

Jenseits von Prostaglandinen – Chemie und Biologie radikalisch gebildeter cyclischer oxygenierter Metabolite von mehrfach ungesättigten Fettsäuren

Ullrich Jahn,* Jean-Marie Galano* und Thierry Durand*

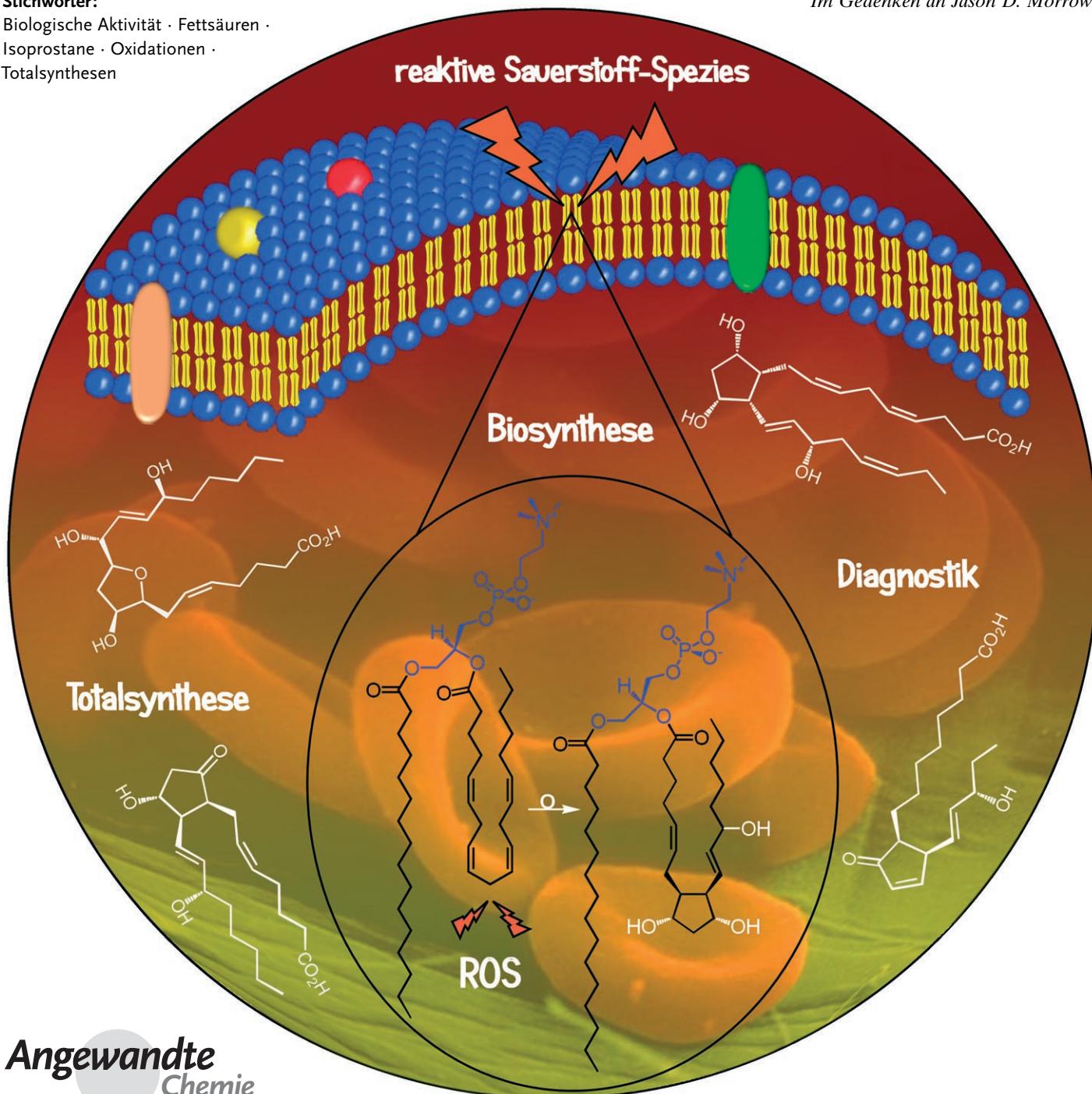
Stichwörter:

Biologische Aktivität · Fettsäuren ·

Isoprostanen · Oxidationen ·

Totalsynthesen

Im Gedenken an Jason D. Morrow



Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids, PUFA) sind wichtige Bestandteile aller Organismen. Sie erfüllen viele Aufgaben, von der Modulation der Membranstruktur bis hin zur Funktion als Vorstufen für andere physiologisch bedeutsame Naturstoffe. Prominenteste Beispiele sind die Prostaglandine, die lange als die dominierenden cyclischen PUFA-Metabolite galten. Seit Beginn der 1990er Jahre wurde jedoch eine große Zahl cyclischer PUFA-abgeleiteter Naturstoffe entdeckt, die sich *in vivo* unter autoxidativen Bedingungen in wesentlich größeren Mengen als Prostaglandine bilden. Diese Verbindungen – Isoprostane, Neuroprostane, Phytoprostane und Isofurane – kommen überall in der Natur vor und zeigen eine ganze Reihe von biologischen Aktivitäten. Sie sind gegenwärtig die verlässlichsten Indikatoren oxidativen Stresses im menschlichen Organismus. In relativ kurzer Zeit wurden vielfältige Strukturen, Eigenschaften und Funktionen autoxidativ gebildeter cyclischer PUFA-Metabolite aufgedeckt.

1. Einleitung

Mehrzahl ungesättigte Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids, PUFA) sind sehr wichtige Verbindungen in allen Organismen. Im Unterschied zu gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren, die unter physiologischen Bedingungen relativ inert sind, zeigen PUFA eine stark erhöhte Reaktivität und haben dementsprechend vielfältigere biologische Funktionen.^[1] Sie sind Vorstufen für vielfältige enzymatische und nicht-enzymatische Transformationen, die zu einer ganzen Reihe wichtiger Signalmoleküle, Mediatoren und biologisch aktiver Sekundärmetabolite führen. Beispiele sind enzymatische Lipoxygenierungen zu Hydroperoxiden, Epoxidierungen oder Alkylierungen.

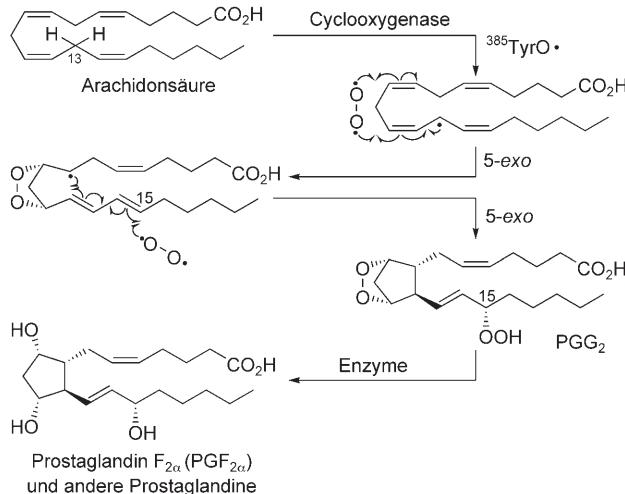
Die wahrscheinlich am gründlichsten untersuchte enzymatische Umsetzung einer PUFA ist die von Arachidonsäure (AA) zu Prostaglandinen (PG; Schema 1).^[2] Diese Natur-

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	5979
2. Klassifikation von PUFA-Metaboliten	5981
3. Nomenklatur cyclischer PUFA-Derivate	5982
4. Bildung cyclischer PUFA-Metabolite <i>in vivo</i> und <i>in vitro</i>	5984
5. Isoprostane als diagnostische Werkzeuge in Biologie und Medizin	6003
6. Biologische Aktivität cyclischer PUFA-Metabolite	6008
7. Total- und Partialsynthesen autoxidativ gebildeter PUFA-Metabolite	6011
8. Schlussfolgerungen und Ausblick	6032

stoffe wurden erstmals 1930 über ihre biologische Aktivität detektiert.^[3] Es dauerte aber bis in die 1960er Jahre, bis genügende Mengen von PGF_{1α} und PGE₁ zur eindeutigen Strukturbestimmung zur Verfügung standen.^[4] Darauf folgend wurde die Biosynthese der PG im Detail untersucht. Sie verläuft in Cyclooxygenase-Enzymen in einer einzigartigen Kaskade aus Peroxidation, zweifacher 5-exo-Radikalcyclisierung und nochmaliger Peroxidation zum intermediären PGG₂. Danach erfolgt die weitere enzymatische Verarbeitung von PGG₂ zu den isolierbaren PG, z.B. PGF_{2α}. Abbildung 1 zeigt die Stereoansicht einer vor kurzem veröffentlichten Struktur der Cyclooxygenase im Kristall mit AA im aktiven Zentrum.^[5]

PG haben viele wichtige Funktionen, z.B. als lokale Hormone, Entzündungs- und Schmerzvermittler, vasomoto-



Schema 1. Enzymatische Biosynthese der Prostaglandine.

[*] Priv.-Doz. Dr. U. Jahn
Institute of Organic Chemistry and Biochemistry
Academy of Sciences of the Czech Republic
Flemingovo namesti 2, 16610 Prag 6 (Tschechische Republik)
Fax: (+ 420) 220-183-578
E-Mail: jahn@uochb.cas.cz
Homepage: <http://www.uochb.cz/web/structure/616.html>
Dr. J.-M. Galano, Dr. T. Durand
Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM)
UMR CNRS 5247 – Universités de Montpellier I et II
Faculté de Pharmacie
15 Av. Charles Flahault, BP 14491, 34093 Montpellier cedex 05
(France)
Fax: (+ 33) 4-6754-8625
E-Mail: jean.galano@univ-montp1.fr
thierry.durand@univ-montp1.fr
Homepage:
<http://www.ibmm.univ-montp1.fr/Lipides-Antipaludiques,34-.html>

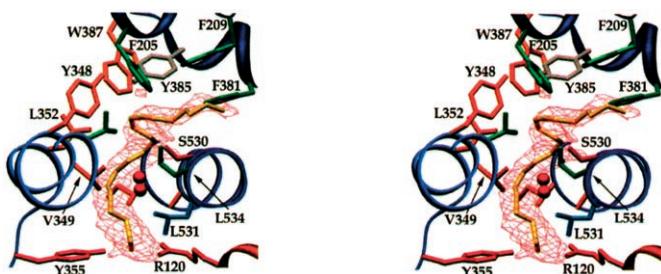


Abbildung 1. Röntgenkristallographisches Stereobild einer Cyclooxygenase mit gebundener AA (gelb). Es zeigt das enge kanalartige aktive Zentrum, in das AA mit dem ω -Kettenende zuvorderst eindringen muss und in dem sie durch Wasserstoffbrücken zu ^{120}Arg (rot) gehalten wird. Die Kette wird durch hydrophobe Wechselwirkungen mit den Aminosäuren Leu531, Leu534, Phe381, Phe209, Phe205, Trp387, Leu352 und Val349 in die für die Cyclisierung notwendige *trans*-Anordnung gezwungen. Das $^{385}\text{Tyrrosyl}$ -Radikal (grau), das durch eine nahegelegene Häm-Einheit erzeugt wird, vermittelt die hochselektive Abstraktion des exponierten *pro*-(13S)-Wasserstoffatoms der AA. Die zwei roten Kugeln geben die wahrscheinlichste Position des Sauerstoff-Moleküls an, das mit C11 rekombiniert. Das Bild wurde mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [5] entnommen.

rische Regulatoren oder Neuromodulatoren. In ähnlicher Weise ist Jasmonsäure (JA), die durch enzymatische Cyclisierung von α -Linolensäure (LA) gebildet wird, zentrales Signalmolekül im Pflanzenreich.^[6]

Die lange bestehende Lehrmeinung, dass nur enzymatisch gebildete Verbindungen relevante biologische Funktionen haben und dass spontan *in vivo* gebildete Metabolite nicht signifikant zum Gesamtstatus eines Organismus beitragen, hat eine eingehendere Erforschung insbesondere des nicht-enzymatischen Lipidmetabolismus verzögert. Erste Hinweise auf die nicht-enzymatische Erzeugung von Isoproststanen fanden Nugteren et al. schon 1967: Sie beobachteten die Bildung von zwei Regioisomeren von „PGB₁“ und „PGE₁“ (Heute als 8- und 15-B₁-IsoP bzw. -E₁-IsoP zu benennen) in geringer Ausbeute, als sie 8,11,14-Eicosatriensäure autoxidativen Bedingungen ausgesetzt.^[7] Von da an wurden gelegentlich PG-Diastereomere und andere PUFA-Metabolite gefunden, die aber als Kuriosum oder gar als Artefakt betrachtet und bald darauf für mehr als zwanzig Jahre vergessen wurden.



Ullrich Jahn studierte an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, wo er 1992 promovierte. Von 1993 bis 1995 war er Postdoktorand bei Dennis P. Curran an der University of Pittsburgh. Wieder in Deutschland forschte er im Umfeld von Henning Hopf an der TU Braunschweig, wo er 2002 habilitierte. 2006 war er Gastprofessor an der Université Montpellier I. Zu seinen Interessen zählen neue Synthesemethoden, Tandemreaktionen unter Beteiligung oxidativen Elektronentransfers und die Naturstoffsynthese. Seit 2007 ist er Forschungsleiter am Institut für Organische Chemie und Biochemie der Akademie der Wissenschaften der Tschechischen Republik in Prag.

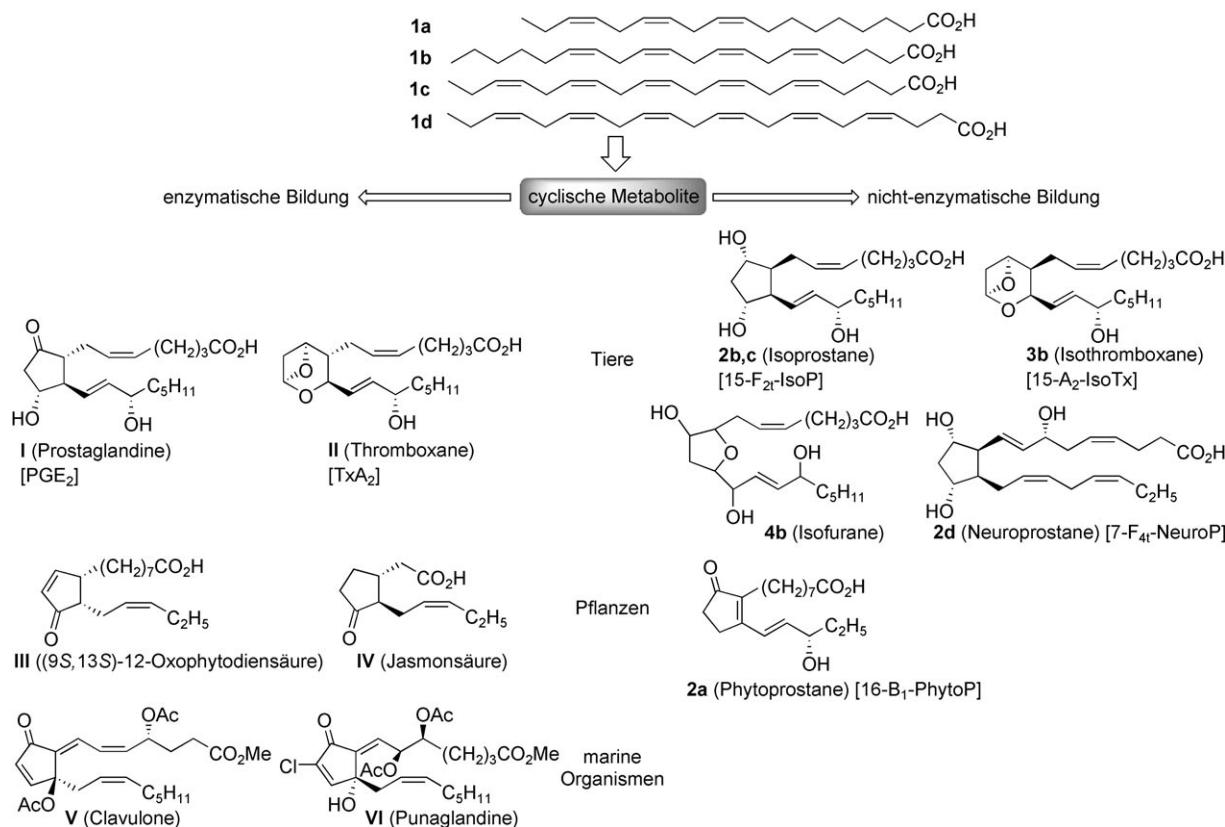
Dies änderte sich erst 1990, als Roberts, Morrow und Mitarbeiter entdeckten, dass racemische PG-Diastereomere, die sie später als Isoprostane (IsoP) bezeichneten, *in vivo* in vergleichsweise großen Mengen gebildet werden;^[8] die Plasma-Werte eines gesunden Menschen betragen (36.3 ± 12.9) pg mL^{-1} . Mueller und Parchmann zeigten 1998, dass es in Pflanzen einen ähnlichen nicht-enzymatischen Weg zu cyclischen PUFA-Derivaten, die sie Phytoprostane (PhytoP) nannten, gibt.^[9]

Die Tatsache, dass auch cyclische PUFA-Metabolite jenseits von PG oder JA signifikante biologische Aktivitäten aufweisen, führte zu verstärkten Forschungen mit dem Ziel, die Funktionen dieser Verbindungen zu verstehen. Heute gibt es kaum noch Zweifel daran, dass nicht-enzymatisch gebildete cyclische Lipid-Derivate eine wichtige Naturstoffklasse mit vielfältigen biochemischen Wirkungsweisen sind. Im Unterschied zur Biosynthese von PG und JA, deren regio- und stereochemischer Verlauf reguliert ist, folgt die autoxidative *In-vivo*-Umsetzung von PUFA zu cyclischen Lipiden weitgehend den konventionellen Regeln der Chemie. Auf diese Weise kann eine große Vielfalt von Strukturen erzeugt werden, deren Konstitution und dreidimensionale Gestalt gleichzeitig sehr ähnlich und sehr unterschiedlich sein können. Damit steht im evolutionären Kontext eine ideale „Spielwiese“ zur Selektion von Funktionen zur Verfügung. Insgesamt trägt die Erforschung cyclischer Lipide auch stark zum Feld der Lipidomik bei, das das Gesamtverständnis der Chemie und Biologie von Lipiden zum Ziel hat.^[10]

Dieser Aufsatz will einen Überblick über die Chemie und Biochemie nicht-enzymatisch gebildeter cyclischer PUFA-Metabolite geben. Dieses Forschungsgebiet ist ein herausragendes Beispiel dafür, wie Chemiker und Biologen Hand in Hand arbeiten, um die Strukturen der Metabolite, ihre Eigenschaften und die ihrer Funktion zugrundeliegenden Wechselwirkungen zu entdecken. Behandelt werden die Hauptforschungslinien 1) zur Bildungsweise cyclischer PUFA-Metabolite, 2) zur äußerst aufwändigen analytischen Quantifizierung und Charakterisierung von buchstäblich hunderten nebeneinander vorkommenden, sehr ähnlichen Verbindungen, 3) zur Bestimmung ihrer biologischen Aktivitäten und 4) zur Anwendung als „Goldstandard“ in der Diagnostik oxidativen Stresses in Geweben. Die zur Verfügung stehenden Nomenklatursysteme für die große Zahl von isomeren Metaboliten werden präsentiert. Die klinische



Thierry Durand studierte Chemie an der Université Paris VI, wechselte dann nach Montpellier und promovierte 1990 an der Université Montpellier I. Nach einem Forschungsaufenthalt am Florida Institute of Technology in Melbourne bei Joshua Rokach wurde er 1991 Chargé de Recherche CNRS an der Faculté de Pharmacie der Université Montpellier I. Er habilitierte 1995 und wurde 2002 Directeur de Recherche CNRS. Er ist darüber hinaus Gruppenleiter am Institut des Biomolécules Max Mousseron. Er erforscht die Totalsynthese bioaktiver Lipide, darunter Iso-, Neuro- und Phytoprostane und Anandamid-Analoga.



Schema 2. Cyclische PUFA-Metabolite – Herkunft und enzymatische oder nicht-enzymatische Bildung. Für jeden Verbindungstyp ist eine Beispielverbindung angegeben (der jeweilige Name ist in einigen Fällen in eckigen Klammern angegeben).

