

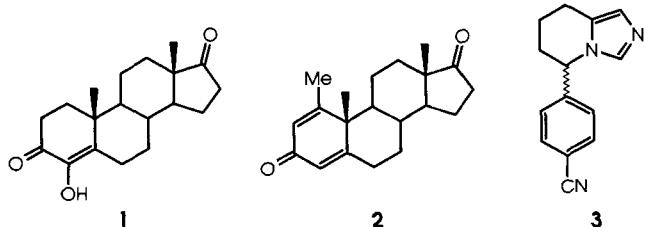
### Squalenfaltung, ein alter Bekannter?

Von *Rolf Bohlmann\**

Die Bedeutung von Steroidhormonen für die Fortpflanzung<sup>[1]</sup> und Geschlechtsdifferenzierung ist spätestens seit den sechziger Jahren gut bekannt. Andere klassische Anwendungen der Steroide in der medizinischen Therapie sind Corticoide als Entzündungshemmer und Steroidglycoside aus Digitalis-Arten zur Behandlung der Herzinsuffizienz. Die synthetische Organische Chemie erhielt starke Impulse durch die Bearbeitung und Lösung der regio- und stereochemischen Probleme, die diese Stoffklasse aufwirft. Die Realisierung der enantioselektiven Totalsynthese einiger Steroide im industriellen Maßstab ist ein zentraler Meilenstein der Steroidforschung<sup>[1, 2]</sup>, der viele Forscher zu der Ansicht verleitet haben mag, daß diese damit abgeschlossen sei. Die bisher beschriebenen Wirkungen von Steroiden sind alle der Natur abgeschaut und zum Teil durch die Ergebnisse der biologischen und chemischen Forschung optimiert worden. Dies gilt nicht für Antihormone, die die Wirkung von Hormonen antagonisieren. Da dieser Vorgang in der Natur nicht beobachtet wird, wurde nicht gezielt nach Antihormonen gesucht, so daß die Entdeckung des ersten, stark wirksamen Antiandrogens ein Zufall war<sup>[3]</sup>.

Das Ausschalten der Hormonwirkung kann nicht nur durch Antihormone erreicht werden, denn Antihormonwirkung kann auch aus den Resultaten der Grundlagenforschung zur Biogenese der Steroide<sup>[4]</sup> abgeleitet werden. Die Biogenese verschiedener Hormone aus Cholesterin erfordert viele Reaktionsschritte, die durch unterschiedliche Enzyme katalysiert werden. Durch genaue Kenntnis der Abläufe und der beteiligten Enzyme kann man gezielt die Biogenese eines Hormons im Organismus durch Hemmen eines bestimmten, für dieses Hormon wichtigen Enzyms verhindern.

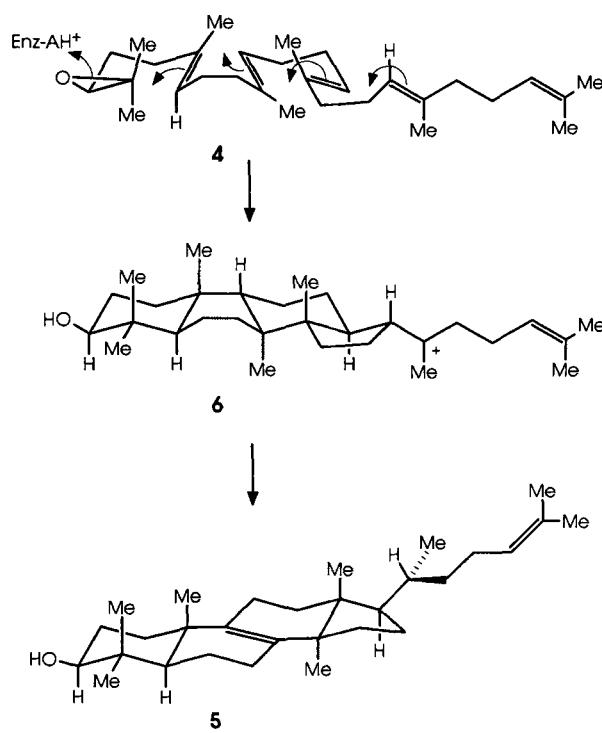
Ein Erfolg in diesem Sinne<sup>[5]</sup> ist die Entwicklung der selektiven Aromatasehemmer<sup>[6]</sup>, die die Bildung der Estrogene hindern und damit die Estrogenwirkung vermindern. Beispiele für Aromatasehemmer in der Entwicklung zur Behandlung hormonabhängiger Tumore sind die Steroide Formestane **1** und Atamestane **2**<sup>[7]</sup>, aber auch das Nichtsteroid Fadrozole **3**.



