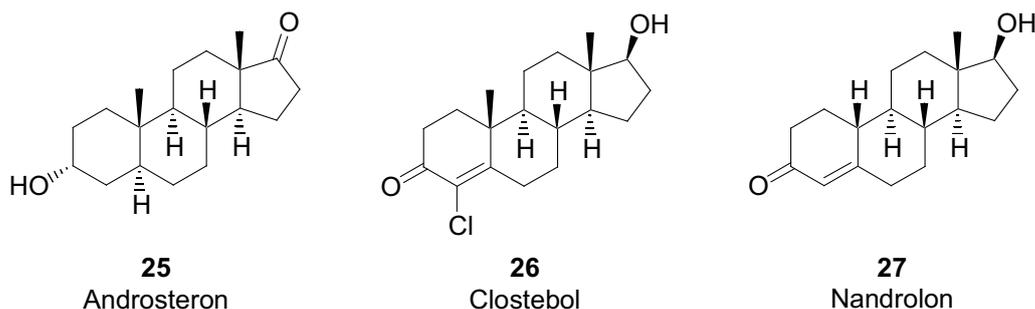


Abb. 3. Strukturen des Androsterons **25** und der anabolen Steroide Clostebol **26** und Nandrolon **27**

Die weiblichen Sexualhormone werden in die Gruppen der Estrogene und der Gestagene unterteilt. Erstere werden vorwiegend in den Follikeln des Eierstocks, aber auch im Gelbkörper (*corpus luteum*), in den Nebennieren, im Fettgewebe und in nicht unerheblichem Maße in den männlichen Keimdrüsen gebildet. Der Wirkmechanismus der Estrogene beruht auf der Bindung an intrazelluläre Estrogen-Rezeptoren. Der dabei entstehende Komplex kann an die DNS binden und die Transkription spezifischer Gene beeinflussen. Die Estrogene haben ebenfalls schwach anabole Wirkung. Sie beeinflussen u. a. die Wasserretention der Haut, verhindern die Entkalkung der Knochen und stimulieren die Milchdrüsen. Ihre wichtigste Funktion liegt aber in der Regulation des weiblichen Menstruationscyclus. Im männlichen Organismus wirken sie als Antagonisten der Androgene. Weitere aktuelle Aspekte ihrer pharmakologischen Wirkungen werden in Abschnitt I.4 näher erläutert. Die bedeutendsten Vertreter der Estrogene sind Estrogen **22** und Estradiol **24** (Schema 3). Estriol **28** ist ein gemeinsames Stoffwechselprodukt der beiden Verbindungen (Abb. 4). Verwendet werden die Estrogene hauptsächlich in Kombination mit Gestagenen in Antikonzeptiva (zumeist in Form synthetischer Derivate wie Mestranol **29**) und in der sog. Hormonersatztherapie zur Linderung menopausaler Beschwerden und zur Prävention der Osteoporose. Allerdings ist die Anwendung seit einigen Jahren durch das erheblich erhöhte Risiko einer Brustkrebserkrankung stark in die Kritik geraten.^[16]