Forschung zu cyclischen Lipiden, die ein Wachstum von gerade einmal drei Publikationen 1992 bis hin zu mehr als 200 im Jahr 2007 zu verzeichnen hat, wird kurz zusammengefasst. Das heutige Wissen über cyclische PUFA-Metabolite wäre bei weitem nicht so detailliert, wenn nicht Strategien zu ihrer selektiven Synthese entwickelt worden wären. Die analytische Quantifizierung und die Bestimmung der biologischen Aktivität sind ohne reines synthetisches Referenzmaterial oft nicht möglich. Daher werden die bestehenden Strategien zur selektiven Synthese cyclischer PUFA-Metabolite präsentiert. Auf dieser Grundlage können leichter neue Strategien zur Herstellung dieser Verbindungsklassen entwickelt werden.

2. Klassifikation von PUFA-Metaboliten

Die hauptsächlich vorkommenden PUFA in allen lebenden Organismen sind α -Linolensäure (LA, **1a**), Arachidonsäure (AA, **1b**), Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäure (EPA, **1c**) und Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäure (DHA, **1d**; Schema 2). Bei näherer Betrachtung ihrer Strukturen, möglicher Reaktivitätsmuster und Reaktionsmechanismen findet man, dass aus ihnen unter physiologischen Bedingungen im Prinzip unzählige Metabolite gebildet werden können; in Wirklichkeit ist die Zahl aber geringer. Eine primäre Unterscheidung der PUFA-Metabolite kann ihrer grundlegenden Struktur folgend in acyclische und cyclische Derivate vorgenommen werden. Eine sekundäre Klassifikation ist dann auf der Basis ihrer Bildung unter enzymatischen oder nicht-enzymatischen Bedingungen möglich.

Zu den enzymatisch erzeugten acyclischen PUFA-Metaboliten gehören Leukotriene oder PUFA-abgeleitete Alkohole oder Hydroperoxide.^[2] Wichtige Produkte unter oxidativen Bedingungen sind neben vielen anderen Hydroperoxide, Aldehyde, 4-Hydroxyalkenale wie 4-Hydroxynonenal (HNE) oder Malondialdehyd (MDA).^[11]

Cyclische PUFA-Metabolite scheinen in allen höheren Organismen vorzukommen (Schema 2). Einige wenige werden enzymatisch als enantiomerenreine Verbindungen erzeugt; hierzu zählen die Prostaglandine (PG, **I**) und Thromboxane (Tx, **II**) in Wirbeltieren, (9S,13S)-12-Oxo-phytodienäure (OPDA, **III**) und Jasmonsäure (JA, **IV**) in



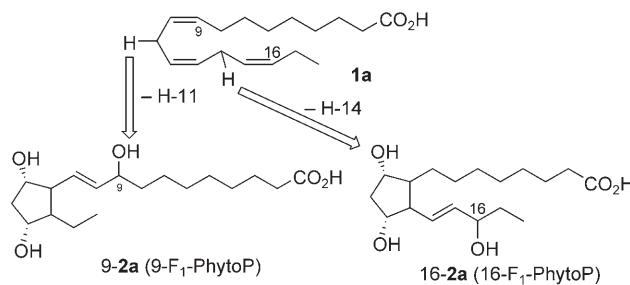
Jean-Marie Galano studierte an der Université Paul Cézanne in Marseille Chemie und promovierte 2001 bei Honoré Monti. Anschließend ging er als Postdoktorand an die University of Oxford zu David H. Hodgson, wo er neue Synthesemethoden entwickelte und ihre Anwendung in der Totalsynthese verschiedener Naturstoffe erforschte. 2005 wurde er Chargé de Recherche CNRS an der Université Montpellier I. Seine Forschungsschwerpunkte liegen auf der Entwicklung neuer Synthesemethoden und Strategien zur Totalsynthese von Naturstoffen.

Pflanzen^[6] sowie die Clavulone (**V**) oder Punaglandine (**VI**) in marinen Wirbellosen.^[12]

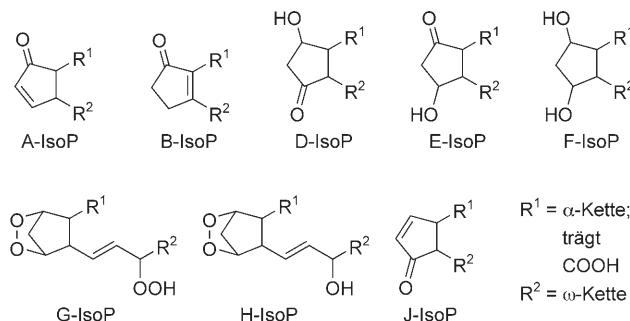
Autoxidativ aus **1b** und **1c** in Menschen und Tieren gebildete cyclische Verbindungen sind die Isoprostane (IsoP; **2b,c**), die Isothromboxane (IsoTx, **3b**) und die Isofurane (IsoF, **4b**). Neuroprostane (NeuroP, **2d**), die im menschlichen und tierischen Gehirn zu finden sind, leiten sich von **1d** ab. Phytoprostane (PhytoP, **2a**), die aus **1a** gebildet werden, sind die Hauptmetabolite in vielen Pflanzen. Allen autoxidativ erzeugten cyclischen PUFA-Metaboliten **2–4** ist gemeinsam, dass sie racemisch vorkommen und dass ihre Hauptvertreter diastereomer zu ihren enantiomerenreinen Verwandten **I**, **II** und **IV** sind.

Darüber hinaus kommen autoxidativ gebildete PhytoP, IsoP, IsoTx, IsoF und NeuroP in regioisomeren Serien vor, die aus der Position der anfänglichen Radikalerzeugung in **1a–d** herrühren (Schema 3 A). Dies manifestiert sich in den Pro-

A) Klassifizierung regioisomerer cyclischer PUFA-Derivate



B) Klassifizierung nach dem Substitutionsmuster des Rings

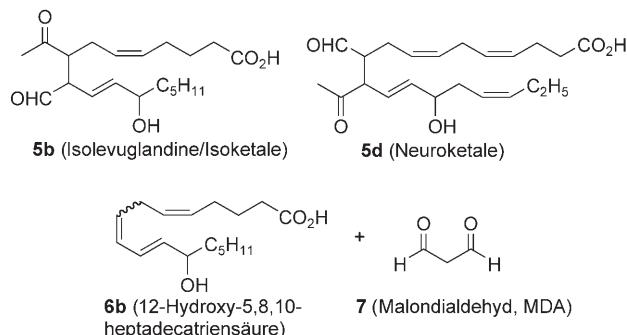


Schema 3. Klassifizierung cyclischer PUFA-Metabolite nach A) der Position der Radikalerzeugung (gezeigt für **1a**) und B) dem Substitutionsmuster des Cyclopentanrings basierend auf der Prostaglandin-Nomenklatur.

dukten in der Position der Hydroxy-Gruppe in der Seitenkette, wie für die F₁-PhytoP-Isomere **9-2a** und **16-2a** gezeigt. Da die übersichtliche, eindeutige Verbindungsbezeichnung besonders im Hinblick auf Konstitution und Konfiguration nicht trivial ist, wird in diesem Aufsatz folgendes Nummerierungssystem angewendet: Strukturell verwandte Intermediat- oder Verbindungsklassen werden durch fettgedruckte arabische Zahlen und einen kleinen Buchstaben bezeichnet, mit dem sie auf die PUFA **1a–d** zurückgeführt werden können. Vorgestellte normale Zahlen zeigen die spezifische Position von Intermediaten oder funktionellen Gruppen in

individuellen Verbindungen einer größeren Klasse an. Ein weiteres wichtiges Unterscheidungskriterium aller cyclischen PUFA-Metabolite ist das Substitutionsmuster des Ringes, da es die chemischen und biologischen Eigenschaften der Verbindungen stark beeinflusst. Zur eindeutigen Bestimmung wird das aus der PG-Nomenklatur bekannte A–J-System genutzt (Schema 3 B). Durch Erhitzen von Fischöl werden aus **1c** oder **1d** auch nicht-oxygenierte cyclische Verbindungen erhalten.^[13] Solche Verbindungen werden hier nicht behandelt, da sie exogen unter nicht-physiologischen Bedingungen erzeugt werden.

Einige wenige Klassen acyclischer PUFA-Metabolite können auch auf cyclische Vorstufen zurückgeführt werden, die auf dem IsoP-Biosyntheseweg durchlaufen werden (Schema 4). Dazu gehören die aus **1b** gebildeten Isolevuglandine (**5b**; in der Literatur auch Isoketale (IsoK) genannt), die Neuroketale (NeuroK, **5d**), die von **1d** abgeleitet sind, sowie 12-Hydroxy-5,8,10-heptadecatriensäure (**6b**), zusammen mit **7**, für den es mehrere Bildungswege gibt.^[14] Diese Lipid-Metabolite werden im vorliegenden Aufsatz behandelt.



Schema 4. Acyclische PUFA-Metabolite, die auf dem IsoP-Biosyntheseweg hauptsächlich gebildet werden. **5b,d**: Aufgeführt ist jeweils der Name des Verbindungstyps zusammen mit einer Beispielstruktur.

3. Nomenklatur cyclischer PUFA-Derivate

Da die Bildung aller cyclischen PUFA-Metabolite **2–4** durch Radikalprozesse an den aktivierten Kohlenstoffatomen der jeweiligen PUFA **1a–d** parallel eingeleitet wird, sollte ein Nomenklatursystem entwickelt werden, das intuitiv ist und gleichzeitig Informationen über die Konstitution und Konfiguration sowie auch über die biosynthetische Herkunft der entsprechenden Metabolite liefert. In diesem Abschnitt werden die gegenwärtig angewendeten Nomenklatursysteme für die cyclischen PUFA-Metabolite **2–4** und die Isolevuglandine **5** vorgestellt.

3.1. Isoprostane, Neuroprostane, Phytoprostane

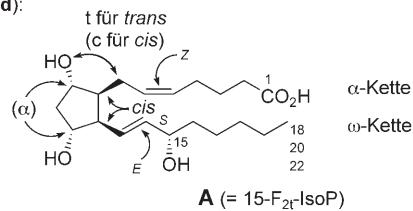
Da die von **1b** abgeleiteten IsoP (**2b**) zuerst entdeckt wurden und ihre Untersuchung schnell voranschritt, wurde bald nach einer prägnanten Nomenklatur gesucht. Zwei Systeme wurden fast parallel durch Rokach et al.^[15a] (1996,

modifiziert 1997^[15b,c] sowie 1997 durch Taber, Roberts und Morrow^[16a] vorgeschlagen.

Die Taber/Roberts-Nomenklatur folgt der normalen PG-Konvention, um das Ring-Substitutionsmuster zuzuweisen, das allen regio- und stereoisomeren carbocyclischen PUFA-Metaboliten gemeinsam ist (Schema 5). Die zwei regioisomeren Serien der PhytoP (2a), die vier oder sechs regioisomeren Serien der IsoP (2b,c) sowie die acht regioisomeren Serien der NeuroP (2d)^[16b] werden in diesem System primär über die Position der Hydroxy-Gruppe der Seitenkette unterschieden und benannt. Da die Bestimmung der Konfiguration von 2 schwierig ist, weil diese Verbindungen als Racemate vorliegen und mehrere Diastereomere auftreten, wurde die Struktur **A** mit der gezeigten Konfiguration als Basis definiert. Daraus kann durch Anwendung der Regeln 1–7 leicht ein Name oder eine Struktur für alle möglichen Regio- und Stereoisomere der cyclischen Metabolite 2a–d abgeleitet werden.

Die Rokach-Nomenklatur kann auch auf Phytosterane (iP₁ oder PP), Isoprostane (iP) und Neuroprostane (iP₄ oder nP) angewendet werden (Schema 6). Dieses System ist eher an die PG-Nomenklatur angelehnt und nutzt mit dem PGF_{2α}-Diastereomer **B** ebenfalls eine Basisstruktur. Ein nützliches Merkmal dieses Systems ist die Kodierung der Konstitution und des Bildungsweges des Metaboliten durch die römische Typ-Nummer, die dem Namen folgt. Die Zuordnung der Typen erfolgt vom ω-Ende der PUFA-Kette aus und nutzt die durch Wasserstoffabstraktion erhältlichen Bisallylradikale als Grundlage. Die Regioselektivität der Peroxidation der Bisallylradikale und der folgenden Peroxyl-Radikalcyclisierung wird durch gerade oder ungerade Typ-Nummern beschrieben.

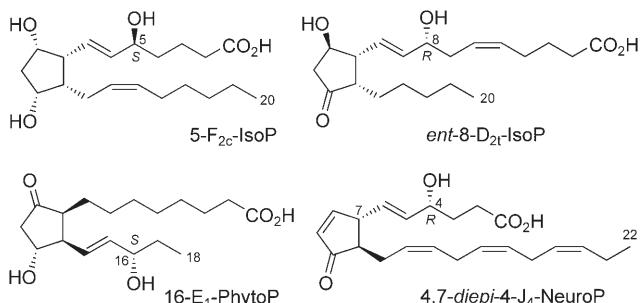
Stereochemische Basisbeziehungen in PhytoP (2a), IsoP (2b,c) oder NeuroP (2d):



A (= 15-F_{2t}-IsoP)

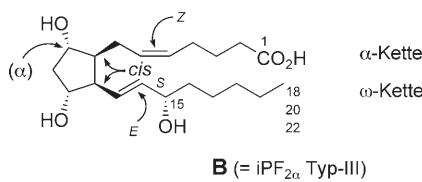
Regeln für die Benennung auf Grundlage der Basisstruktur **A**:

1. Angabe der Nummer des C-Atoms mit der OH-Gruppe der Seitenkette.
2. Zuordnung des Ring-Substitutionsmusters mit A-H oder J basierend auf der normalen PG-Nomenklatur (siehe Schema 3 Teil B).
3. Angabe der Zahl der Seitenketten-Doppelbindungen tiefgestellt.
4. Wenn notwendig, Bestimmung der relativen Orientierung der α-Kette zur benachbarten OH-Gruppe im Ring als tiefgestelltes t oder c.
5. Nutzung von PhytoP, IsoP oder NeuroP basierend auf der PUFA 1a–d.
6. Bezeichnung der Konfigurationsumkehr der OH-Gruppe der Seitenkette und/oder der α-Kette durch "C-Nummer-*epi*-" als Präfix.
7. Angabe von Enantiomeren der Basisstruktur durch *ent*- als Präfix.



Schema 5. Nomenklatur carbocyclischer PUFA-Metabolite nach Rokach und Taber.

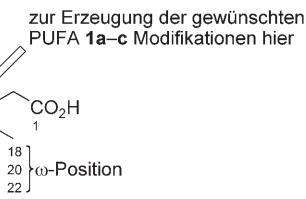
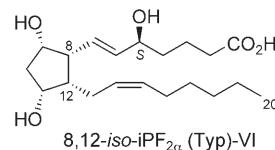
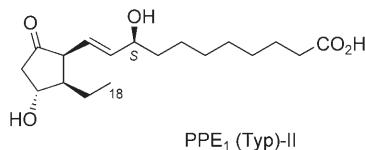
Stereochemische Basisbeziehungen in iP (2a–d):



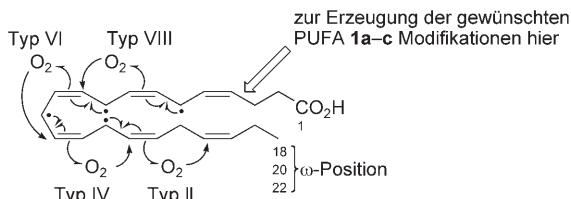
B (= iP_{2α} Typ-III)

Regeln für die Benennung auf Grundlage der Basisstruktur **B**:

1. Bezeichnung der Struktur mit iP₁ oder PP für Phytosteran, iP₂ oder iP₃ für Isoprostan sowie iP₄ oder nP für Neuroprostan.
2. Zuordnung des Ring-Substitutionsmusters A-H oder J wie für PG.
3. Angabe der Anzahl der Doppelbindungen in den Seitenketten tiefgestellt.
4. Wenn notwendig, Bestimmung der Orientierung der zur α-Kette benachbarten OH-Gruppe am Ring nach der PG-Nomenklatur.
5. Nutzung von "C-Nummer-*epi*-" als Präfix zur Zuordnung einer Konfigurationsinversion an der OH-Gruppe der Seitenkette.
6. Nutzung von "C-Nummer-*iso*-" als Präfix zur Zuordnung einer Konfigurationsinversion der Seitenketten tragenden Kohlenstoffatome.
7. Angabe von Enantiomeren der Basisstruktur **B** durch *ent*- als Präfix.
8. Angabe von "(Typ)-römische Zahl" zur Festlegung des Regiosomers und der biosynthetischen Herkunft wie folgt:



B) Gerade Typen = Kupplung des Ausgangsradikals mit O₂ und folgende Radikalcyclisierung entgegen dem Uhrzeigersinn



Schema 6. Nomenklatur carbocyclischer PUFA-Metabolite nach Rokach und ein mnemonisches Hilfsmittel zur Ableitung ihrer Bildung.

Ungerade Typ-Nummern (A) bedeuten vom Ausgangsradikal aus gesehene Radikalkupplung mit O_2 und folgende Cyclisierung im Uhrzeigersinn, während bei geraden Typ-Nummern (B) Radikalkupplung des Bisallylradikals mit O_2 und Cyclisierung entgegen dem Uhrzeigersinn verlaufen.

Die Taber/Roberts-Nomenklatur wurde durch die IUPAC bestätigt und wird daher in diesem Aufsatz durchgehend angewendet, um Missverständnissen vorzubeugen. Da die Rokach-Nomenklatur den inhärenten Vorteil der Bildungsgeschichte der Metabolite einbringt, sollte zukünftig auf eine einheitliche Nomenklatur hingearbeitet werden, die die Vorteile beider Systeme vereinigt.

3.2. Isolevuglandine (Isoketale), Neuroketale

Für die Isolevuglandine (**5b**, IsoLG; später auch IsoK genannt) und die Neuroketale **5d** wurden zwei Nomenklatursysteme von Salomon et al.^[17] und Roberts et al.^[18] entwickelt (Schema 7).

Die Salomon-Nomenklatur benennt IsoLG ähnlich wie die enzymatisch gebildeten Levuglandine (LG). Die Regiosomere der IsoLG werden im Namen durch Insertion der Kohlenstoffzahl der α -Kette in eckigen Klammern unterschieden. Eine Ausnahme bilden die zu den enzymatisch gebildeten LG diastereomeren IsoLG, hier wird keine C-Zahl eingeschoben.

Die Roberts-Nomenklatur nutzt den Namen Isoketal (IsoK) für die γ -Ketoaldehyd-Isomere **5b**, die von AA ab-

geleitet sind, und Neuroketal (NeuroK, **5d**) für die C_{22} -Ketoaldehyde, die sich aus DHA bilden. Die Bezeichnung „ketal“ ist jedoch irreführend, da man damit normalerweise Keton-Derivate bezeichnet, in denen das Sauerstoffatom durch zwei Alkoxy-Gruppen ersetzt ist. Ansonsten werden dieselben Regeln wie bei der IsoP-Nomenklatur angewendet, wodurch eine leicht zu merkende Beziehung zwischen den γ -Ketoaldehyden und den entsprechenden D_2 - oder E_2 -IsoP-Vorstufen hergestellt wird.

3.3. Nomenklatur der Isofurane

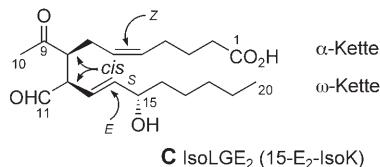
Die Isofurane **4b** bilden sich aus AA (**1b**) auf zwei unterschiedlichen Wegen (siehe Abschnitt 4.2.2), die zu den Strukturklassen A und B führen (Schema 8). Auf diese Weise können 256 Isomere entstehen. Um diese Vielfalt der Strukturen eindeutig zu bezeichnen, wurde von Taber, Roberts und Fessel ein Nomenklatursystem entwickelt, das auf der relativen Anordnung der Ketten und Substituenten zueinander beruht.^[19] Um die IsoF stereochemisch zu den IsoP in Beziehung zu setzen, wurde eine Basisstruktur **D** definiert, die auf dem zentralen Endoperoxyhydroperoxid **8a** beruht, das durch Kupplung von Sauerstoff mit dem Radikal entsteht, das bei geringerer Sauerstoff-Konzentration zum IsoP-Gerüst cyclisiert. Die weitere Umsetzung von **8a** führt zum Epoxy-allyl-Radikal **8b**, dessen Abfang durch Sauerstoff **8c** ergibt. Dieses wird dann zwangsläufig zu **D** transformiert.