Diese Beispiele zeigen, wie wichtig die Grundlagenforschung für das Erkennen neuer Anwendungen ist. Trotz der möglichen Totalsynthese von Steroiden und vielfältiger Partialsynthesen sind noch viele Fragen offen. In diesem Umfeld

wird die Bedeutung einiger neuerer Arbeiten zur Biogenese von Sterolen verständlich.

Der markanteste Schritt in der Biosynthese des Cholesterins ist sicherlich die als Squalenfaltung bekannte, vierfache Cyclisierung von 2,3-Oxidosqualen **4** zum Lanosterol **5**. Diese erstaunliche Reaktion wird von der Sterolcyclase in nur einem Schritt bewirkt (Schema 1). Die Reinigung dieses besonders interessanten Enzyms ist jedoch lange Zeit nicht gelungen, da es sich um ein membrangebundenes System mit geringer Stabilität und Löslichkeit handelt. Jetzt ist es Corey et al. gelungen, das Enzym zu reinigen<sup>[8]</sup>. Der Schlüssel zum Erfolg lag dabei in der geschickten Wahl einer Affinitätsmatrix, die es ermöglichte, sowohl die Wasserstoffbrückenbindungen als auch die hydrophobe Gestalt von Squalen nachzuahmen.



Schema 1. Vierfache Cyclisierung von Oxidosqualen **4** zu Lanosterol **5**, genannt Squalenfaltung.

Die vorgereinigten Sterolcyclase-haltigen Microsomen wurden durch Chromatographie an DEAE-Sepharose und DEAE-Cellulose konzentriert und die aktive Fraktion anschließend auf der Affinitätsäule erfolgreich gereinigt. Das isolierte Enzym ist bei 0 °C mindestens 14 Tage ohne Aktivitätsverlust haltbar. Somit ist die Klonierung des Sterolcyclase-Gens und schließlich die Aufklärung der Struktur möglich.

Solange die dreidimensionale Struktur eines Enzyms noch nicht bekannt ist, können mechanistische Aspekte nur durch Umsetzungen von natürlichen oder synthetischen Modellspezies mit Enzympräparationen studiert werden. Besonders durch isotopenmarkierte Verbindungen kann man

[\*] Dr. R. Bohlmann

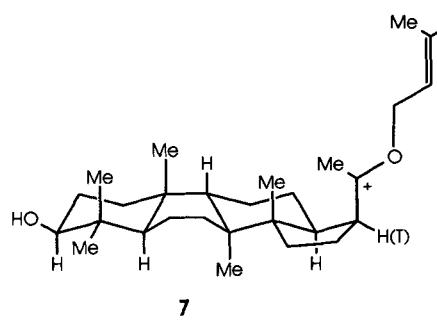
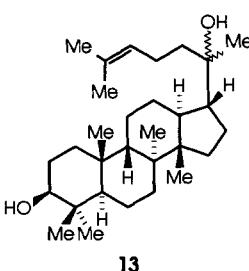
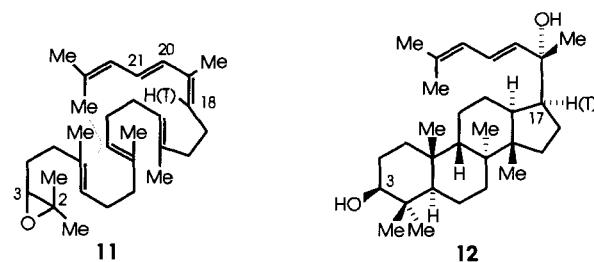
Institut für Arzneimittelchemie der Schering AG  
Müllerstraße 170–178, W-1000 Berlin 65

Konstitutionsveränderungen gut untersuchen. Von mehreren Arbeitsgruppen wurde die konstitutionelle Stimmigkeit der Squalenfaltung durch Versuche mit unterschiedlich markierten Ausgangsmaterialen bestätigt. Daher ist es wirklich überraschend, daß die Stereochemie in 17- und 18-Stellung dieser wohlbekannten Reaktion offenbar erst jetzt richtig verstanden wird.