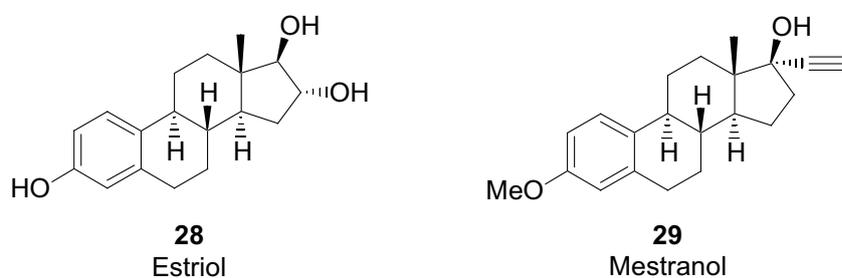


Abb. 4. Strukturen von Estriol **28** und Mestranol **29**

Die Gestagene werden im weiblichen Körper vor allem im Gelbkörper (*corpus luteum*) gebildet, der nach der Ovulation aus dem gesprungenen Follikel entsteht. Nach der Konzeption werden sie vorwiegend in der Placenta produziert. Ihre Hauptaufgabe besteht in der Vorbereitung des weiblichen Körpers auf eine Schwangerschaft. Unter ihrer Einwirkung werden u. a. die Gebärmutterschleimhaut auf die Einnistung einer Eizelle vorbereitet, die Reifung weiterer Follikel unterdrückt und der Aufbau der funktionellen Abschnitte der Milchdrüsen angeregt. Der wichtigste Vertreter der Gestagene ist das Progesteron **19**, das im Biosyntheseweg der Steroid-Hormone eine sehr frühe Stellung einnimmt und den Vorläufer aller weiteren männlichen und weiblichen Sexualhormone darstellt (Schema 3). Verwendet werden die Gestagene hauptsächlich

in Kombination mit Estrogenen in Antikonzeptiva. Hierbei kommen meistens synthetische Derivate wie Medrogeston **30** oder sogenannte Pro-Gestagene wie Desogestrel **31** zum Einsatz, die erst im Körper zur eigentlich wirksamen Spezies metabolisiert werden (Abb. 5).

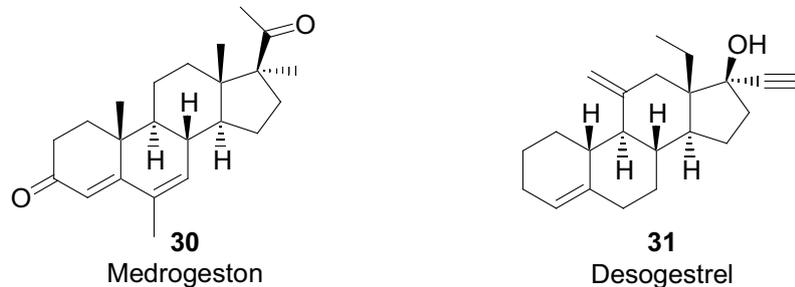


Abb. 5. Strukturen der synthetischen Gestagene Medrogeston **30** und Desogestrel **31**

2.3.2 Nebennierenrindenhormone

Die lebenswichtigen Nebennierenrindenhormone oder Corticoide (lat.: *cortex* = Rinde) werden von der Nebenniere, einer Drüse in der Nähe der Nieren, produziert. Man unterscheidet die Klassen der Glucocorticoide und der Mineralcorticoide.

Die Glucocorticoide regeln Eiweiß- und Kohlenhydrat-Stoffwechsel im menschlichen Körper und stimulieren den Aufbau von Speicherfetten. Aufgrund ihrer antirheumatischen und anti-phlogistischen Wirkungen finden sie in der Medizin äußerst breite Anwendung zur Behandlung von Entzündungsprozessen verschiedenster Art, u. a. auch bei Arthritis und Allergien. Der bekannteste Vertreter dieser Klasse ist das Cortison **32** (Abb. 6). Glucocorticoide haben stets auch leichte mineralcorticoide Wirkungen, was in der Therapie zu unerwünschten Begleiterscheinungen wie z. B. starker Wasserretention führt. Durch zahlreiche chemische Modifikationen konnten das Verhältnis zugunsten der positiven Effekte verschoben und die Wirkung verstärkt werden. Beispiele für die verbesserten Glucocorticoide sind das Prednisolon **33** und das Dexamethason **34** (Abb. 6).

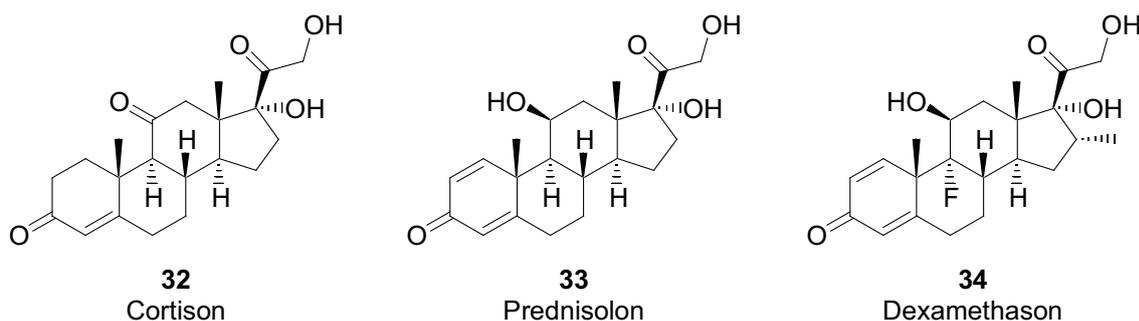


Abb. 6. Strukturen der Glucocorticoide Cortison **32**, Prednisolon **33** und Dexamethason **34**