Die Basisstruktur **D** hat somit eine relative S-Konfiguration (in Analogie zu den IsoP) am die α -Kette tragenden Kohlenstoffatom in 15-Position sowie am Kohlenstoffatom mit der weiteren Hydroxy-Gruppe in der Seitenkette. Auf diesem Wege bilden sich vier regiosomere IsoF-Klassen mit einer Vinyltetrahydrofuran-Einheit, die als Alkenylisofurane bezeichnet werden (Schema 8A). Auf einem weiteren Biosyntheseweg (siehe Abschnitt 4.2.2) entstehen aber zusätzlich vier weitere regiosomere Familien, die Endiolisofurane (Schema 8B). Hier ist die E-Alken-Einheit zwischen den Hydroxy-Gruppen in der Seitenkette angeordnet. Für ihre Benennung wird ebenfalls Basisstruktur **D** zugrunde gelegt, und somit gelten die gleichen Regeln.

4. Bildung cyclischer PUFA-Metabolite *in vivo* und *in vitro*

Die enzymatische Biosynthese der PG (**I**) aus freier AA (**1b**; $R = H$ in Schema 9) wurde in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts sorgfältig untersucht. Als Morrow und Roberts die Isolierung von zu PG diastereomeren Verbindungen **2b** aus menschlichem Plasma und Urin publizierten,^[8] die sie später Isoprostanen nannten, erkannten sie, dass PG (**I**) und IsoP (**2b**) auf sehr ähnlichen Wegen gebildet werden müssen (Schema 9). Das wurde zusätzlich dadurch gestützt, dass sich racemisches PGF_{2a} auch durch nicht-enzymatische Autoxidation von AA in *vitro* und *in vivo* bildete;^[20,21] darüber hinaus werden 15-F_{2i}-IsoP oder 15-E₁-IsoP auch enzymatisch durch Cyclooxygenasen in kleinen Mengen als reine Enantiomere produziert.^[22]

Stereochemische Basisbeziehungen in IsoLG (**5b**, IsoK) und NeuroK (**5d**):

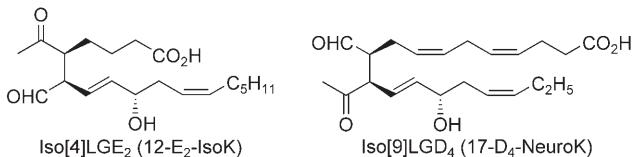


Regeln für die Benennung nach Salomon auf Grundlage der Basisstruktur **C**:

1. Isolevuglandine werden ungeachtet der PUFA-Vorstufe IsoLG genannt.
2. Einfügung der C-Zahl der α -Kette in eckigen Klammern (jedoch keine Einfügung der C-Zahl für die Diastereomere der Levuglandine).
3. Angabe des Substitutionsmusters mit D oder E durch Bestimmung der Anzahl von Wasserstoffatomen an den Carbonylgruppen und Vergleich mit deren Anzahl in der 9- bzw. 11-Position von PGD oder PGE.
4. Angabe der Zahl der Doppelbindungen in den Seitenketten tiefgestellt.

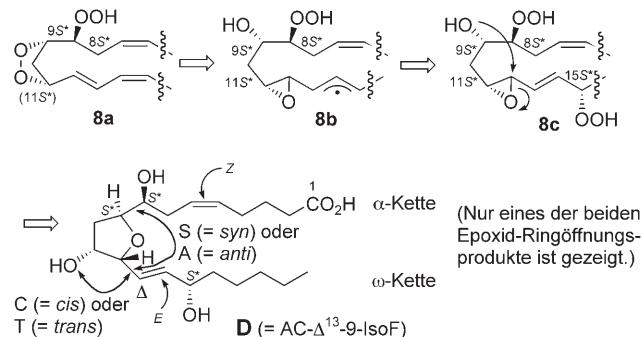
Regeln für die Benennung nach Roberts auf Grundlage der Basisstruktur **C**:

1. Angabe der Nummer des C-Atoms, das die OH-Gruppe der Seitenkette trägt. Die Nummer entspricht der des C-Atoms in der PUFA-Vorstufe.
2. Angabe des Substitutionsmusters mit D oder E durch Bestimmung der Anzahl von Wasserstoffatomen an den Carbonylgruppen und Vergleich mit deren Anzahl in der 9- bzw. 11-Position von PGD oder PGE.
3. Angabe der Zahl der Doppelbindungen in den Seitenketten tiefgestellt.
4. Abkürzung der Isoketale als IsoK und der Neuroketale als NeuroK.



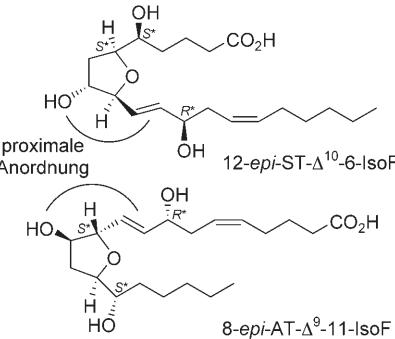
Schema 7. Nomenklatursysteme für IsoLG nach Salomon und Roberts.

Definition der stereochemischen Beziehungen in der Basisstruktur **D** der IsoF (**4b**):



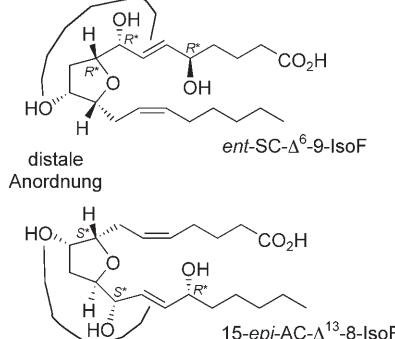
Klassen:

A) Alkenylisofurane



8-epi-AT-Δ⁹-11-IsoF

B) Endiolisofurane

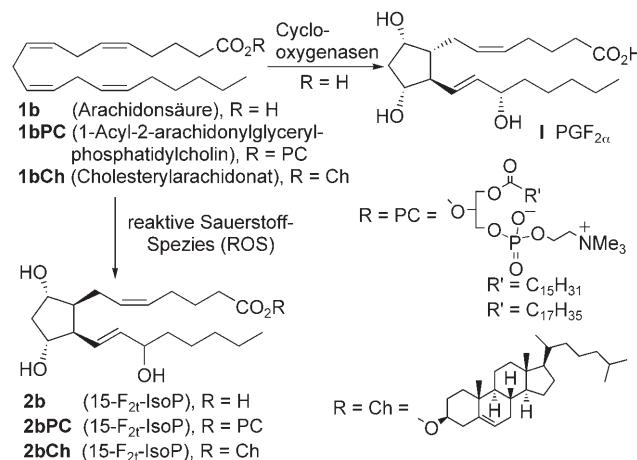


15-epi-AC-Δ¹³-8-IsoF

Regeln für die Benennung der IsoF auf Grundlage der Basisstruktur **D**:

1. COOH ist immer C1. Das die α -Kette tragende Ring-Kohlenstoffatom und die C-Atome mit den OH-Gruppen der Seitenkette(n) haben per Definition S-Konfiguration.
2. Bestimmung der relativen Anordnung der Seitenketten zueinander als A oder S.
3. Bestimmung der relativen Anordnung der OH-Gruppe des Rings zur benachbarten Seitenkette als C oder T.
4. Bestimmung der kleineren C-Nummer der E-Alken-Einheit und hochgestellte Angabe hinter dem Δ -Zeichen.
5. Angabe der Nummer des die α -Kette tragenden Ring-Kohlenstoffatoms.
6. Angabe der Abkürzung IsoF oder NeuroF.
7. Nutzung von "C-Nummer-epi" als Präfix zur Zuordnung der Konfigurationsinversion an den OH-Gruppen der Seitenkette(n).
8. Angabe von Enantiomeren der Basisstruktur durch *ent*- als Präfix.
9. Um eine Struktur aus dem Namen zu erzeugen: Bei Gerade-gerade- oder Ungerade-ungerade-Kombinationen aus 4. und 5. liegen Alkenylisofurane (A) vor, während gerade-ungerade oder ungerade-gerade für Endiolisofurane (B) stehen.
10. In Alkenylisofuraten (A) sind die OH-Gruppe des Rings und die E-Alken-Einheit proximal, in Endiolisofuraten (B) distal angeordnet.

Schema 8. Nomenklatursystem zur Benennung der 256 isomeren IsoF (**4b**); je 32 Enantiomere in vier regioisomeren Serien in zwei Strukturklassen A und B.



Schema 9. Bildung cyclischer PUFA-Metabolite unter verschiedenen Bedingungen.

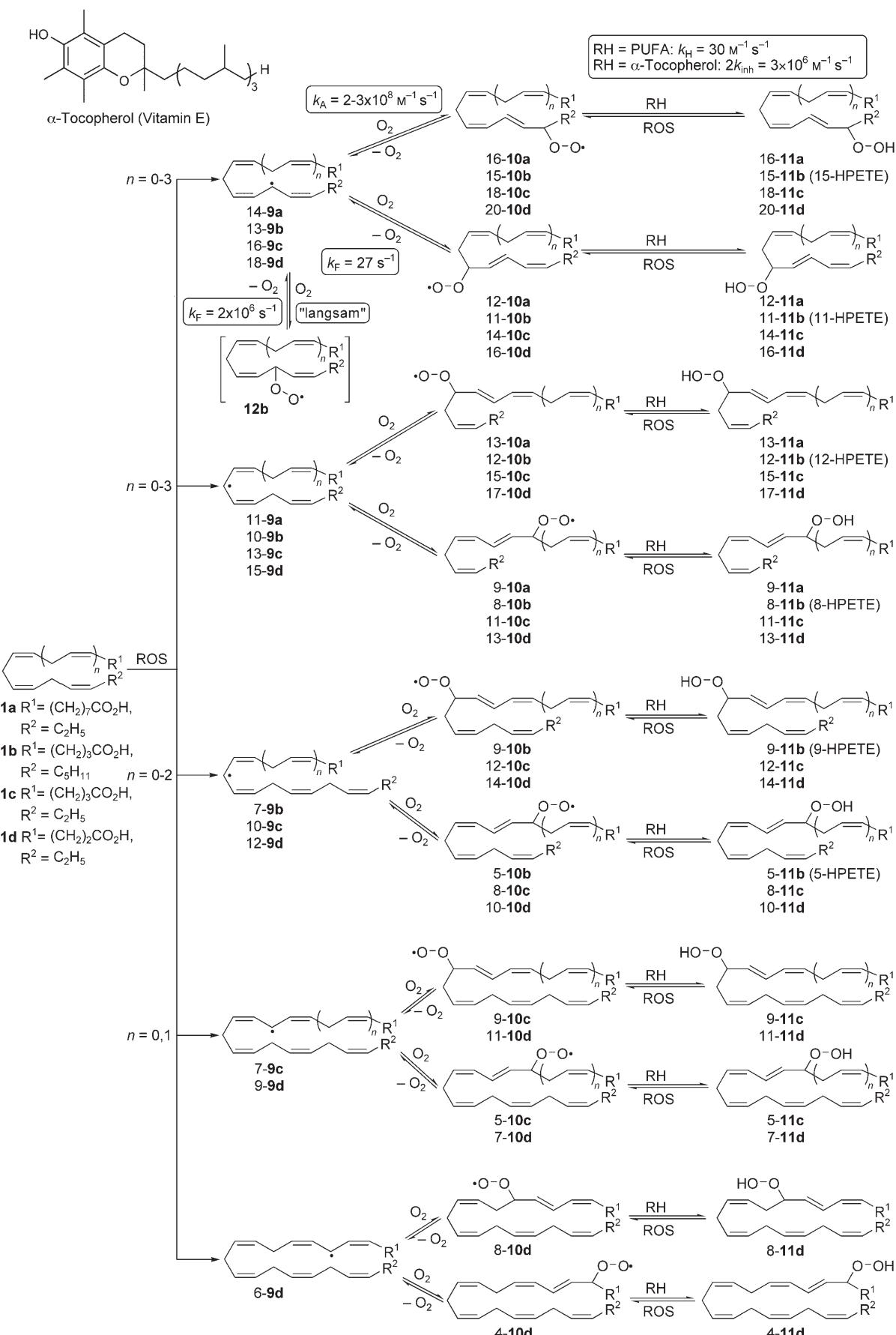
Da der Großteil der PUFA **1a-d** in vivo in Membranen als Phospholipidester (**1PC**)^[23] gebunden ist oder im Fall von **1b** als Arachidonsäurecholesteryl ester (**1bCh**) vorliegt,^[24] das ein wichtiger Bestandteil des Lipoproteins geringer Dichte (LDL) ist, geht die Bildung von IsoP, PhytoP, NeuroP, IsoTx, IsoLG und IsoF (**2a-d** bis **5a-d**) vorwiegend in veresteter Form vorstatten. Der cyclische Metabolit selbst wird erst nachträglich auf verschiedene Weise freigesetzt (siehe Abschnitt 4.3).

Auf dieser Basis wurde ein plausibler mechanistischer Rahmen für die In-vivo-Bildung cyclischer PUFA-Metabolite **2-4** entwickelt. Da **2-4** durch Autoxidation erzeugt werden, kann ihre In-vivo-Entstehung durch rein chemische Untersuchungen nachvollzogen werden, was teilweise lange vor ihrer ersten Isolierung geschah. Interessanterweise waren die meisten dieser Studien darauf ausgerichtet, die Biosynthese der Prostaglandine chemisch zu modellieren. Heute wissen wir, dass stattdessen die Hauptfaktoren aufgezeigt wurden, die die Bildung von **2-4** in vitro und in vivo beeinflussen.

Der Prozess der Erzeugung cyclischer PUFA-Metabolite besteht aus vielen Schritten und ist von mehreren Parametern abhängig. Die wichtigsten sind der Redoxzustand der Zelle oder des Gewebes (wobei die Konzentration an reaktiven Sauerstoff-Spezies (ROS) von besonderer Bedeutung ist), die Sauerstoff-Konzentration selbst und die zur Verfügung stehende Konzentration an Reduktionsmitteln. Deshalb wird die Bildungsweise cyclischer PUFA-Metabolite auf der Basis dieser Faktoren diskutiert.

4.1. Wasserstoffabstraktion aus PUFA durch ROS und Peroxidation

Das initierende Ereignis der oxidativen Metabolisierung aller PUFA wie **1a** ($n=0$), **1b** ($n=1$), **1c** ($n=2$) oder **1d** ($n=3$) ist die Wasserstoffabstraktion (Schema 10). Dies geschieht mit erhöhter Geschwindigkeit, wenn das interne Redox-



Schema 10. Wasserstoffabstraktion und Peroxidation der PUFA 1a-d.

gleichgewicht einer Zelle gestört ist und die Erzeugung von initiiierenden Spezies wie ROS nicht mehr effizient unterdrückt werden kann. Die wichtigsten ROS sind das Hydroxyl-Radikal, das Superoxid-Radikalanion, Alkoxy-Radikale, Peroxyl-Radikale, Singulett-Sauerstoff, Ozon oder Wasserstoffperoxid; aber auch andere reaktive Spezies wie Peroxynitrit, NO, NO₂ oder Kohlenstoff-zentrierte Radikale können für die Wasserstoffabstraktion aus PUFA verantwortlich sein.^[25] Darüber hinaus vermögen auch niedrigwertige Metallionen wie Cu¹ oder Fe^{II} in Gegenwart von Ascorbat oder Hämeisen-Komplexe unter aeroben Bedingungen die PUFA-Autoxidation auszulösen.^[26] Sogar Enzyme wie Myeloperoxidase in Verbindung mit Wasserstoffperoxid sind in der Lage, die Radikal-induzierte Lipid-Peroxidation zu vermitteln, die unter Entzündungsbedingungen hauptsächlich zu IsoLG (5) führt (siehe Abschnitte 4.2.1.2.2 und 5.2).^[27]

In grundlegenden Studien wurde gezeigt, dass Wasserstoffabstraktion nur an Bisallylpositionen freier PUFA **1a-d** sowie ihrer Methyl-, Cholesteryl- oder Phospholipidester stattfinden kann. Zwei isomere Pentadienyl-Radikale (**11-9a**, **14-9a**) resultieren aus **1a**, drei (**7-9b**, **10-9b**, **13-9b**) aus **1b**, vier (**7-9c**, **10-9c**, **13-9c**, **16-9c**) aus **1c** und fünf (**6-9d**, **9-9d**, **12-9d**, **15-9d**, **18-9d**) aus **1d** (Schema 10). Die konjugierten Pentadienyl-Radikale **9a-d** haben eine *Z,Z*-Konfiguration und zeigen Rotationshinderung um die partiellen Doppelbindungen. Damit wird die Doppelbindungskonfiguration für eine genügend lange Zeit erhalten.

Alle Pentadienyl-Radikale **9a-d** werden an ihren jeweiligen terminalen Positionen mit Geschwindigkeitskonstanten von $k_A = 2-3 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ oxygeniert.^[28] In diesem Prozess werden vier regiosomere *E,Z*-2,4-Pentadienylperoxy-Radikale (**9-10a**, **12-10a**, **13-10a**, **16-10a**) aus **1a** erzeugt, sechs (**5-10b**, **8-10b**, **9-10b**, **11-10b**, **12-10b**, **15-10b**) aus **1b**, acht (**5-10c**, **8-10c**, **9-10c**, **11-10c**, **12-10c**, **14-10c**, **15-10c**, **18-10c**) aus **1c** sowie zehn (**4-10d**, **7-10d**, **8-10d**, **10-10d**, **11-10d**, **13-10d**, **14-10d**, **16-10d**, **17-10d**, **20-10d**) aus **1d**. Wasserstofftransfer zu letzteren ergibt vier von **1a** abgeleitete Hydroperoxysäuren **11a**, sechs Hydroperoxyecosatetraensäuren (HPETE) **11b** aus **1b**,^[29] acht Hydroperoxysäuren (**11c**) aus **1c** und zehn (**11d**) aus **1d**.^[30]

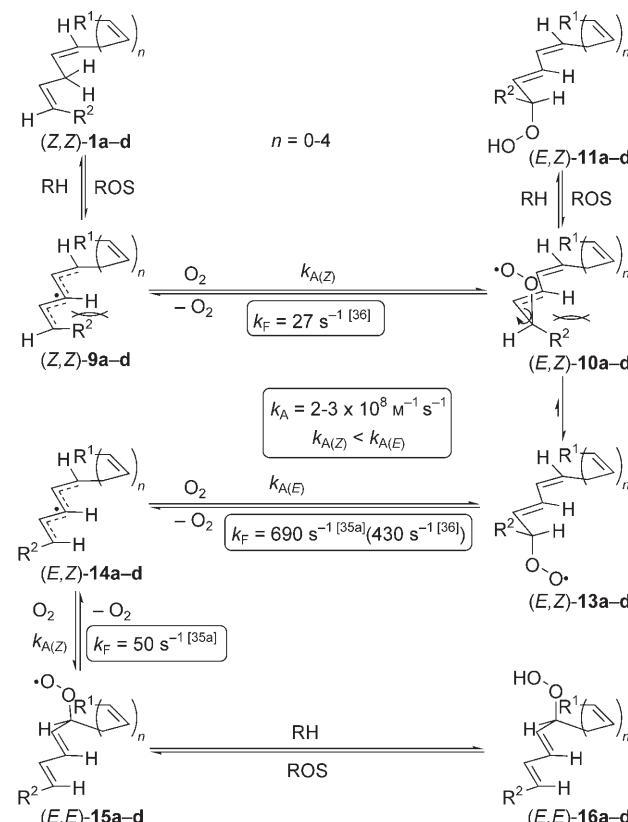
Der Wasserstofftransfer auf die Peroxyl-Radikale **10** geschieht hauptsächlich durch zwei Prozesse. In Gegenwart des Lipid-Antioxidans α -Tocopherol, das zwei Peroxyl-Radikaläquivalente **10** mit einer hohen Gesamtgeschwindigkeitskonstante von $2k_{inh} \approx 3 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ in organischen Lösungsmitteln, Lipidmembranen oder LDL reduziert, wird die Autoxidationskettenreaktion effizient abgebrochen.^[31] In organischen Lösungsmitteln wurden so alle Hydroperoxid-Regiosomere **11a-d** in fast gleichen Mengen isoliert.^[29b,30] Es ist interessant, dass sich 5-HPETE (**5-11b**) nicht bildete, wenn die Membranmodellverbindung 1-Stearyl-2-arachidonyl-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin in Gegenwart von α -Tocopherol autoxidierte.^[32]

In Abwesenheit von Antioxidantien geschieht der Wasserstofftransfer zu **10** vorwiegend aus Bisallylpositionen anderer PUFA-Moleküle mit einer Geschwindigkeitskonstante von $k_H \approx 30 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ pro abstrahierbares Wasserstoffatom,^[33,34] wodurch die Kettenreaktion der Autoxidation propagiert wird. Unter diesen Bedingungen ergab die Peroxidation von

1b bevorzugt 5- und 15-HPETE (**5-11b** bzw. **15-11b**). Die Hydroperoxide **11b**, die durch Oxidation an den 8-, 9-, 11- oder 12-Positionen entstehen, wurden in wesentlich geringerem Ausmaß gefunden, da ihnen günstige Cyclisierungsmöglichkeiten offenstehen (siehe Abschnitt 4.2.1.1).^[32]

Hydroperoxide, die aus nicht-konjugierten Peroxyl-Radikalen wie **12b** (siehe Schema 10) resultieren, wurden nur bei extrem hohen Antioxidans-Konzentrationen in sehr geringen Mengen als Intermediate detektiert. Dies kann auf ihre sehr schnelle β -Fragmentierung ($k_F \approx 1-2 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$) zurückgeführt werden.^[35]

Die Bildung der Pentadienylperoxy-Radikale **10a-d** kann jedoch auch aus den Hydroperoxiden **11a-d** auf umgekehrtem Wege durch Wasserstofftransfer auf ROS erfolgen. Die so zurückgebildeten (*E,Z*)-**10a-d** sind sogar einer langsamen β -Fragmentierung ($k_F = 27 \text{ s}^{-1}$) zu den *Z,Z*-Pentadienyl-Radikalen (*Z,Z*)-**9a-d** und O₂ zugänglich (Schema 11). Der geringe Wert kann leicht auf Basis der sich



Schema 11. Erzeugung von 2,4-Pentadienylhydroperoxiden mit unterschiedlicher Doppelbindungskonfiguration während der Autoxidation.

entwickelnden Allylspannung während der Fragmentierung verstanden werden. Durch die konformative Beweglichkeit von (*E,Z*)-**10a-d** sind aber die bevorzugteren *transoiden* Peroxyl-Radikal-Rotamere (*E,Z*)-**13a-d** leicht zu erreichen, aus denen die β -Fragmentierung zu den weniger gespannten konjugierten *E,Z*-Pentadienyl-Radikalen (*E,Z*)-**14a-d** mit einer Geschwindigkeitskonstante von $k_F = 690 \text{ s}^{-1}$ viel leichter vorstatten geht.^[37]

Die durchschnittliche Geschwindigkeitskonstante der Rekombination von **9a-d** mit Sauerstoff wurde zu $k_A = 2-3 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bestimmt.^[28] Allerdings verläuft die Kupplung mit O₂ am E-Terminus von **14a-d** etwas schneller als an der Z-Seite.^[35,36] Auf diese Weise bilden sich die *E,Z*-Pentadienylperoxyl-Radikale (*E,Z*)-**13a-d** bevorzugt zurück. Dennoch kann die Kupplung mit O₂ am Z-Terminus von **14a-d** noch konkurrieren. In dem Fall resultieren jedoch zuerst die *E,E*-2,4-Pentadienylperoxyl-Radikale (*E,E*)-**15a-d** und dann die Hydroperoxide (*E,E*)-**16a-d**. Letztere sind für die Bildung von Isoprostanen mit umgekehrter Konfiguration der Hydroxy-Gruppe der Seitenkette verantwortlich (siehe Abschnitt 4.2.1.1).