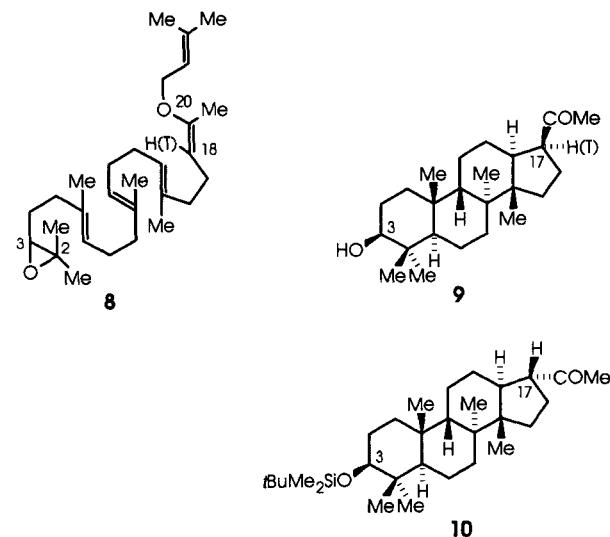
Das vom Squalen abgeleitete kationische Protosterol **6** trägt nach neuesten Untersuchungen<sup>[19]</sup> eine  $17\beta$ -ständige Seitenkette und nicht – wie bisher alle Untersuchungen annahmen – eine  $\alpha$ -ständige Seitenkette. Dieser Irrtum machte die Stereochemie am benachbarten C20 schwer verständlich. Die natürliche Konfiguration dieses Zentrums hätte nämlich eine ungewöhnlich lange  $120^\circ$  – statt einer kurzen  $60^\circ$ -Drehung im Enzym erfordert. Um diese Unstimmigkeit zu erklären, wurden unterschiedliche Hypothesen aufgestellt und zum einen „nichtklassische“ Carbokationen, zum anderen sogenannte „X-Gruppen“ des Enzyms dafür herangezogen.

Für das Vorliegen der  $17\beta$ -Stereochemie im Zwischenprodukt **7** der Sterolbiogenese spricht das Ergebnis der Inkubation des 20-Oxa-Analogons von 2,3-Oxidosqualen **8**. Über-

Angeregt durch diese Befunde wurde auch die Stereochemie der Biotransformation von 20,21-Dehydro-2,3-oxidosqualen **11** neu untersucht<sup>[10]</sup>. Als Ergebnis dieser Arbeiten zeigte sich, daß nur das (18E)-Isomer **11** durch das gereinigte Enzym umgesetzt wird. Dabei wird das Prostostadiol **12** gebildet, dessen Struktur durch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie sowie Röntgenstrukturanalyse eines Derivates belegt ist.

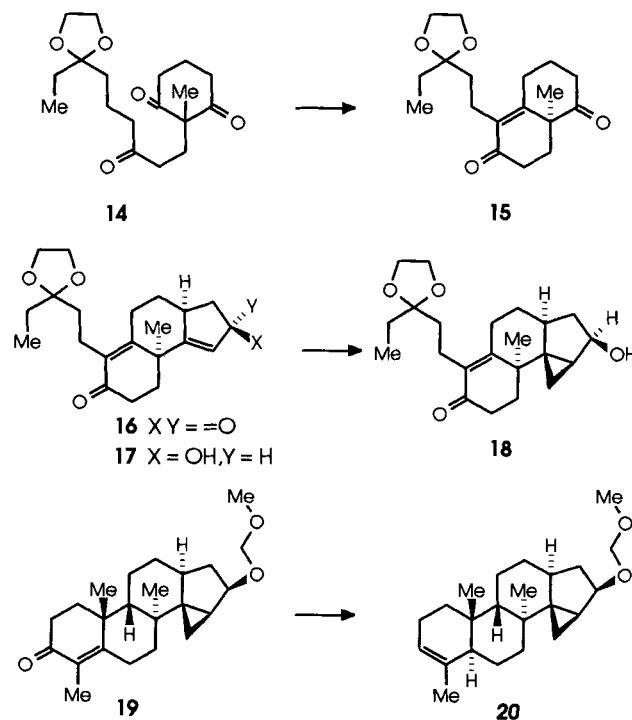


raschenderweise bildet sich stereoselektiv das thermodynamisch instabile  $17\beta$ -Acetyl-**9**, das als 3-*tert*-Butyldimethylsilylether mit 1% Kalilauge bei  $50^\circ\text{C}$  in 2 h komplett in das stabile  $17\alpha$ -Isomer **10** überführt wird. Verbindung **7** ist auch als 18-Tritioverbindung hergestellt und cyclisiert worden, wobei sich das Tritium – nun erwartungsgemäß – in  $17\alpha$ -Stellung von **9** befindet. Durch die oben angegebene basische Isomerisierung wird das Tritium vollständig ausgewaschen.