Die Mineralcorticoide sind im menschlichen Organismus für die Regelung des Mineralhaushalts zuständig. Der wichtigste Vertreter, das Aldosteron **35** (Abb. 7), führt in der Niere im Rahmen des sogenannten Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) direkt zur verstärkten Rückresorption von NaCl und H₂O aus dem Primärharn. Calcium- und Kaliumsalze werden dagegen verstärkt ausgeschieden. Bemerkenswert ist die spezielle chemische Struktur des Aldosterons **35** mit einer Aldehydfunktionalität an C-18; es liegt normalerweise in der 11,18-Halbacetalform vor. Ein weiteres Mineralcorticoid, das Cortexon **36** (Abb. 7), wird interessanterweise von bestimmten Käferarten in großen Mengen als lähmendes Gift zur Abwehr von Fraßfeinden (Fischen) produziert.

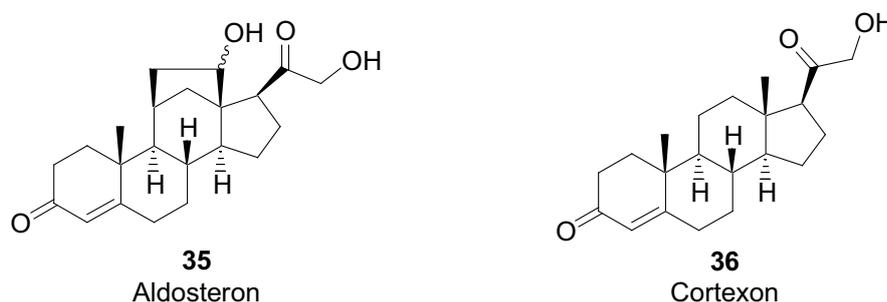


Abb. 7. Strukturen der Mineralcorticoide Aldosteron **35** und Cortexon **36**

2.3.3 Steroid-Alkaloide

Steroid-Alkaloide sind stickstoffhaltige Steroide, die vorwiegend von höheren Pflanzen, aber auch von einigen Tieren produziert werden. Der Stickstoff kann entweder in einen Ring eingebaut sein oder als Amino-Substituent vorliegen. Die Stickstoff-Alkaloide sind oft biologisch hochaktiv und von teilweise bemerkenswerter Toxizität. Einige Verbindungen weisen auch ein hohes teratogenes Potential auf. Aus der großen Vielfalt an Strukturen sollen hier drei Beispiele vorgestellt werden (Abb. 8).

Solanidin **37** ist das Aglykon des α -Solanins, welches in einer Reihe von Nachtschattengewächsen (*Solanum*-Arten) vorkommt und als Cholinesteraseinhibitor wirkt. Vergiftungen beim Menschen werden insbesondere beim Verzehr von unreifen, grünen oder keimenden Kartoffeln oder von unreifen Tomaten beobachtet. Der Gehalt an α -Solanin kann in Kartoffeln bis zu 0.05 % betragen. Als unbedenklich werden Konzentrationen bis zu 0.01 % betrachtet.

Batrachotoxin **38** zählt zu den tierischen Steroid-Alkaloiden und wurde aus dem Pfeilgiftfrosch *Phyllobates aurotaenia* isoliert. Es ist eines der stärksten bekannten nicht-proteinogenen Gifte. Mit einem LD₅₀-Wert (Maus) von 2 μ g/kg ist es im Vergleich 5000mal giftiger als NaCN. Seine physiologische Wirkung beruht auf der irreversiblen Öffnung der Zellmembranen des zentralen