Die labilen Hydroperoxide **11a-d** oder **16a-d** haben in vivo verschiedene Möglichkeiten, zu stabilen Verbindungen abzureagieren. Der größte Teil zersetzt sich über C-C-β-Fragmentierung zu einer Reihe reaktiver Metabolite wie 4-Hydroxynonenal und Malondialdehyd.^[11] Cyclisierungsprozesse der Peroxyl-Radikale **10a-d** oder **15a-d** sind viel weniger bevorzugt als der Kettenbruch; beispielsweise beträgt bei der Autoxidation in Mikrosomen das Verhältnis des Verbrauchs von **1b** zur Bildung von F₂-IsoP etwa 130 000:1. In demselben Experiment wurde eine ca. 34 000-mal größere Menge an Malondialdehyd als an F₂-IsoP bei 21 % Sauerstoff-Konzentration gemessen.^[38] Dennoch sind die cyclischen Verbindungen **2-4** wegen ihrer biologischen Aktivität und diagnostischen Anwendung von großer Bedeutung im PUFA-Metabolismus.

4.2. Abhängigkeit der PUFA-abgeleiteten cyclischen Produkte von der Sauerstoff-Konzentration in Geweben

Die Reversibilität aller in den Schemata 10 und 11 gezeigten Reaktionsschritte ist gut geeignet, um die Lebenszeit der Radikaltypen **9** und **10** so zu verlängern, dass verschiedene Stabilisierungswege in Abhängigkeit von den Bedingungen in einem Organismus möglich sind. Einer der wichtigsten Faktoren, die bestimmen, welche Intermediate und damit welche Klassen cyclischer PUFA-Metabolite gebildet werden, ist der Partialdruck von Sauerstoff im jeweiligen Gewebe. Bei normaler Sauerstoff-Konzentration gehen die Radikale **10a-d** hauptsächlich O-C/C-C-Bicyclisierungen zu PhytoP (**2a**), IsoP (**2b,c**), NeuroP (**2d**), Isothromboxanen (IsoTx, **3**) und IsoLG (**5b,d**) ein. Wenn der Sauerstoff-Partialdruck ansteigt, verschiebt sich das Produktspektrum hin zu Metaboliten mit höherem Sauerstoff-Gehalt – nämlich den Dioxolananen und IsoF (**4b**).

4.2.1. Radikalcyclisierungen bei normalem Sauerstoff-Partialdruck

4.2.1.1. Die in allen PUFA vonstattengehende Radikalbicyclisierung

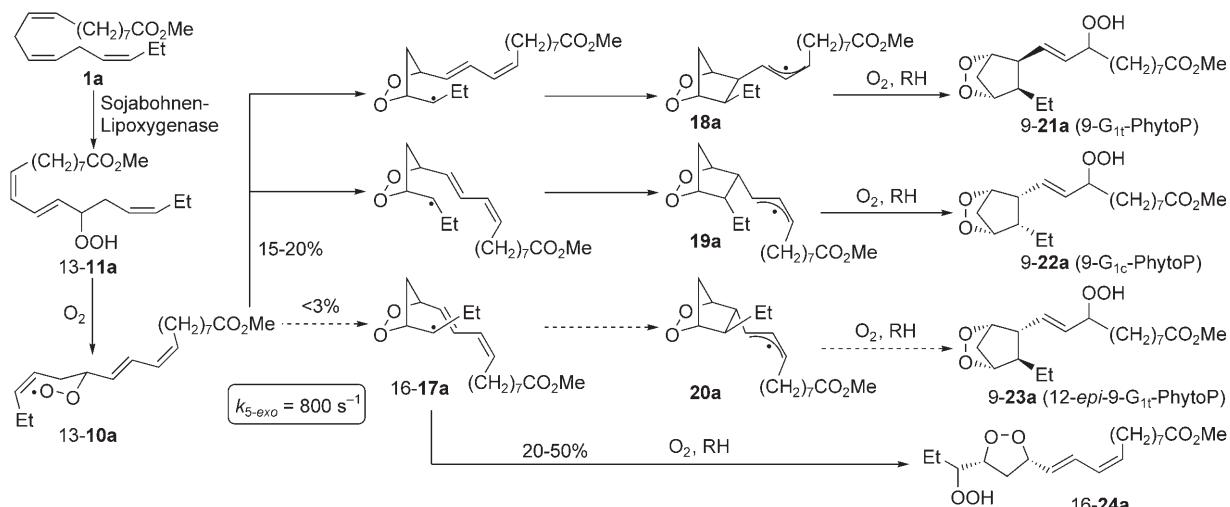
Freie und veresterte PUFA **1a-d** können ebenso wie ihre Hydroperoxide **11a-d** als Vorstufen dienen, um Bicyclisierungen zu cyclischen PUFA-Metaboliten der Verbindungsklassen **2a-d**, **3** und **5** zu initiieren. Die in diesem Abschnitt zusammengefassten Studien wurden ausschließlich mit Deri-

vaten von **1a** und **1b** durchgeführt; ihre Ergebnisse sind jedoch im Prinzip auch auf Derivate von **1c** und **1d** übertragbar.

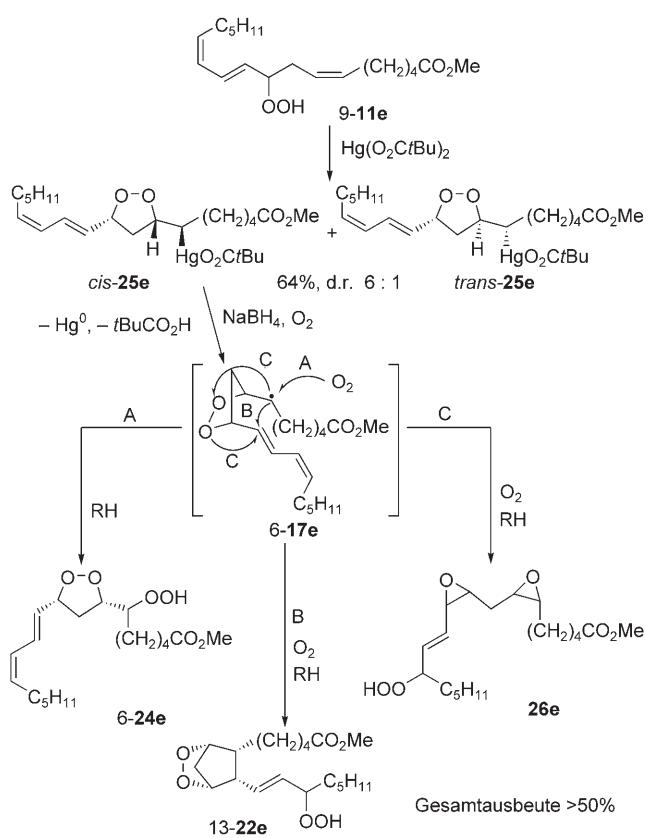
In frühen Studien zeigten Porter und Funk, dass die Reaktion von γ-Linolensäuremethylesterhydroperoxiden mit Sauerstoff in Benzol nicht-enzymatisch zu C₁₈-„Prostaglandin-artigen“ Strukturen führt.^[39a] α-Linolensäuremethylester **1a** ergab ähnliche cyclische Verbindungen,^[39b,c] die heute als F₁-PhytoP zu bezeichnen sind (siehe Abschnitt 3.1).^[40] Dies belegt, dass die Peroxyl-Radikale **10a**, die durch Autoxidation freier oder veresterter **1a** gebildet werden, kinetisch kontrollierte irreversible 5-*exo*-Cyclisierungen mit geeignet positionierten Alken-Einheiten eingehen. Die Geschwindigkeitskonstante für diese Cyclisierung wurde zu etwa 800 s⁻¹ abgeschätzt.^[29a,c]

Die Konfiguration der Verbindungen wurde jedoch nicht eindeutig festgelegt. In einer detaillierten späteren Studie zum autoxidativen Cyclisierungsverhalten von α- sowie γ-Linolensäurehydroperoxiden wie **13-11a** zeigten O'Connor et al., dass die Cyclisierung des Peroxyl-Radikals **13-10a** mit hoher *cis*-Diastereoselektivität zum 1,2-Dioxolanylalkyl-Radikal **16-17a** stattfindet (Schema 12).^[41] Dieses wurde zu 20–50 % direkt durch Sauerstoff unter Bildung eines Diastereomerengemisches der monocyclischen 3,5-*cis*-substituierten 16-Hydroperoxyendoperoxide **16-24a** abgefangen. Wenigstens 15–20 % von **16-17a** gingen eine weitere 5-*exo*-Radikalcyclisierung und nachfolgende Peroxygenierung der Allylradikale **18a-20a** zu einem Gemisch von 9-G_{1a}- und 9-G_{1c}-PhytoP (9-**21a** bzw. 9-**22a**) in einem 1:2-1:4-Diastereomerenverhältnis ein. 9-**23a** mit relativer PG-Konfiguration wurde nur in Mengen von < 3 % gefunden. Die G₁-PhytoP-Isomere **9-21a** bis **9-23a** (und folglich auch G₂-IsoP oder G₄-NeuroP) sind nicht besonders stabil, können jedoch unter definierten Bedingungen isoliert werden. Durch Zugabe von Antioxidantien wie α-Tocopherol^[39b,42] oder Glutathion^[42,43] wurde die Bildung von Isoprostanen verhindert oder zumindest verringert, was das Vorliegen eines Radikalprozesses untermauert.

Um die Komplexität des Produktspektrums zu reduzieren und die Prozesse nach der Bildung der Endoperoxy-Radikale besser zu verstehen, zielten nachfolgende Studien auf die Entkopplung der beiden Radikalcyclisierungsschritte ab. Dies wurde durch die Anwendung einer leicht durchführbaren intramolekularen Peroxymercurierung des von γ-Linolensäuremethylester (**1e**) abgeleiteten Hydroperoxids **9-11e** erreicht (Schema 13).^[44] Seine Reaktion mit Hg^{II}-Salzen ergab die gewünschte 3,5-*cis*-disubstituierte Endoperoxyorganoquecksilber-Verbindung **cis-25e** zusammen mit etwas *trans*-Diastereomer *trans-25e* als stabile Verbindungen, die gute Vorstufen für Radikalcyclisierungen sind. Radikal **6-17e** wurde durch Reduktion mit NaBH₄ erzeugt. Dessen Reaktion in Gegenwart von Sauerstoff lieferte die monocyclischen Endoperoxide **6-24e** durch direkte Kupplung (Weg A) und vier bicyclische Endoperoxid-Diastereomere (nur Hauptdiastereomer **13-22e** gezeigt) durch 5-*exo*-Radikalcyclisierung (Weg B). **13-22e** entspricht dem Metaboliten 2,3-Dinor-5,6-dihydro-15-F₂-IsoP (siehe Abschnitt 4.3). Darüber hinaus wurde das Diepoxid **26e** isoliert, das wahrscheinlich durch eine Sequenz aus 1,3-S_H/3-*exo*-Cyclisierung/Sauerstoff-Abfang entsteht (Weg C). Diepoxide können signifikante



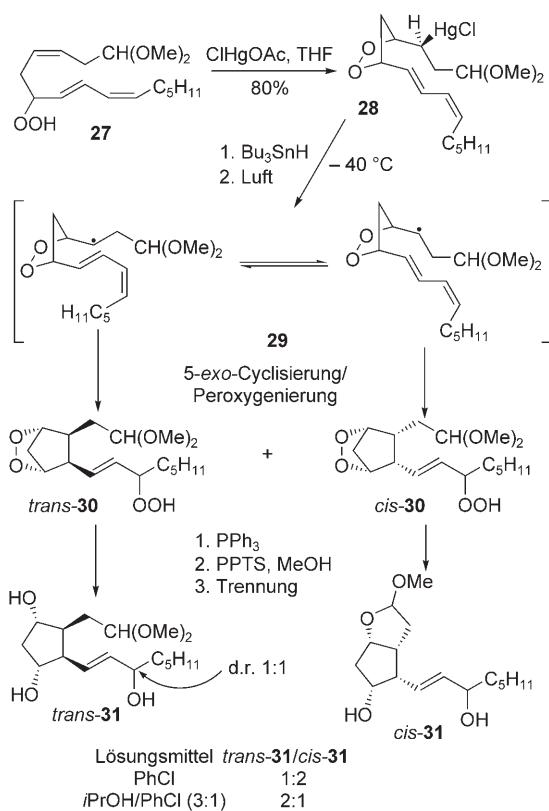
Schema 12. Autoxidative Bicyclisierung von 13-11a zu den Endoperoxiden 9-21a bis 9-23a.



Schema 13. Bildung stabiler Produkte aus 1,2-Dioxolanylcarbonyl-Radikalen 6-17e.

Intermediate bei der Bildung von Isofuranen sein (siehe Abschnitt 4.2.2).

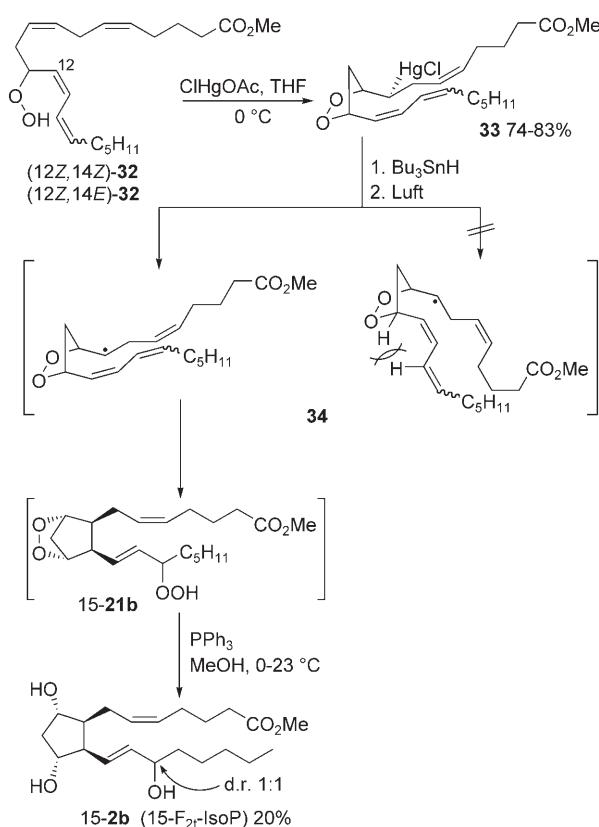
Corey et al. nutzten das aus dem Hydroperoxid **27** zugängliche Endoperoxyquecksilber-Derivat **28** zur Initiierung der 5-exo-Cyclisierung von **29** zu den bicyclischen Hydroperoxiden **30** (Schema 14).^[45] Vollständige Peroxid-Reduktion ergab die F_{2c} - und F_{2t} -IsoP-Vorstufen *cis*-**31** und *trans*-**31** in 60–90% Ausbeute an isoliertem Produkt. Das *trans*-**31**/*cis*-**31**-



Schema 14. Radikalcyclisierung/Oxygenierung der Quecksilberverbindung **28** zur F_2 -IsoP-Vorstufe **31**.

Verhältnis war Lösungsmittel-abhängig und reichte von 1:2 im unpolaren Chlorbenzol bis zu 2:1 im polareren *i*PrOH/Chlorbenzol- (3:1) oder $H_2O/MeOH$ /Chlorbenzol-Gemisch (4:3:1). Diastereomere mit PG-Konfiguration (siehe **23a** in Schema 12) wurden in weniger als 2% Ausbeute gefunden.

Aus den Vorstufen **32** mit nicht-natürlichen 12Z-Dien-Einheiten wurden dagegen nur 15- F_{2t} -IsoP-Diastereomere **15-2b** in 20% Ausbeute erhalten (Schema 15).^[46] Anders als beim natürlichen 12E-Isomer wird die ω -Kette im Radikal **34**



Schema 15. Biomimetische Radikalcyclisierung/Peroxygenierung von (12Z)-11-HPETE (32).

mit 12Z-Konfiguration im Übergangszustand der Cyclisierung höchstwahrscheinlich in eine β -Orientierung gezwungen, da die α -Anordnung eine beträchtliche Allylspannung aufweist.^[47]

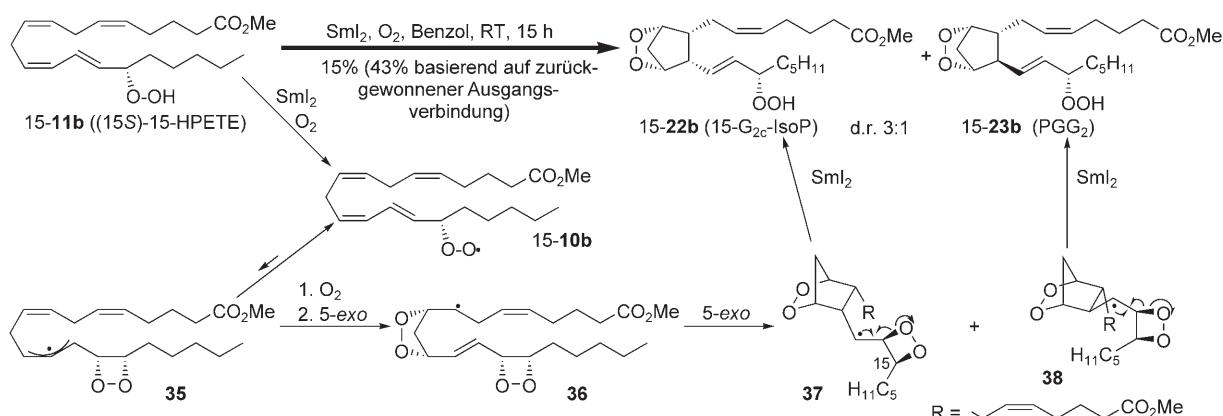
Corey und Wang untersuchten auch die Radikalcyclisierung von (15S)-15-HPETE (15-11b), initiiert durch SmI_2 in Gegenwart von Sauerstoff, wobei sie ein PGG₂/G₂-IsoP-Gemisch (1:3) in 15 % Ausbeute isolierten (Schema 16).^[48] Um die andere Stereoselektivität als bei autoxidativen Bicyclisierungen zu erklären (siehe Schema 12), wurde ein Dioxetan-basierter Mechanismus vorgeschlagen, den Rokach et al.

später auch für die Isoprostan-Biosynthese übernahmen.^[15c,49] Demzufolge cyclisiert das 15-HPETE-abgeleitete Peroxyl-Radikal 15-10b zuerst im 4-exo-Modus zu einem Dioxetanylallyl-Radikal 35, das mit Sauerstoff zum (11S)-14,15-Endoperoxy-11-HPETE-Radikal kuppelt und anschließend die 5-exo/5-exo-Bicyclisierung über 36 zu den Radikalen 37 und 38 eingeht. Diese fragmentieren schließlich zu 15-G_{2c}-IsoP (15-22b) und PGG₂ (15-23b).