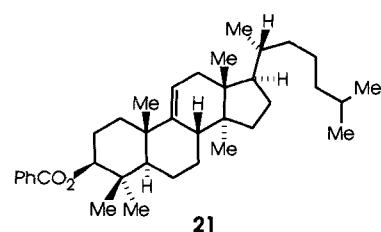
Wiederum verläuft die Fünfringbildung unter Erzeugung der  $17\beta$ -Seitenkette. Die Regioselektivität der Hydroxylierung zeigt eine Bevorzugung von C20. Bezogen auf die (18E)-Doppelbindung in 20,21-Dehydro-2,3-oxidosqualen **11** werden die neuen C-C- und C-O-Bindungen *trans*-dialixial gebildet.

Einblicke in die komplexen mechanistischen und stereochemischen Zusammenhänge dieser Reaktionen wurden durch elegante organisch präparative Arbeiten ermöglicht. Unter anderem wurde eine neue enantioselektive Totalsynthese von



Protostendiol **13**<sup>[11]</sup> für Vergleichszwecke entwickelt. Der enantioselektive Schritt ist eine Aldolcyclisierung<sup>[12]</sup> des Triketons **14** in Gegenwart von (*S*)-Phenylalanin und (+)-Camphersulfonsäure. Nach 24 Tagen bei 23 °C wird 77% Endion **15** mit 95% ee isoliert. Anschließend folgt eine regio- und stereoselektive Anellierung in drei Stufen zum tricyclischen Diendion **16**. Eine Reaktion dieser Sequenz benötigt 1 Äquivalent Quecksilber(II)-chlorid als Katalysator.

Das Molekül wird über eine regio- und stereoselektive Reduktion des Fünfring-Enons **16** zum 16 $\beta$ -Alkohol **17** weiter aufgebaut, wobei der Fünfring nun für die Einführung der 14,15 $\beta$ -Methylengruppe in **18** vorbereitet ist. Diese dient sowohl als Vorstufe zur Bildung der 14 $\beta$ -Methylgruppe als auch zur Lenkung bei der Einführung der 17 $\alpha$ -Seitenkette. Im Verlauf der weiteren Synthese wird ausgehend vom Enon **19** über eine Allyl-Diazen-Umlagerung<sup>[13]</sup> die schwer zugängliche A/B-*trans*-Ringverknüpfung in **20** etabliert.



Nach insgesamt mehr als 20 Stufen mit einer Gesamtausbeute von weniger als 3% wird die Synthese durch die Umwandlung von **13** in Dihydroparkeolbenzoat **21** und Ver-

gleich mit authentischem Material abgeschlossen. Dieser Erfolg wird relativiert, wenn man sich darauf besinnt, daß die Biosynthese von Protostendiol **13** in der Natur nur einen einzigen Schritt benötigt. Der enzymatische Ablauf wird jedoch durch den Austausch einer Methylgruppe im Oxidosqualen **4** durch ein Wasserstoffatom umgeleitet<sup>[14]</sup>.

Die oben zitierten aktuellen Arbeiten zeigen beispielhaft, wie heute komplexe Fragestellungen durch die Zusammenarbeit von Biochemie, Mikrobiologie, Molekularbiologie und Synthesechemie bearbeitet werden können.

- [1] R. Wiechert, *Angew. Chem.* **1977**, *89*, 513–520; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1977**, *16*, 506–513.
- [2] R. Wiechert, *Angew. Chem.* **1970**, *82*, 331–342; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1970**, *9*, 321–332.
- [3] U. Eder, G. Sauer, R. Wichert, *Angew. Chem.* **1971**, *83*, 492–493; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1971**, *10*, 496–497.
- [4] a) A. Eschenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger, D. Arigoni, *Helv. Chim. Acta* **1955**, *38*, 1890–1904; b) D. M. Harrison, *Nat. Prod. Rep.* **1988**, *5*, 387–415.
- [5] *Sterol Biosynthesis Inhibitors, Pharmaceutical and Agrochemical Aspects* (Hrsg.: D. Berg, M. Plempel), Ellis Horwood, Chichester, VCH, Weinheim, **1988**, S. 534.
- [6] P. E. Loenning, D. C. Johannessen, *Drugs Today* **1991**, *27*(2), 117–132.
- [7] a) U. Kerb, G. Sauer, R. Wiechert, D. Henderson, Y. Nishino, S. Beier, EP-B 0129500; Y. Nishio, M. R. Schneider, H. Michna, M. F. El Etreby, *J. Steroid Biochem.* **1989**, *34*, 435–437.
- [8] E. J. Corey, S. P. T. Matsuda, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8172–8174.
- [9] E. J. Corey, S. C. Virgil, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4025–4026.
- [10] E. J. Corey, S. C. Virgil, S. Sarshar, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8171–8172.
- [11] E. J. Corey, S. C. Virgil, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6429–6431.
- [12] H. Hagiwara, H. Uda, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2308–2311.
- [13] E. J. Corey, G. Wess, Y. B. Xiang, A. K. Singh, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 4717–4718.
- [14] E. J. Corey, S. C. Virgil, D. R. Liu, S. Sarshar, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1524–1525.