Dieser Vorschlag ist jedoch mit einigen ernsthaften Problemen behaftet, darunter die sehr geringe Geschwindigkeit und die Reversibilität von 4-exo-Radikalcyclisierungen^[50] sowie die Instabilität von Dioxetanen im Allgemeinen. Darüber hinaus wurde nicht über die optische Aktivität von 15-22b und 15-23b berichtet. Spätere Studien zur Autoxidation von (15S)-15-HPETE-cholesterylestern 15-11b mit 98.9 % ee widerlegten diesen Vorschlag, da die in Schema 16 gezeigten Produkte 15-22b und 15-23b racemisch waren.^[24,51] Darüber hinaus wurden alle acht möglichen 15-G₂-IsoP-Diastereomere aus 15-11b gebildet. Ebenso ist das Auftreten monocyklischer Endoperoxide 24b (siehe Schema 12) und serieller Endoperoxid-Produkte (siehe Abschnitt 4.2.2) in den Reaktionsgemischen nicht in Einklang mit dem Dioxetan-Mechanismus.

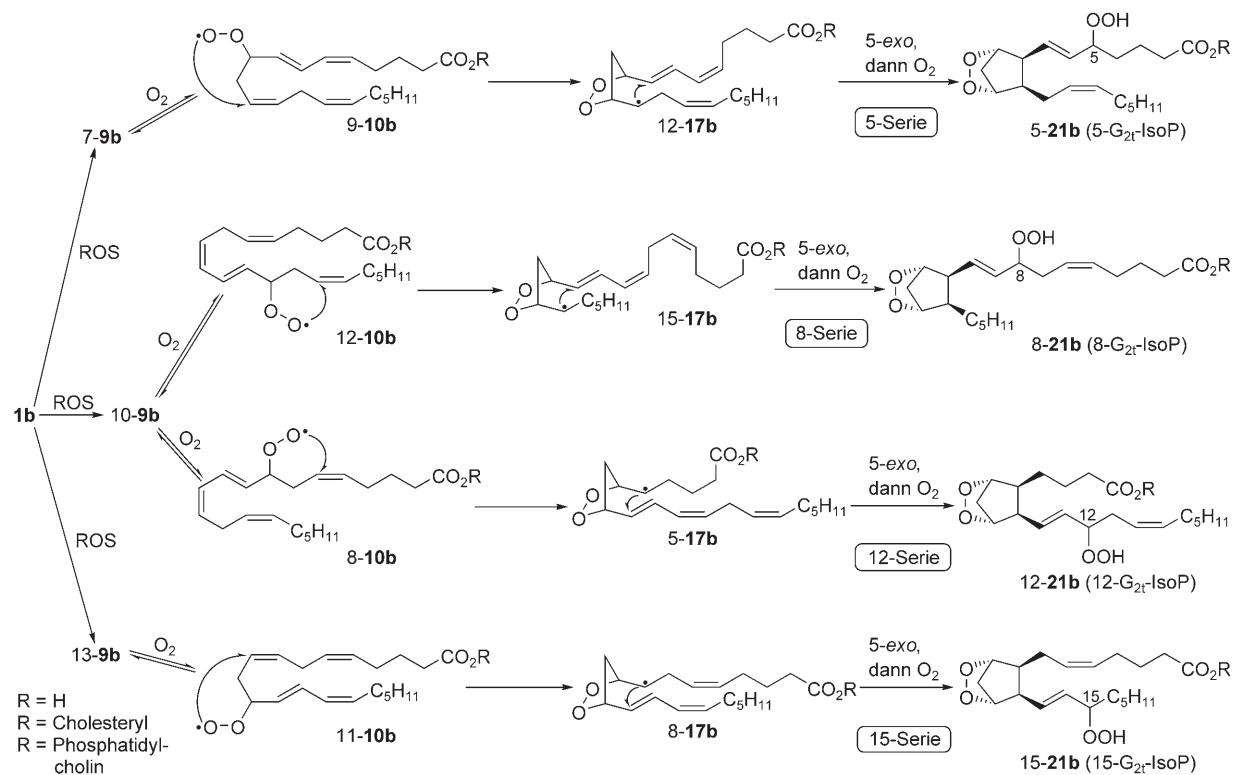
Da bei der Arachidonat-Autoxidation alle vier möglichen Peroxyl-Radikale 10b parallel erzeugt werden, können sich auch vier regiosomare Serien bicyclischer G₂-IsoP bilden (Schema 17, nur Ring-Diastereomer 21b gezeigt). Nach der Position der Hydroxy-Gruppe der Seitenkette werden sie als 5-, 8-, 12-, und 15-G₂-IsoP bezeichnet. Alle vier Serien wurden durch Reduktion zweifelsfrei in Form ihrer F₂-IsoP-Analoga identifiziert (siehe Abschnitt 4.2.1.2.1.1) und auch quantifiziert. Diastereomergemische von 5- und 15-F₂-IsoP bildeten sich in 33 bzw. 25 % Ausbeute, aber nur 5 % der cyclischen Isomere gehörten zu den 8- und 12-F₂-IsoP-Serien.^[52]

Porter et al. belegten vor kurzem, dass alle sechs von Arachidonsäurecholesterylestern (1bCh) abgeleiteten HPETE (11b) geeignete Vorstufen in autoxidativen Cyclisierungen sind (Schema 18).^[24] Die Hydroperoxide fungieren als spezifische Vorstufen zu den 5-, 8-, 12-, und 15-Serien von Cholesteryl-IsoP. So ergaben 15-HPETE und 11-HPETE 15-G₂-IsoP (15-22b), während 5-HPETE und 9-HPETE selektiv zu 5-G₂-IsoP (5-21b) führten. Im Unterschied dazu haben 8-



Schema 16. Coreys Vorschlag des Dioxetan-Mechanismus zur Bildung von 15-G_{2c}-IsoP (22b) und PGG₂ (23b).

Cyclische Lipide



Schema 17. Bildung der regioisomeren G_2 -IsoP-Serien (von den vier möglichen Ring-Diastereomeren nur **21b** gezeigt).

5-HPETE → 5-21b (5-G_{2r}-IsoP)

9-HPETE → 5-21b (5-G_{2r}-IsoP)

8-HPETE → 8-21b (8-G_{2r}-IsoP)

12-HPETE → 12-21b (12-G_{2r}-IsoP)

11-HPETE → 15-21b (15-G_{2r}-IsoP)

15-HPETE → 15-21b (15-G_{2r}-IsoP)

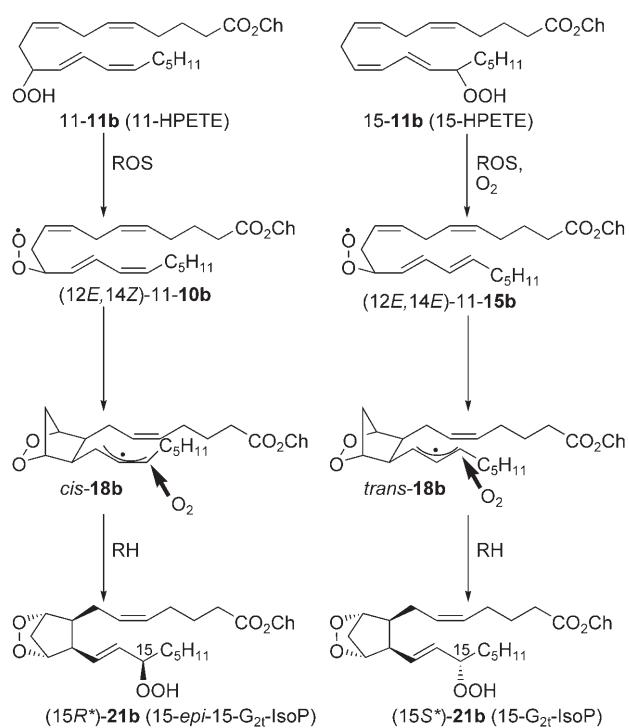
Ch = Cholestryloxyl

Schema 18. Cyclisierungen der AA-Hydroperoxide (HPETE) zu G₂-IsoP (nur Ring-Diastereomer **21b** gezeigt).

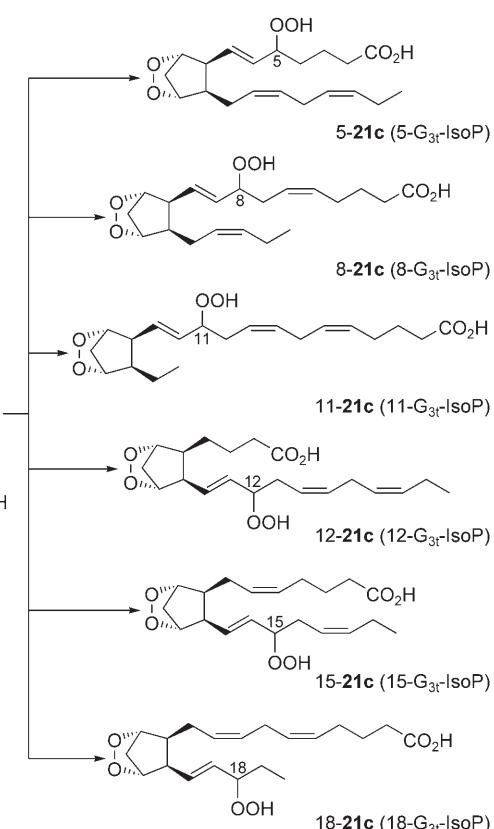
HPETE und 12-HPETE je zwei Möglichkeiten zur Cyclisierung: Beide lieferten ein Gemisch der 8- und 12-G₂-IsoP (8- und 12-**21b**), jedoch in einem wesentlich geringeren Ausmaß als erwartet (siehe Schema 20). In Übereinstimmung mit früheren Befunden waren die bevorzugt gebildeten Ring-Stereoisomere G_{2a}-IsoP (**21b**) und G_{2c}-IsoP (**22b**).

Die Konfiguration der Hydroperoxy-Gruppe in der Seitenkette erwies sich als abhängig von der Herkunft und der Konfiguration der Pentadienylperoxyl-Radikale (*E,Z*)-**10b** und (*E,E*)-**15b** (Schema 19, siehe Schema 11).^[24] Im 11-HPETE-abgeleiteten Peroxyl-Radikal **11b** ändert sich die *12E,14Z*-Dien-Konfiguration durch die Initiierung der aut-oxidativen Bicyclisierung nicht; somit resultiert ein *cisoides* Allylradikal **cis-18b**, das mit Sauerstoff bevorzugt von der weniger gehinderten Vorderseite kuppelt und vorwiegend *15-epi-15-G₂-IsoP* ((*15R^{*}*)-**21b**) mit relativer 15β -Konfiguration ergibt. Dagegen führt die notwendige β -Fragmentierung des von 15-HPETE (**15-11b**) abgeleiteten Peroxyl-Radikals **15-10b** zum *12Z,14E*-Pentadienyl-Radikal **13-14b**, das Sauerstoff zum thermodynamisch stabileren (*E,E*)-**11-15b** addiert (siehe Schema 11). Dieses cyclisiert zum *transoiden* Allylradikal **trans-18b**, das mit Sauerstoff zu *15-G₂-IsoP* ((*15S^{*}*)-**21b**) als Hauptprodukt rekombiniert. Diese Befunde sprechen ebenfalls gegen den Dioxetan-Mechanismus (siehe Schema 16).

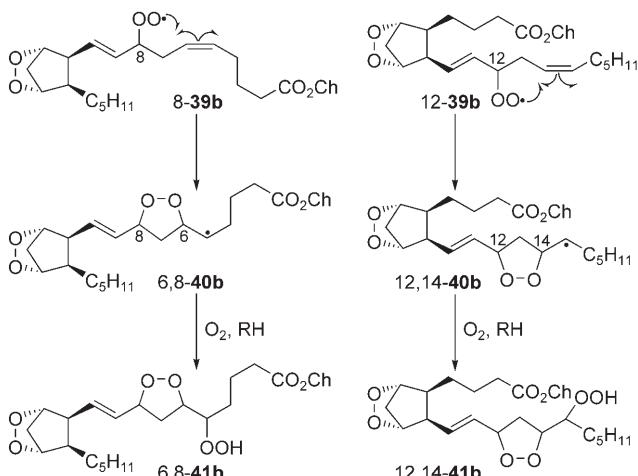
Das wesentlich geringere Ausmaß der Bildung der 8- und 12-F₂-IsoP-Serien in vivo kann nur teilweise durch die Herkunft beider IsoP-Klassen aus demselben Pentadienyl-Radikal 10-**9b** (siehe Schema 10) erklärt werden. Porter et al. demonstrierten, dass die von 8- und 12-HPETE (8-**11b** bzw. 12-**11b**) abgeleiteten bicyclischen Peroxyl-Radikale 8-**39b** und 12-**39b** nur zu einem geringen Teil Wasserstoff abstrahieren und so 8- und 12-G₂-IsoP (8-**21b** bzw. 12-**21b**) ergeben.^[53] Sie gingen vielmehr eine weitere kinetisch bevorzugte 5-*exo*-Cyclisierung des Peroxyl-Radikals mit den günstig positionierten C5-C6- bzw. C14-C15-Alken-Einheiten ein (Schema 20). Die resultierenden 1,2-Dioxolan-3-ylcarbiny-



Schema 19. Abhängigkeit der Konfiguration der Hydroperoxid-Einheit in der Seitenkette von G₂-IsoP (21b) von der Dien-Konfiguration der Pentadienylperoxyl-Radikale 11-10b und 11-15b (nur ein Ring- und das Hauptdiastereomer in der Seitenkette gezeigt).



Schema 21. Bildung der EPA-abgeleiteten G₃-IsoP (nur Ring-Diastereomer 21c gezeigt).



Schema 20. Bildung von Dioxolan-IsoP (41b).

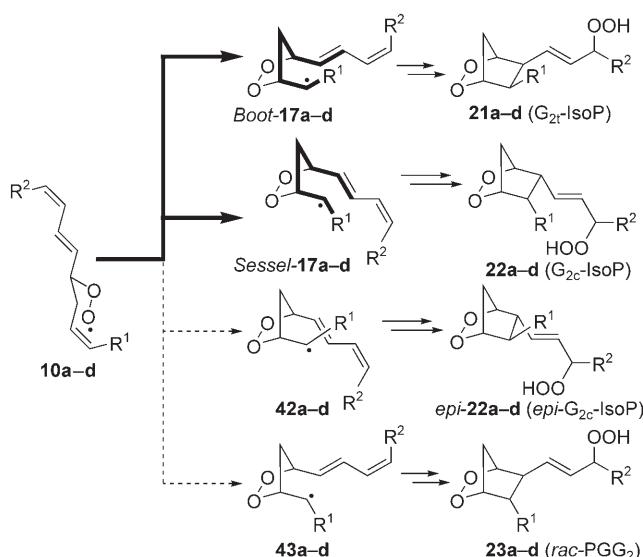
Radikale 6,8-40b und 12,14-40b ergaben nach Kupplung mit Sauerstoff und Wasserstofftransfer 6,8-Dioxolan-IsoP (6,8-41b) sowie 12,14-Dioxolan-IsoP (12,14-41b). Diese Metabolite wurden auch bei der In-vitro-Oxidation von in LDL vorkommenden Arachidonsäure-haltigen Phospholipiden und von Arachidonsäurecholesterylester (1bCh) detektiert.

Bei der Cyclisierung von EPA (1c) entstehen zusätzlich zur 5-, 8-, 12- und 15-Serie auch die IsoP-Regiosomere der 11- und 18-Serie 11-21c und 18-21c (Schema 21). Ähnlich zur

Produktverteilung bei den G₂-IsoP sind 5-21c und 18-21c die in vivo aus 1c hauptsächlich gebildeten Produkte, während die G₃-IsoP der 8-, 11-, 12- und 15-Serien in geringerer Menge entstehen.^[54]

Zusammengefasst gehen alle mindestens dreifach ungesättigten Fettsäuren 1a-d definierte Radikalbicyclisierungen ein. Der erste Cyclisierungsschritt der Peroxyl-Radikale 10a-d verläuft unter enzymatischen wie auch nicht-enzymatischen Bedingungen hochstereoselektiv über einen Beckwith-Houk-Übergangszustand und ergibt fast ausschließlich 3,5-cis-orientierte 1,2-Dioxolan-3-ylalkyl-Radikale 17a-d (Schema 22).^[55] Die nachfolgende Cyclopentan bildende 5-exo-Radikalcyclisierung verläuft bevorzugt über die energetisch ähnlichen Sessel- bzw. Boot-Übergangszustände *Boot*-17a-d und *Sessel*-17a-d und führt zu G₂t-IsoP (21a-d) und G_{2c}-IsoP (22a-d).^[56] Das Verhältnis dieser zwei Cyclisierungsprodukte wird anscheinend etwas durch das Reaktionsmedium und das Substitutionsmuster der cyclisierenden α - und ω -Ketten beeinflusst.

Die alternativen Übergangszustände 42a-d und 43a-d, die zum *trans*-diastereomeren *epi*-G_{2c}-IsoP (*epi*-22a-d) sowie racemischem PGG₂ (23a-d) führen, sind aufgrund von ungünstigen axialen Substituenten und Boot-Anordnungen benachteiligt. Der Unterschied der Übergangszustandsenergien zwischen *Sessel*-17a-d/*Boot*-17a-d und 42a-d/43a-d wurde zu ca. 3.4 kcal mol⁻¹ berechnet.^[21] Bei steigender Temperatur scheint die Energiedifferenz etwas geringer zu werden.



Schema 22. Stereochemische Präferenzen der Radikalbicyclisierungen zu G-IsoP, G-PhytoP und G-NeuroP.

4.2.1.2. Umsetzung der bicyclischen G-Endoperoxid-Intermediate zu cyclischen PUFA-Derivaten

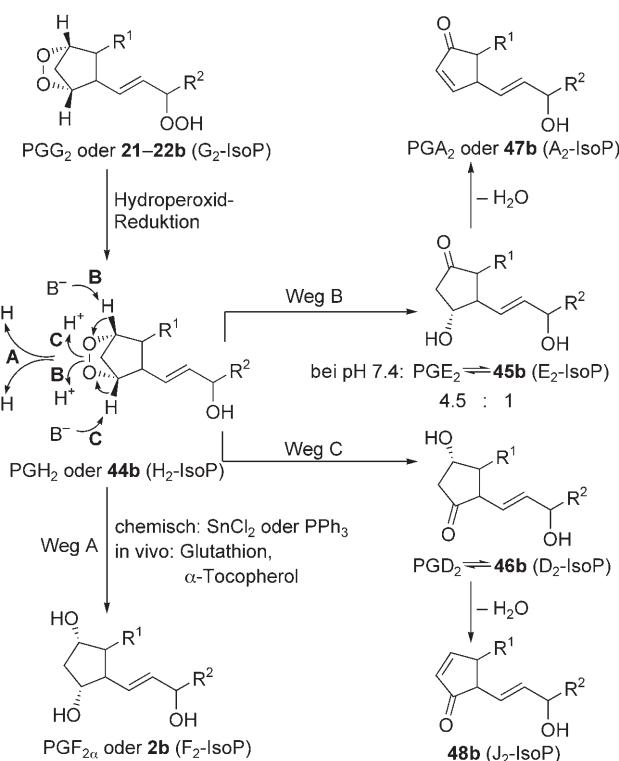
G-IsoP, -PhytoP und -NeuroP (**21a-d** und **22a-d**) haben zwei hochreaktive Peroxid-Gruppen, denen verschiedene Stabilisierungswege offenstehen. Hauptsächlich sind sie Reduktionen, Umlagerungen und Fragmentierungen zugänglich. Die Gegenwart von Reduktionsäquivalenten im umgebenden Gewebe ist entscheidend für das weitere Schicksal der bicyclischen G₁-PhytoP-, G₂-IsoP- und G₄-NeuroP-Intermediate.

4.2.1.2.1. Stabilisierung der bicyclischen G-IsoP in Gegenwart von Reduktionsmitteln – Bildung der Isoprostan, Neuroprostane, Phytoprostane, Isothromboxane und Isolevuglandine

4.2.1.2.1.1. Isoprostan

Die zentralen bicyclischen G₂-IsoP-Intermediate **21b/22b** haben zwei Peroxid-Reste. Die Hydroperoxid-Funktion wird normalerweise leichter reduziert; daher ist die Reduktion von G₂-IsoP (**21b/22b**) zu H₂-IsoP (**44b**) in Analogie zur PG-Biosynthese der Hauptweg der Isoprostan-Bildung. Die H₂-IsoP sind wiederum die zentralen Vorstufen für die meisten isolierbaren IsoP mit unterschiedlichem Ringsubstitutionsmuster (Schema 23).

Die Endoperoxid-Einheit in PGH₂ (und natürlich auch in **44b**) kann leicht durch Reagenzien wie SnCl₂ oder PPh₃ zu PGF_{2α} (und auch F₂-IsoP) reduziert werden (Weg A).^[57] Einige Schwefelverbindungen sind auch in der Lage, PGH₂ in Konkurrenz zur Umlagerung zu PGF_{2α} zu reduzieren.^[58] Im Lebergewebe von normalen Ratten sind die regioisomeren **2b** die hauptsächlich isolierbare IsoP-Klasse.^[43] Ihre Menge ist mehr als doppelt so groß wie die von E₂- und D₂-IsoP (**45b** bzw. **46b**) zusammen. Nach oxidativer Schädigung wachsen



Schema 23. Transformation von PGH₂ und H₂-IsoP (**44b**) zu Metaboliten mit verschiedenen Ringsubstitutionsmustern (der Übersichtlichkeit halber ohne Angabe der Konfiguration der Seitenketten).

die Werte von F₂-IsoP sogar noch stärker an. Bei einer Studie übertrafen sie die der gesunden Tiere 146fach, während die Mengen von E₂-/D₂-IsoP (**45b** und **46b**) nur 39fach anstiegen. Im Unterschied dazu wurde bei der In-vitro-Autoxidation von **1b** in Rattenlebermikrosomen ein (**45b** + **46b**)/**2b**-Verhältnis von mehr als 5:1 gefunden.^[59] Wenn zu den peroxydierenden Mikrosomen jedoch Reduktionsmittel wie Glutathion, Dithiothreitol oder Cystein gegeben werden, verringert sich das Verhältnis auf etwa 1.5:1. Antioxidantien wie α-Tocopherol sind auch in der Lage, H₂-IsoP (**44b**) auf Kosten von **45b** und **46b** zu **2b** zu reduzieren.^[42] Die Wirkungsweise von α-Tocopherol wurde über einen Einelektronentransfer auf die Endoperoxid-Brücke in H₂-IsoP (**44b**) erklärt. Diese Resultate zeigen, dass die reduktive Spaltung des Endoperoxids in **44b** zu **2b** in vivo nicht-enzymatisch vonstatten geht. Somit ist die Bildung von **2b** besonders in Gegenwart von relativ hohen Konzentrationen an Reduktionsmitteln sowie in der unpolaren Umgebung von Zellmembranen oder LDL, wo die für Umlagerungen notwendigen Konzentrationen von Säuren und Basen gering sind (siehe nächster Absatz), bevorzugt.

Bei geringeren Konzentrationen an Reduktionsmitteln und wenn sich **44b** in wässriger Umgebung befindet, herrscht die Umlagerung unter Öffnung des Endoperoxids zu E₂- und D₂-IsoP-Isomeren **45b** und **46b** vor (Wege B und C).^[43,60] Dieser Verlauf wird durch eine Reihe von Experimenten gestützt, die mit PGH₂ durchgeführt wurden. Da dieser Prozess unabhängig von der Konfiguration der Seitenkette sein sollte, ist er auch für die Bildung von **45b** und **46b** gültig.

Hamberg und Samuelsson beobachteten die spontane Umsetzung von PGH₂ zu PGE₂ bei dünnenschichtchromatographischen Untersuchungen oder in wässriger Lösung.^[57,61] Nugteren und Hazelhof wiesen die nicht-enzymatische Transformation von PGH₂ zu PGE₂ und PGD₂ in leicht saurer wässriger Lösung nach.^[58b] Nachfolgend wurde von Porter et al. über die spontane Umlagerung von isoliertem PGH₂ zu einem Gemisch aus PGE₂ und PGD₂ beim Stehenlassen in Gegenwart von Kieselgel berichtet.^[62] Eine allgemeine Säure-Base-Katalyse führte auch zur Bildung von PGD₂ oder PGE₂.^[63]

Es ist hier zu bemerken, dass 15-E₂- und 15-D₂-IsoP (15-**45b** bzw. 15-**46b**) in wässriger Lösung bei pH 7.4 zu einem 4.5:1-Gleichgewichtsgemisch mit den thermodynamisch stabileren, aber racemischen *rac*-PGD₂- sowie *rac*-PGE₂-Diastereomeren epimerisieren.^[64] Die in vivo gebildeten Mengen an *rac*-PGD₂ sowie *rac*-PGE₂ sind signifikant im Vergleich zu der des enzymatisch biosynthetisierten enantiomerenreinen PGE₂. Es gibt also wie bei PGF_{2α} einen COX-unabhängigen Bildungsweg zu biologisch potentem PGE₂, der in vivo mit in Betracht gezogen werden muss, wenn die biologischen Aktivitäten von PGE₂ unter oxidativem Stress studiert werden. Dieses Ergebnis zeigt auch, dass COX inhibierende Medikamente wie Aspirin die PGE₂-Bildung nicht völlig unterdrücken können.

Die Dehydratisierung von Membran-gebundenen E₂- und D₂-IsoP (**45b** bzw. **46b**) geht unter physiologischen Bedingungen leicht vonstatten und ergibt die Cyclopentenone A₂- bzw. J₂-IsoP (**47b** bzw. **48b**) in vitro und in vivo.^[65] Die in der Leber gesunder Ratten detektierte Menge an **47b** und **48b** betrug 5.1 ng g⁻¹, stieg aber nach oxidativer Schädigung des Gewebes 23.9fach an. Dieser Wert ist in guter Übereinstimmung mit dem 21.2fachen Anstieg der Mengen an **45b** und **46b**. Die Dehydratisierung kann in wässriger Lösung spontan bei fast neutralem pH-Wert^[64] geschehen oder durch Enzyme sowie Albumin katalysiert werden.^[66] Die A₂- und J₂-IsoP (**47b** bzw. **48b**) werden vorwiegend mit Phospholipiden verestert gefunden. 15-A₂-IsoP kommen besonders angereichert im Gehirn vor,^[67] wo ihr Basalwert den von F₂-IsoP 9fach übersteigt. Bei oxidativer Verletzung von Gehirngewebe wurde ein 12facher Anstieg der Mengen von **47b** und **48b** beobachtet, während die von F₂-IsoP nur auf das Doppelte anwuchs. Mit Phospholipiden veresterte **47b** und **48b** sind in vivo relativ stabil, freie **47b** und **48b** sind jedoch potente Michael-Akzeptoren und konjugieren sehr schnell mit biologischen Nucleophilen wie Proteinen und besonders Glutathion;^[65a,68] da-

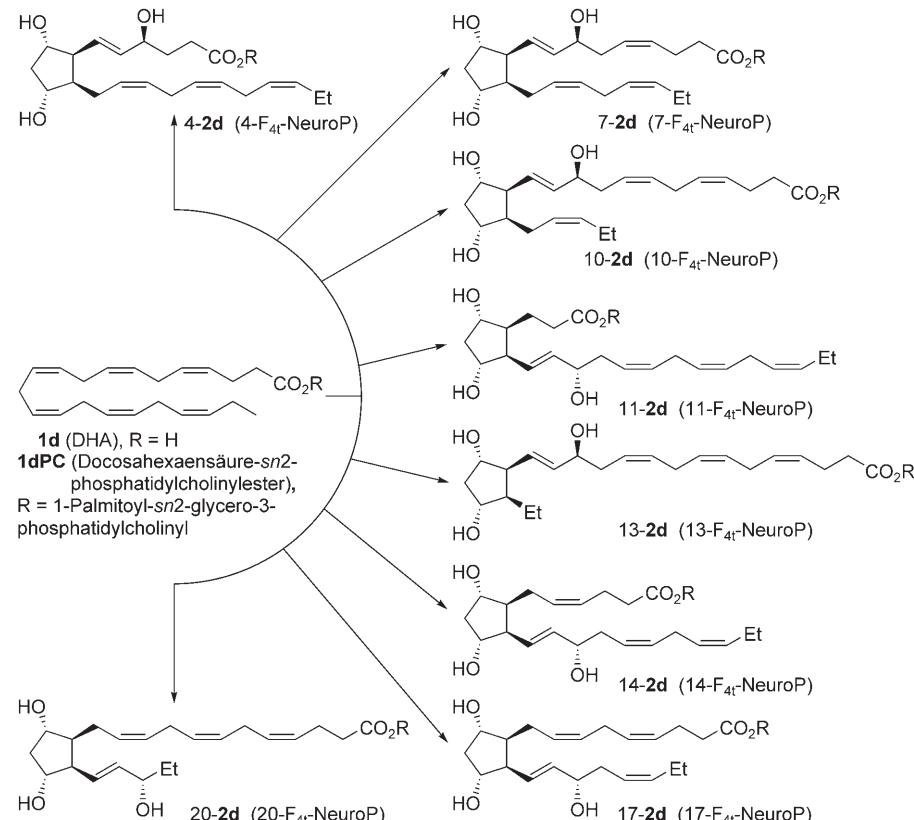
durch werden Reduktionsäquivalente dezimiert, und der oxidative Stress wird weiter verstärkt (siehe Abschnitt 6).

4.2.1.2.1.2. *Neuroprostane*

Die gemeinsame Vorstufe aller Neuroprostane ist Docosahexaensäure (DHA, **1d**), die besonders in der grauen Substanz des Gehirns gefunden wird. An der *sn*2-Position von Phospholipiden verestert vorkommend, macht **1dPC** 25–35 % der Gesamtfettsäuremenge in neuronalen Membranen aus. DHA ist essenziell für die normale Funktion und Entwicklung des Gehirns. Die Verminderung ihres Anteils durch oxidative Umsetzungen wird mit der Entstehung einer Reihe von neuronalen Störungen in Verbindung gebracht.

Die Autoxidation von **1d**-Derivaten verläuft ähnlich zu der von AA (**1b**) und führt zu NeuroP (**2d**; siehe Schema 10, 17 und 23), durch die größere Zahl von Bisallylpositionen bilden sich aber acht Klassen von F₄-NeuroP über eine Sequenz aus Radikalperoxidation, Bicyclisierung, Peroxygeierung und Reduktion (Schema 24).^[69]

Die Regioisomerenverteilung der NeuroP wurde durch Massenspektrometrie bestimmt.^[70] Die Regioselektivität der Sequenz aus Peroxidation und Cyclisierung ist nicht so ausgeprägt wie bei den IsoP. Die vorherrschenden Regioisomere sind 4- und 20-F₄-NeuroP (**4-2d** bzw. **20-2d**). Das Verhältnis der beiden Isomere im Vergleich zu allen anderen F₄-NeuroP-Isomeren beträgt jedoch nur etwa 3:1, während das Verhältnis der 5- und 15- sowie 8- und 12-Serien der F₂-IsoP zu etwa 10:1



Schema 24. Bildung der F₄-NeuroP (nur ein Diastereomer gezeigt). Die A₄-, D₄-, E₄- und J₄-NeuroP **45d**–**48d** wurden ebenfalls detektiert.

bestimmt wurde (siehe Abschnitt 4.2.1.1). Die Zuordnung der individuellen regioisomeren NeuroP erfolgte über Cyclisierungen der einzelnen DHA-abgeleiteten Hydroperoxide **11d** (nicht gezeigt, siehe Schema 18). Die in vivo detektierten Mengen an **2d** betrugen 19–33 ng g^{−1} humanes Gehirngewebe.^[71] Es wurde gefunden, dass Antioxidantien wie Glutathion, α -Tocopherol oder Ascorbat nur eine eingeschränkte Fähigkeit aufwiesen, die Bildung der NeuroP in Ratten-Synaptosomen zu unterdrücken.^[42]

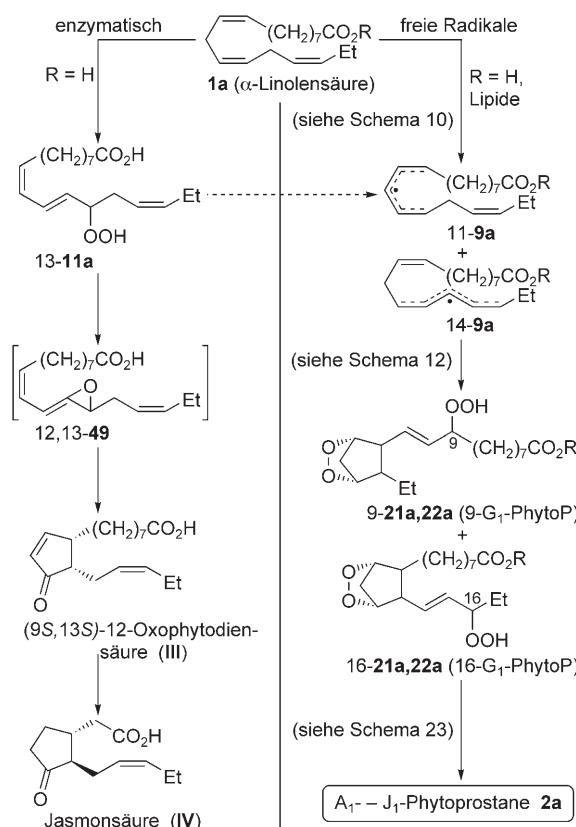
Die E₄- und D₄-NeuroP (**45d** bzw. **46d**) wurden in menschlichem Gehirngewebe in Mengen von 5–13 ng g^{−1} gefunden.^[71] Ähnlich wie die Isoprostane dehydratisieren sie leicht zu den Phospholipid-veresterten A₄- und J₄-NeuroP (**47d** bzw. **48d**; siehe Schema 23).^[72] Deren Menge von 98 ng g^{−1} menschliches Gehirngewebe übersteigt die Mengen an **2d**, **45d** sowie **46d** mindestens fünffach. Ebenso wie **47b** und **48b** addieren **47d** und **48d** auch schnell GSH und Proteine und vernichten so zelluläre Reduktionsäquivalente.

4.2.1.2.1.3. Phytoprostane

Algen und Pflanzen produzieren keine größeren Mengen von **1b**; **1c** und **1d** werden überhaupt nicht erzeugt. Dennoch wurden einige Prostaglandin-Isomere in Algen und pflanzlichem Material identifiziert, wenngleich in den meisten Fällen nicht sichergestellt ist, ob es sich dabei um PG- oder IsoP-Derivate handelt.^[73] Die einzige reichlich vorkommende, zu oxidativen Cyclisierungsreaktionen befähigte PUFA in Pflanzen ist α -Linolensäure (**1a**). Im Pflanzenreich wird **1a** daher extensiv für Signalzwecke genutzt (Schema 25).

Schon 1981 isolierten Bohlmann et al. enantiomerenreine Dehydrohydroxyphytoprostan-Metabolite **50–52** aus *Chromolaena*-Spezies als Gemische von Doppelbindungsisomeren und schlugen **1a** als ihre Biosynthesevorstufe vor (Schema 26).^[74] Es wurde dann eindeutig festgestellt, dass die enzymatische Cyclisierung von **1a** über das Allenoxid 12,13-**49** zu 12-Oxophytodienäure (**III**) und darauffolgend zu Jasmonsäure (**IV**) führt (Schema 25), zentrale Verbindungen für die Steuerung des Sekundärmetabolismus und der Verteidigung der Pflanzen.^[6a,75] Da Pflanzen auf Verwundung, Pathogen-Infektion und anderen biotischen und abiotischen Stress mit stark erhöhter Produktion von ROS reagieren, muss **1a** als ein wichtiges Mittel zur Verminderung der ROS durch Umsetzung zu sekundären Metaboliten betrachtet werden. Mueller und Parchmann isolierten 1998 cyclische LA-abgeleitete Metabolite, die eine E₂-IsoP-ähnliche Struktur hatten. Wegen ihrer pflanzlichen Herkunft wurden die Verbindungen als E₁-PhytoP (9- und 16-**45a**) bezeichnet.^[9] Als Bildungsweise der PhytoP wurde die von den IsoP bekannte Sequenz aus Wasserstoffabstraktion aus **1a** zu **9a**, Peroxidation, Bicyclisierung und einer zweiten Peroxygenierung zu den G₁-PhytoP-Isomeren **9-21a**/**9-22a** und **16-21a**/**16-22a** vorgeschlagen, die darauffolgend in die isolierbaren A₁- bis J₁-PhytoP umgewandelt werden.

Dieser Vorschlag wird eindeutig durch Autoxidationsexperimente mit α -Linolensäureestern bestätigt, aus denen Gemische von F₁-PhytoP sogar vor ihrer ersten Detektion in Pflanzen isoliert und charakterisiert wurden (siehe Sche-

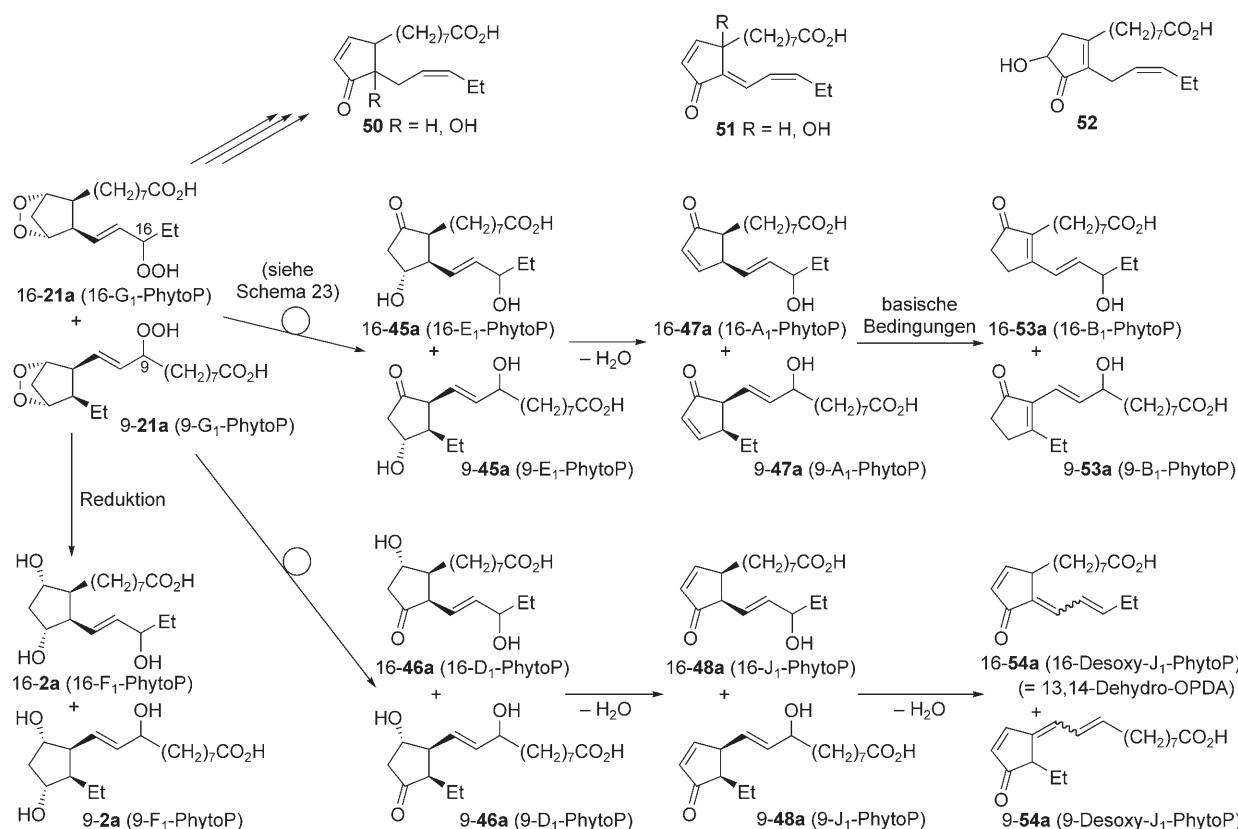


Schema 25. Enzymatische und radikalische Transformation von LA (**1a**) zu cyclischen Metaboliten in Pflanzen.

ma 12).^[39b,c,41] Die Gegenwart einer Lipoxygenase zur Katalyse der einleitenden Wasserstoffabstraktion erwies sich als hilfreich zur Bildung der E₁-PhytoP (**45a**). Zwei Regioisomere, 9-E₁-PhytoP (**9-45a**) sowie 16-E₁-PhytoP (**16-45a**), wurden aus verschiedenen Pflanzenarten als freie Säuren in einem ungefähr 1:1-Verhältnis in Mengen von 4–61 ng g^{−1} Trockengewicht isoliert (Schema 26).