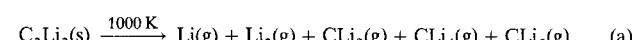
## Perlithiertes und hyperlithiertes Methan

Von *Adalbert Maercker\**

Als Schleyer, Pople et al.<sup>[1]</sup> 1983 aufgrund der Ergebnisse von ab-initio-Rechnungen dem Hexolithiomethan ( $CLi_6$ ) eine beachtliche Stabilität prophezeiten, hatte wohl niemand erwartet, daß der experimentelle Nachweis dieses hyperlithierten Methans mit hexakoordiniertem Kohlenstoff schon wenige Jahre später gelingen könnte. Dies ist jetzt H. Kudo<sup>[2]</sup> vom Japan Atomic Energy Research Institute gelungen! Da diese Rechnungen nur für diskrete Moleküle in der Gasphase relevant sind, lag es nahe, zunächst massenspektrometrisch danach zu suchen. Es war ein langer, mit vielen Rückschlägen gepflasterter Weg<sup>[3]</sup>, und noch im Januar 1990 war man weit vom Ziel entfernt. Die Wahl war die Knudsen-Effusions-Massenspektrometrie, mit der auch schon  $Li_4O$  und  $Li_5O$ <sup>[4]</sup> gefunden wurden. Leider wird nicht mitgeteilt<sup>[2]</sup>, welche apparativen Änderungen gegenüber früher<sup>[3]</sup> schließlich zum Erfolg geführt haben.

Kristallines Dilithioacetylen ( $C_2Li_2$ ) wurde in einer Knudsen-Zelle aus Molybdän mit einem Radiofrequenzgenerator auf etwa 1000 K erhitzt und das dabei entstehende Gasge-

mischt durch eine 0.3 mm weite Öffnung im Hochvakuum ( $<10^{-5}$  Pa) in ein Quadrupol-Massenspektrometer geleitet [Gl. (a)]. Neben  $CLi_3$  und  $CLi_4$ , die schon früher<sup>[3]</sup> – allerdings merkwürdigerweise in umgekehrtem Intensitätsverhältnis – nachgewiesen werden konnten, fand man nun erstmals Spuren von  $CLi_6$ . Dies waren drei Signale im Verhältnis 0.1:0.5:1.0 bei  $m/z$  52 ( $[^{12}C^6Li_2^{7}Li_4]^+$  und  $[^{13}C^6Li_3^{7}Li_3]^+$ ),  $m/z$  53 ( $[^{12}C^6Li_1^{7}Li_5]^+$  und  $[^{13}C^6Li_2^{7}Li_4]^+$ ) sowie  $m/z$  54 ( $[^{12}C^7Li_6]^+$  und  $[^{13}C^6Li_1^{7}Li_5]^+$ ).



Diese Signale im zu erwartenden Intensitätsverhältnis traten weder im Untergrund auf, noch dann, wenn bei der Ionisierung die Energie des Elektronenstoßes – optimal auf 13.0 eV eingestellt – 9 eV unterschritt. Das Massenspektrum aus der Originalarbeit<sup>[2]</sup> ist in Abbildung 1 gezeigt.

Während die Existenz von  $CLi_6$  damit gesichert sein dürfte, besteht über die Bindungsverhältnisse unter den Theoretikern noch keine einheitliche Meinung<sup>[1, 5, 6]</sup>. Schleyer et al.<sup>[1]</sup> sowie Reed und Weinhold<sup>[5]</sup> bezweifeln, daß der Kohlenstoff im engeren Sinne hypervalent ist und ordnen

[\*] Prof. Dr. A. Maercker  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Adolf-Reichwein-Straße, W-5900 Siegen