Die E₁-PhytoP **9-45a** und **16-45a** neigen in vivo zu schneller Dehydratisierung und bilden fast gleiche Mengen von 9- und 16-A₁-PhytoP (**9-47a** bzw. **16-47a**). Unter basischen Bedingungen erfahren diese eine leicht ablaufende Doppelbindungsomerisierung zu den thermodynamisch stabileren 9- und 16-B₁-PhytoP (**9-53a** bzw. **16-53a**).^[76] Die summierten Mengen von **47a** und **53a** wurden in Blättern verschiedener Pflanzenarten zu 11–131 ng g^{−1} Trockengewicht bestimmt. Nach der Infektion von Blättern mit Pathogenen oder ihrer Verwundung stiegen die detektierten Mengen von **47a** und **53a** beträchtlich an.

Außerdem **45a** wurden die entsprechenden freien F₁-PhytoP **9-2a** und **16-2a** aus frischem Pflanzenmaterial taxonomisch verschiedener Spezies sowie aus Pflanzenorganen in Mengen von 43–1380 ng g^{−1} Trockengewicht isoliert.^[77] Beim Trocknen und Lagern des Pflanzenmaterials stiegen die isolierten Mengen der F₁-PhytoP auf 3223–20010 ng g^{−1} Trockengewicht an, ohne dass sich die Zusammensetzung ihrer Regio- und Stereoisomeren dabei änderte. Dies stützt auch die oxidative Bildung der Metabolite. Interessanterweise ist die Konzentration von **9-2a** und **16-2a** in frischem Pflanzenma-



Schema 26. Bildung der Hauptklassen der PhytoP (nur ein Diastereomer gezeigt).

terial um mehr als zwei Größenordnungen höher als die von F_2 -IsoP in tierischem Gewebe. Ähnlich zu den IsoP waren viel größere Mengen von F_1 -PhytoP verestert in Pflanzenmembranen als in freier Form vorhanden.^[77] Beispielsweise wurden 76 ng g⁻¹ Trockengewicht freies **2a** aus einem frischen Pfefferminzblatt isoliert, während in demselben Blatt 11240 ng g⁻¹ des veresterten **2aPC** vorkamen. Bei Verwundung des frischen Blattes stieg die Menge an freiem **2a** auf ein Maximum von 192 ng g⁻¹ Trockengewicht nach einer Stunde an.^[78] Die Mengen der veresterten E_1 -PhytoP **9-45a** und **16-45a** waren 86fach geringer als die der F_1 -PhytoP **9-2a** und **16-2a**. Dies stützt die Annahme, dass **2a** bevorzugt durch Reduktion von H_1 -PhytoP (**44a**) in der hydrophoben Umgebung der Membran gebildet wird, während wässriges Milieu für die Umlagerung von **44a** zu den E_1 -PhytoP **9-45a** und **16-45a** notwendig ist (siehe Abschnitt 4.2.1.2.1.1).^[78]

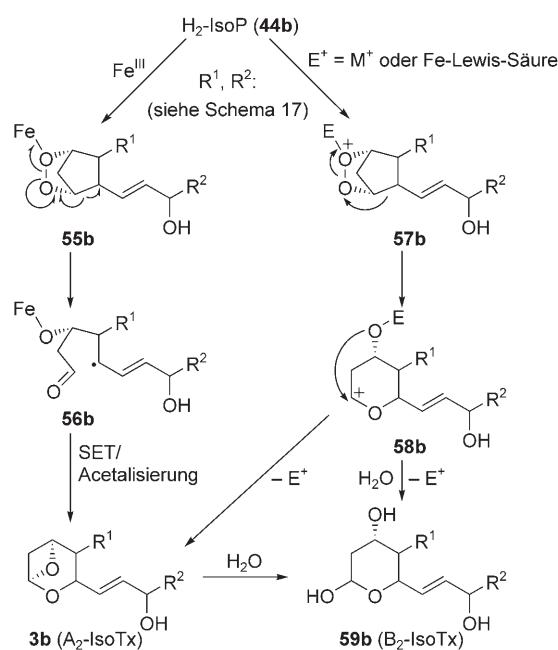
Die D_1 -PhytoP **9-46a** und **16-46a** galten in Pflanzen lange als nicht vorhanden. Da aber die nicht-enzymatische Umlagerung von H_2 -IsoP (**44b**) stets zu Gemischen von E_2 - und D_2 -IsoP (**45b** bzw. **46b**) führt (siehe Abschnitt 4.2.1.2.1.1), war es eher wahrscheinlich, dass **9-46a** und **16-46a** in Pflanzen zwar gebildet werden, aber für eine Detektion zu schnell metabolisieren. Diese Annahme wird durch die Isolierung der Naturstoffe **50–52** und von 13,14-Dehydro-12-oxophytodien-säure (**16-54a**) gestützt, die sich biogenetisch auf $16-J_1$ -PhytoP (**16-48a**) und so auch auf **16-46a** zurückführen lassen. 2003 konnten Mueller und Mitarbeiter die Desoxy- J_1 -PhytoP **9-54a** und **16-54a** als ein Regio- und Stereoisomerengemisch aus Pflanzenmaterial isolieren.^[79] Dies gelang durch Konju-

gation mit dem fluoreszierenden 7-Mercapto-4-methylcumarin mithilfe einer Michael-Addition. Mit dieser Technik wurden die Mengen von **9-54a** und **16-54a**, die von 9- und $16-J_1$ -PhytoP abgeleitet sind, zu 1074–2413 bzw. 294–932 ng g⁻¹ Trockengewicht bestimmt. Darüber hinaus gelang auch die Identifizierung der D_1 -PhytoP **9-46a** und **16-46a**. Deren Menge betrug 840–6234 ng g⁻¹ Trockengewicht. Zudem übertraf die Menge des autoxidativ gebildeten Desoxy- J_1 -PhytoP **54a** die der enzymatisch biosynthetisierten OPDA (**III**) beträchtlich.

4.2.1.2.2. Stabilisierung der H_2 -IsoP durch Umlagerungen unter Beteiligung des Cyclopentanrings

4.2.1.2.2.1. Isothromboxane (IsoTx)

Thromboxane (Tx A_2 und Tx B_2 ; **II**) werden enzymatisch durch eine Umlagerung, an der sowohl die Endoperoxid-Einheit als auch der Cyclopentanring beteiligt sind, aus PGH₂ erzeugt. Hecker und Ullrich demonstrierten, dass dieser Prozess, wenn auch nur in geringen Ausbeuten und nur in Gegenwart von Porphyrineisen(III)-Komplexen in wässriger Lösung, nicht-enzymatisch ablaufen kann (Schema 27).^[80] Sie führten die Wirkung des Eisenkomplexes darauf zurück, dass er in der Lage ist, das Endoperoxid zum Addukt **55b** zu koordinieren und es in einer Einelektronenübertragung zu reduzieren. Dies löst eine Radikalfragmentierung zu **56b** aus. SET-Oxidation des Allylradikals zum Carbokation und Re-cyclisierung führen letztlich zu Tx A_2 (**II**).



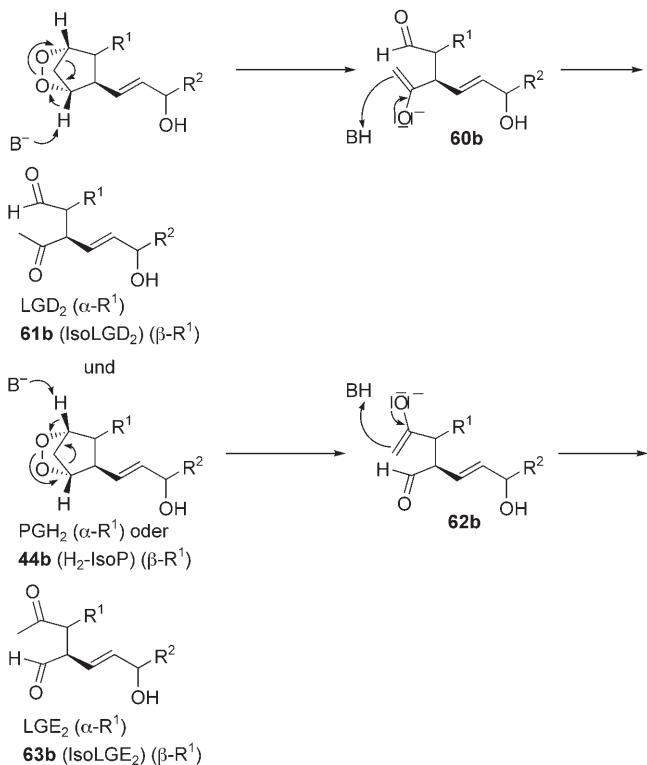
Schema 27. Mögliche Bildungsweisen der Isothromboxane **3b** und **59b**.

Morrow et al. untersuchten, ob sich die zu TxA_2 diastereomeren $\text{A}_2\text{-IsoTx}$ (**3b**) in vitro und in vivo auf einem ähnlichen Weg bilden.^[81] $\text{A}_2\text{-IsoTx}$ (**3b**) konnte wegen seiner hohen Instabilität bisher weder in vitro noch in vivo gefunden werden. $\text{B}_2\text{-IsoTx}$ (**59b**) waren in vivo unter Normalbedingungen in Plasma ebenfalls nicht detektierbar, aber geringe Mengen an **59b** wurden in Lipidextrakten identifiziert. Nach CCl_4 -induzierter oxidativer Gewebeschädigung stiegen die in vivo gemessenen Mengen auf 102 ng g^{-1} Lipidextrakt oder 185 pg mL^{-1} Plasma an. $\text{B}_2\text{-IsoTx}$ (**59b**) wurde als ein Gemisch von Regio- und Stereoisomeren detektiert. Gesonderte Experimente ergaben, dass die $\text{B}_2\text{-IsoTx}$ (**59b**) fast ausschließlich aus in Membranen veresteter AA (**1b**) gebildet werden, von wo sie erst nachfolgend ins Plasma gelangen. Die in vitro durch das Fe/Adenosindiphosphat/Ascorbat-System initiierte AA-Autoxidation führte auch zur Bildung von **59b**. Dies zeigte, dass komplexiertes Eisen für die Umlagerung von $\text{H}_2\text{-IsoP}$ (**44b**) zu **59b** nicht zwingend notwendig ist und dass die Ringerweiterung wahrscheinlich entweder Radikal-vermittelt oder kationisch verlaufen kann. Der zweite Weg verläuft über die Koordination eines Elektrophils oder einer Lewis-Säure wie Fe^{3+} an **44b**. Das so aktivierte Endoperoxid **57b** geht eine konzertierte 1,2-Umlagerung zum stabilisierten sechsgliedrigen Carbeniumion **58b** ein.^[82] Aus diesem Intermediat kann sich $\text{B}_2\text{-IsoTx}$ (**59b**) entweder über $\text{A}_2\text{-IsoTx}$ (**3b**) oder durch direkte Hydrolyse bilden. Zur detaillierten Aufklärung der Bildungsweise von **59b** aus **44b** ist noch viel Arbeit zu leisten.

4.2.1.2.2.2. Isolevuglandine (Isoketale) und Neuroketale

Es ist lange bekannt, dass nur ein Teil der AA-Metabolite in Isoprostanoiden transformiert wird. Ein Teil des PGH_2 und

wahrscheinlich auch des $15\text{-H}_2\text{-IsoP}$ fragmentiert zu acyclischen Produkten wie 12-Hydroxyheptadecatriensäure (**6b**) und MDA (**7**).^[14] Eine weitere beträchtliche Fraktion modifizierter AA-Einheiten wurde an Proteine und DNA konjugiert gefunden.^[17b, 83] Frühe Studien von Salomon und Mitarbeitern zeigten, dass sich einfache Dioxabicyclo[2.2.1]heptane in wässriger Lösung oder organischen Lösungsmitteln spontan zu hochreaktiven γ -Ketoaldehyden umlagerten. Auch PGH_2 erfuhr diese Umlagerung zu $\text{C}_{20}\text{-}\gamma$ -Ketoaldehyden, die als Levuglandine (LG) LGD_2 und LGE_2 bezeichnet wurden (Schema 28).^[84] Sie bilden sich in Konkurrenz zu

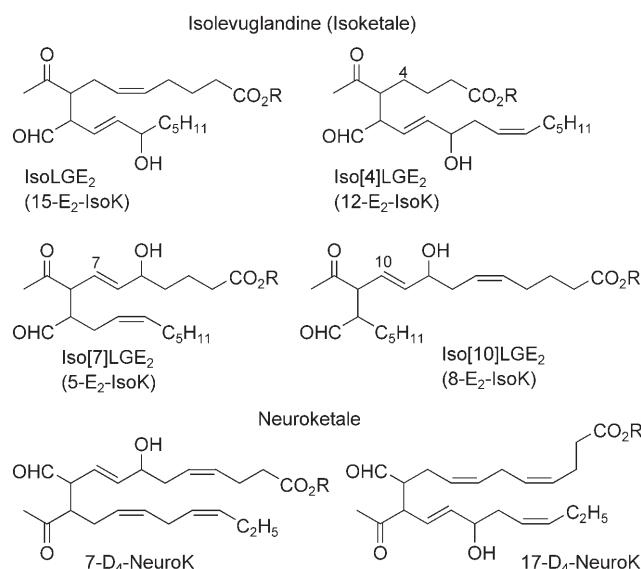


Schema 28. Umlagerung von PGH_2 oder $\text{H}_2\text{-IsoP}$ (**44b**) zu LG bzw. IsoLG **61b** oder **63b**.

PGD_2 und PGE_2 und in größerer Menge als diese.^[63] Das Verhältnis von LGD_2/E_2 zu PGD_2/E_2 ist abhängig von der Polarität des Mediums: Je unpolarer es ist, umso mehr LG bilden sich. Die Umlagerung wird durch Basen wie Acetat oder Imidazol katalysiert; somit sind natürlich auch Proteine in der Lage, in vivo als Katalysatoren zur Bildung sowohl der LG als auch der IsoLG **61b** und **63b** aus PGH_2 oder **44b** zu fungieren.

Primäre und sekundäre kinetische Isotopeneffekte deuten auf einen durch Deprotonierung und Protonierung bestimmten Mechanismus für die Umlagerung von **44b** hin, in dem die Deprotonierung eines Brückenkopfprotons die konzertierte C-C- und O-O-Bindungsspaltung sowohl des Endoperoxids als auch des Cyclopentanrings auslöst. Die resultierenden Ketonenolate **60b** und **62b** werden darauf folgend zu den LG oder IsoLG **61b** und **63b** protoniert. Die Selektivität der Bildung von entweder $\text{E}_2/\text{D}_2\text{-IsoP}$ (**45b/46b**) oder IsoLGD $_2/\text{E}_2$ (**61b/63b**) wird durch den pH-Wert des

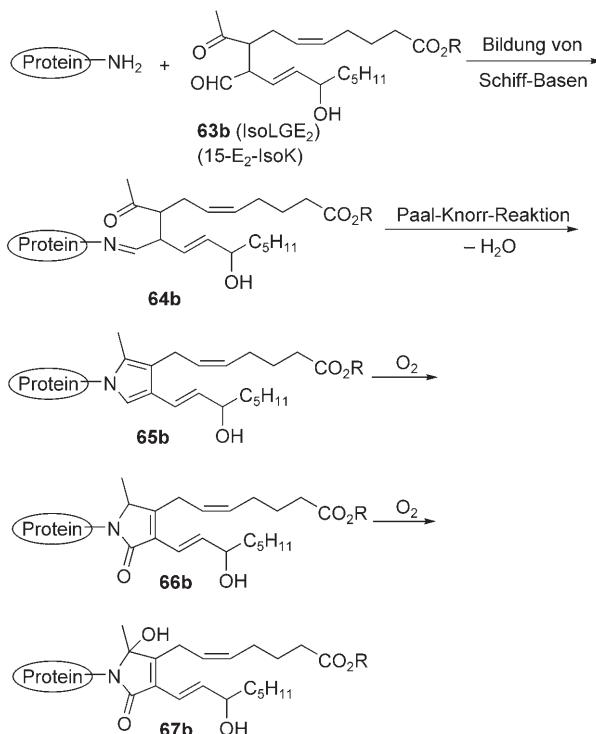
Mediums bestimmt: Saure Cokatalysatoren lenken die Umlagerung von **44b** zu **45b/46b** hin (siehe Schema 23), während **61b/63b** die bevorzugten Produkte unter basischen Bedingungen sind. In detaillierteren Untersuchungen wurde aufgedeckt, dass sowohl Membran- als auch LDL-gebundene **1b** als Vorstufe für **61b/63b** wirken kann.^[17a] Es gibt auch Hinweise, dass die Entstehung der IsoLG durch Enzyme wie Myeloperoxidase ausgelöst wird.^[27] Da sich **61b/63b** auch von **44b** ableiten lassen, gibt es vier Serien von racemischen Regio- und Stereoisomeren (Schema 29).



Schema 29. Regiosomere IsoLGE₂ (**63b**; in den IsoLGD₂-Isomeren **61b** sind die Positionen der Aldehyd- und Acetyl-Gruppen vertauscht [nicht gezeigt]) und Neuroketale (**5d**; nur zwei Vertreter der D₄-Serie gezeigt).

Die 4-Oxoaldehyd-Einheit in **61b/63b** zeigt eine hohe Reaktivität gegen Amin-Funktionen einfacher Puffer wie Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)^[83a] sowie gegen Phosphatidylethanolamin^[85] oder Lysin-Gruppen in LDL^[86] und Proteinen. Zuerst werden Schiff-Basen **64b** gebildet, die über eine Paal-Knorr-Kondensation zu den Pyrrolen **65b** cyclisieren (Schema 30). Diese elektronenreichen Heterocyclen sind empfindlich gegen weitere Oxidations schritte zu den 5H-Pyrrol-2-onen (Lactam-Addukten) **66b** und 5-Hydroxy-5H-pyrrol-2-onen (Hydroxylactam-Addukten) **67b**.^[87]

Die Anbindung der IsoLG **61b** und **63b** an Plasmaproteine oder sogar Membranproteine kann nur nach Freisetzung durch Hydrolyse mithilfe von Phospholipase A₂ (PLA₂) erfolgen. Die Menge an IsoLG-Proteinkonjugaten **65b–67b** in Plasma ist um ungefähr eine Größenordnung größer als die der IsoP (**2b**). Iso[7]LGD₂-abgeleitete Proteinkonjugate werden in Blut am häufigsten gefunden;^[88] diese Addukte stören die normale Proteinfunktion oft ernstlich.^[17b] Bemerkenswerterweise sind die IsoLG-Proteinaddukte **65b–67b** auch relativ beständig gegen den Proteinabbau durch das 20S-Proteasom, wodurch die Ausscheidung der IsoLG-Einheiten verzögert wird.^[89] Es ist anzumerken, dass LG und IsoLG die gleichen Proteinkonjugate bilden. Die tatsächliche Vorstufe



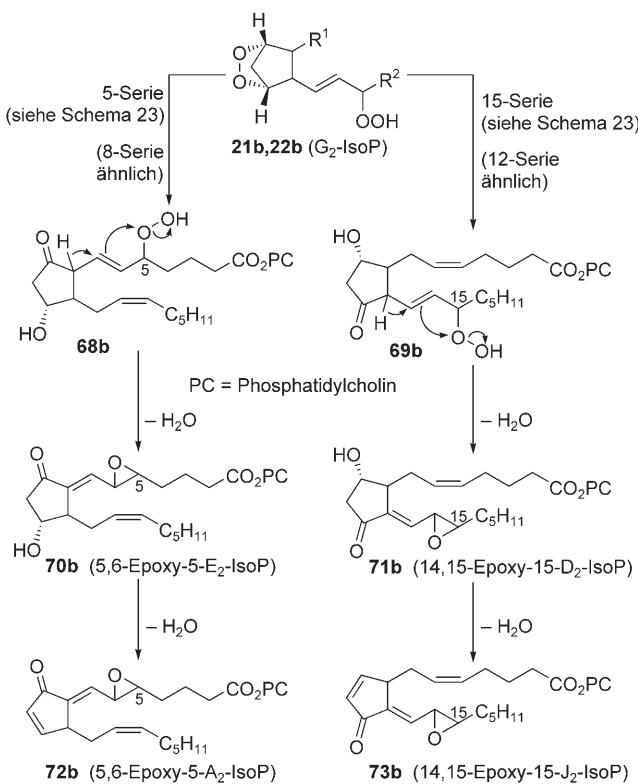
Schema 30. Protein-Addukte ausgehend von den IsoLG **61b/63b** (nur eines der möglichen Regio- und Stereoisomere gezeigt).

kann durch Analyse der Konfiguration der Hydroxy-Gruppe der Seitenkette und/oder durch die Gegenwart der IsoLG als Regio- und Stereoisomeren gemisch bestimmt werden (siehe Schema 29). In Abwesenheit von Aminen bei pH 7.8 sind die LG anfällig gegen die Dehydratisierung zu Anhydrolevuglandinen.^[90] Auch IsoLG sollten solche Produkte bilden, was allerdings bisher nicht gründlich geprüft wurde.

Neuroketale (NeuroK, **5d**) und ihre Proteinaddukte wurden durch In-vitro-Autoxidation von DHA (**1d**) in Rattenhirn-Synaptosomen, initiiert durch das Fe/Adenosindiphosphat/Ascorbat-System, erzeugt (siehe Schemata 28 und 29).^[18] Auf Basis dieser Untersuchung gelang die Detektion NeuroK-abgeleiteter Proteinaddukte auch in vivo im Gehirn normal verstorbener Patienten in Mengen von 9.9 ng g⁻¹ Gehirngewebe. Die Neuroketale **5d** sind in vitro und in vivo noch reaktiver als die IsoLG **61b/63b**. Zudem können einige der G₄-NeuroP-Diastereomere Peroxidationen an weiteren Bisallylpositionen zu Bis(hydroperoxiden) eingehen, die in Diole transformiert werden, bevor sie über den IsoLG-Weg mit Proteinen im Gehirngewebe konjugieren. Alternativ kann auch eine weitere Peroxidation der Protein-gebundenen Lactame stattfinden.^[91]

4.2.1.2.3. Reaktion von G₂-IsoP in Abwesenheit von Reduktionsmitteln zu Epoxyisoprostanen

Phospholipid-gebundene Epoxy-D₂-, Epoxy-E₂-, Epoxy-A₂- und Epoxy-J₂-IsoP (**70b**, **71b**, **72b** bzw. **73b**) kommen in mild oxidiertem LDL vor, und es wurde gezeigt, dass **71b** die Bindung von Monozyten am Endothel effizient induziert (Schema 31).^[92] Epoxy-F₂-IsoP sind dagegen in vivo nie ge-

Schema 31. Bildung von Epoxy-IsoP aus den G₂-IsoP 21b und 22b.

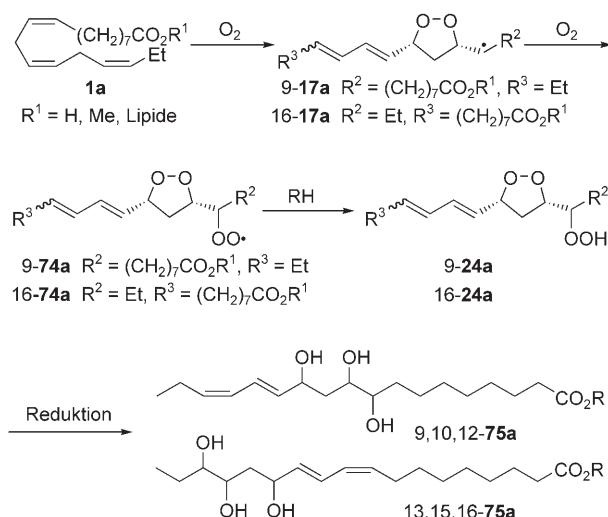
funden wurden. Die Bildungsweise der Epoxy-IsoP 70b–73b ist daher am besten durch die Annahme erklärbar, dass keine der beiden Peroxid-Funktionen in den G₂-IsoP 21b und 22b reduziert werden kann. Damit bleibt die Endoperoxid-Umlagerung zu Hydroperoxy-E₂-IsoP (68b) bzw. Hydroperoxy-D₂-IsoP (69b) der einzige mögliche Weg zur Bildung stabiler Verbindungen. Die Acidität des α -Keto-Wasserstoffatoms und die Hydroperoxid-Funktion in 68b und 69b ermöglichen eine einzigartige 1,5-Dehydratisierung unter gleichzeitiger Bildung der Epoxid-Einheit zu Epoxy-E₂-IsoP (70b) bzw. Epoxy-D₂-IsoP (71b).

Diese Sequenz aus Umlagerung und Dehydratisierung erklärt auch den Fakt, dass im Unterschied zur normalen IsoP-Erzeugung (siehe Abschnitt 4.2.1.1) nur ein begrenztes Produktspektrum hinsichtlich der regioisomeren 5-, 8-, 12- und 15-Serien resultiert. Genauer gesagt, lagern sich 5- und 8-G₂-IsoP (5-21b, 5-22b und 8-21b, 8-22b) ausschließlich zu den Epoxy-E₂-IsoP (70b) um, während 12- und 15-G₂-IsoP (12-21b, 12-22b und 15-21b, 15-22b) nur zu Epoxy-D₂-IsoP (71b) führen.^[93] Die Epoxy-IsoP 70b und 71b dehydratisieren spontan zu Epoxy-A₂- oder Epoxy-J₂-IsoP (72b bzw. 73b).

4.2.2. Autoxidativer Metabolismus von PUFA bei erhöhter Sauerstoff-Konzentration – 1,2-Dioxolane und Isofurane

Alle bisher diskutierten Radikal-abgeleiteten cyclischen PUFA-Metabolite wurden bei geringer oder normaler Konzentration an Sauerstoff gebildet. Durch seinen Diradikal-Charakter und die damit einhergehende hohe Reaktivität

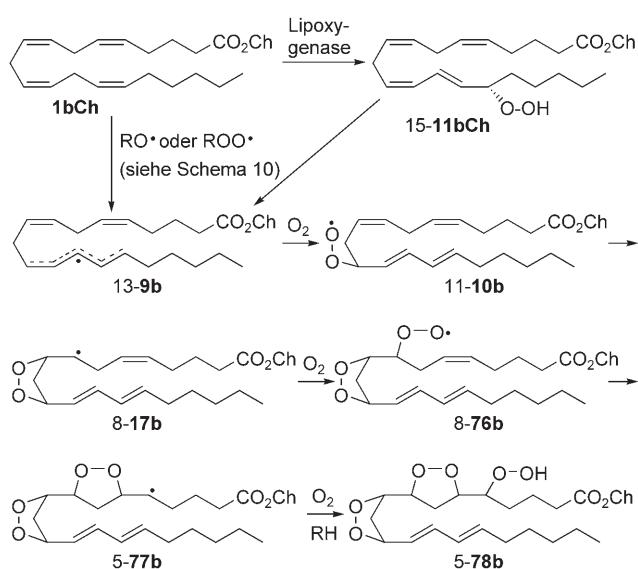
gegen Kohlenstoff-zentrierte Radikale sollte Sauerstoff das Schicksal von PUFA entscheidend beeinflussen; daher kann ein völlig anderes Produktspektrum resultieren, wenn die Sauerstoff-Konzentration in Geweben ansteigt. Dies wurde experimentell an freier oder veresterter LA (**1a**) oder ihren Hydroperoxiden **11a** veranschaulicht. Sie gingen unter einer Atmosphäre reinen Sauerstoffs wie gewohnt Wasserstoffabstraktion, Peroxidation und 5-exo-Radikalcyclisierung zu den 1,2-Dioxolanylcarbinyll-Radikalen **17a** ein, die nun aber bevorzugt durch Sauerstoff zu den 1,2-Dioxolanylperoxyll-Radikalen **74a** abgefangen wurden und letztlich monocyclische Hydroperoxyendoperoxide **24a** als Hauptprodukte ergaben (Schema 32).^[41,94] Phytoprostane wurden nur in geringer

Schema 32. Peroxidation von LA-Derivaten in einer O₂-Atmosphäre.

Menge oder gar nicht detektiert. Die Hydroperoxyendoperoxide **24a** wurden in vitro^[94d,95] und in vivo^[78] zu den als Diastereomerengemischen vorkommenden Trihydroxyoctadiensäuren 9,10,12-**75a** und 13,15,16-**75a** reduziert.

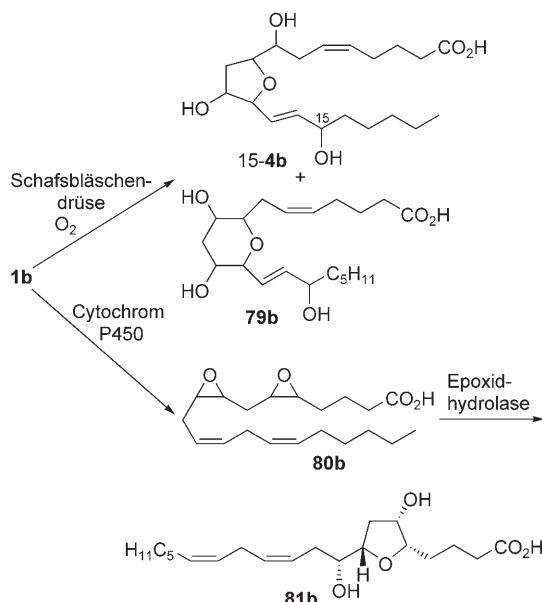
Sowohl Arachidonsäurecholesterylester (**1bCh**) als auch die HPETE 15-**11bCh** können als Vorstufen für die Initiierung serieller Peroxyl-Radikalcyclisierungen bei hohen Sauerstoff-Konzentrationen zu 1,2-Dioxolan-haltigen PUFA 5-**78b** dienen (Schema 33).^[29b,94a,96] Durch Methylenblau-sensibilisierte Photooxidation von Linolensäuremethylester wurden in vitro ähnliche serielle 1,2-Dioxolane erhalten.^[97]

Pace-Asciak et al. berichteten 1970 über die Isolierung des ersten AA-abgeleiteten Isofurans 15-**4b** sowie eines verwandten Tetrahydropyrans **79b** in einer Sauerstoff-Atmosphäre^[98a] und versuchten deren Bildung entweder enzymatisch oder autoxidativ aus Membran-gebundenem **1b** zu erklären (Schema 34).^[98b] Moghaddam und Mitarbeiter publizierten dagegen die Isolierung von Tetrahydrofuranodien **81b** durch enzymatische Diepoxidierung/Epoxid-Hydrolyse von **1b** mit Cytochrom-P450 und Epoxidhydrolase-Enzymen in Mausleber-Mikrosomen.^[99] Die Strukturen der enzymatisch gebildeten THF-Diole **81b** unterscheiden sich von autoxidativ erzeugtem 15-**4b** durch eine Hydroxy-Gruppe.



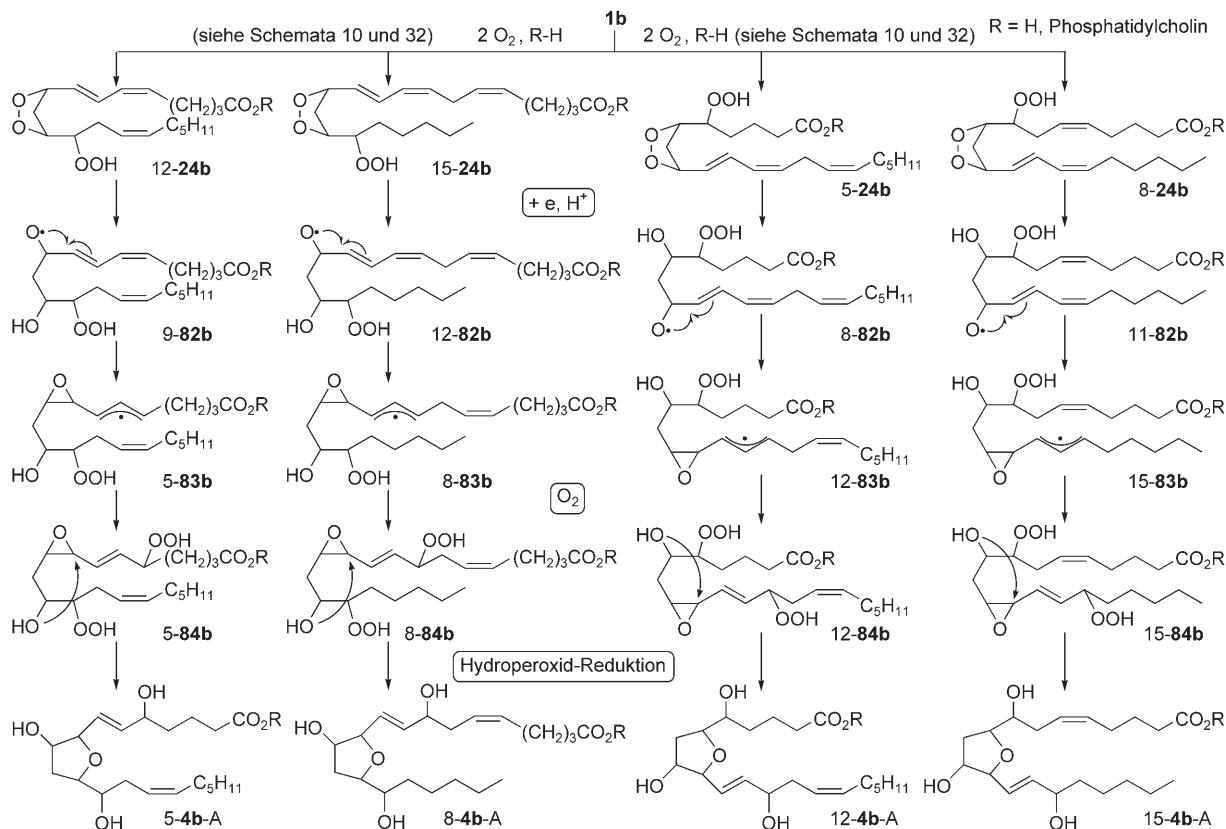
Schema 33. AA und 15-HPETE in seriellen Peroxyl-Radikalcyclisierungen zu den Dioxolonen 5-78b.

2002 wurde die Abhängigkeit der IsoP-Bildung vom Sauerstoff-Partialdruck systematisch untersucht. Die Studie ergab, dass sich *in vitro* nur ein Teil der AA (**1b**) zu IsoP (**2b**) umsetzt (siehe Schemata 11, 17 und 23). Daneben wurden signifikante Mengen einer neuen Klasse von oxidativen AA-Metaboliten – Isofurane (IsoF, **4b**) genannt – isoliert (Schemata 35 und 36).^[100a] Das Verhältnis von **4b** zu **2b** bei der *in vitro*-Autoxidation von **1b** betrug 5.6:1. Das **4b/2b**-Verhältnis



Schema 34. Bildung der Sauerstoff-Heterocyclen 15-4b und 79b bzw. 81b durch autoxidative bzw. enzymatische Cyclisierungen (nur ein re-gioisomeres Produkt für den enzymatischen Prozess gezeigt).

erwies sich aber als stark von der Sauerstoff-Konzentration abhängig. Mit steigendem Sauerstoff-Partialdruck nahmen *in vitro* zuerst *c*(**2b**) und *c*(**4b**) zu, bei über 21 % ansteigendem Sauerstoff-Anteil zeigte *c*(**2b**) einen Plateaueffekt, während *c*(**4b**) mit steigendem Sauerstoff-Partialdruck weiter wuchs.



Schema 35. Bildung von Alkenyl-IsoF (4b-A) durch reduktive Endoperoxid-Spaltung von 24b, 3-exo-Cyclisierung und Epoxid-Ringöffnung von 84b.

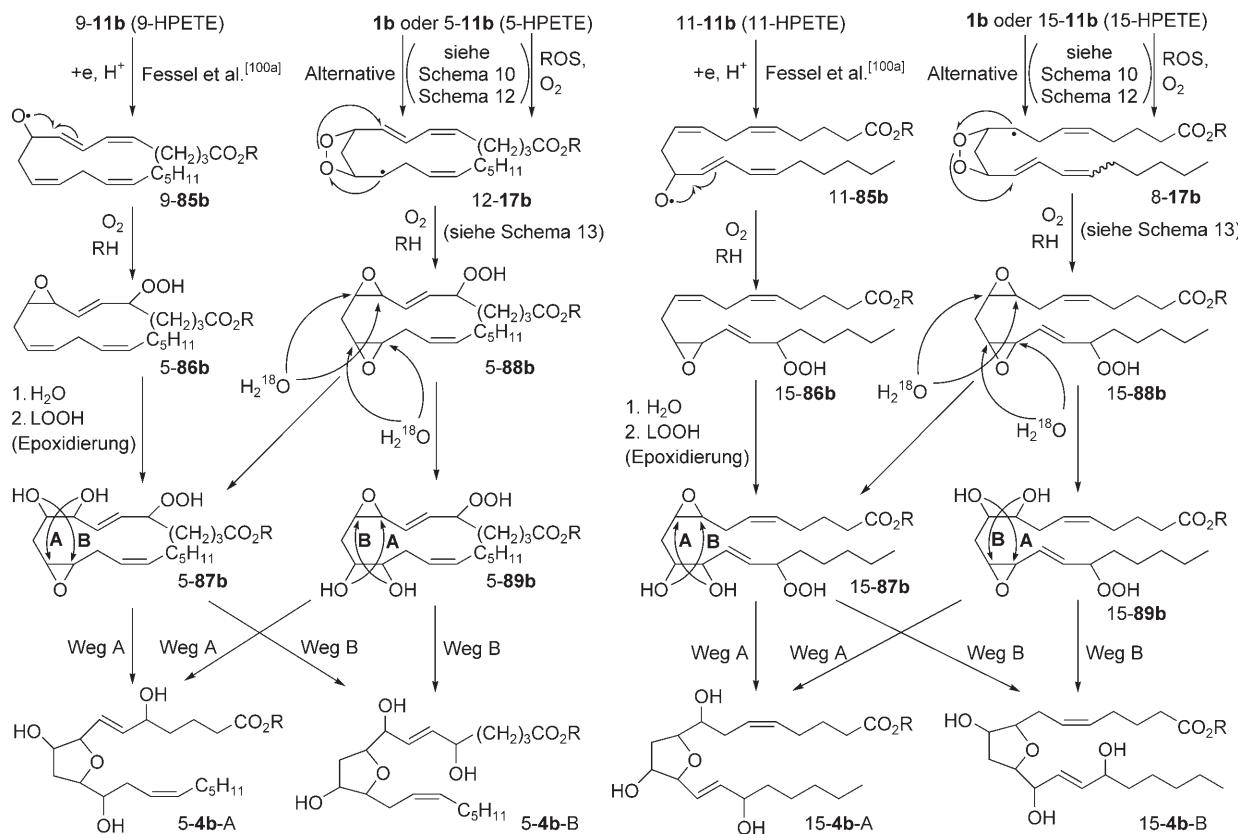
4b kommen in vivo unter Normalbedingungen in allen Körperflüssigkeiten und Organen vor. Die detektierten Mengen waren jedoch sehr stark von der natürlichen Sauerstoff-Konzentration in den jeweiligen Organen abhängig. In der Leber betrug das **4b/2b**-Verhältnis 0.15:1, während es sich in den Nieren zu 2.3:1 umkehrte. Im Falle von Hyperoxie in einer Atmosphäre reinen Sauerstoffs wurde in der Lunge ein fünffacher Anstieg von *c*(**4b**) detektiert, während sich *c*(**2b**) nicht änderte.

Auf der Grundlage von $^{18}\text{O}_2$ - und H_2^{18}O -Einbaustudien wurden zwei konkurrierende fundamentale Bildungswege für die IsoF vorgeschlagen. In einem Teil der IsoF, die Alkenyl-IsoF (**4b**-A), werden drei $^{18}\text{O}_2$ -Moleküle eingebaut. Dies kann durch die anfängliche Bildung von Hydroperoxy-1,2-dioxolanen **24b** durch Sauerstoff-Absfang der Dioxolanylcarbonyl-Radikale **17b** (siehe Schema 33) erklärt werden. Die folgende Einelektronenreduktion der Peroxid-Brücke führt zum Alkoxy-Radikal **82b**, das in einer 3-*exo*-Cyclisierung mit der konjugierten Dien-Einheit reagiert (Schema 35). Die resultierenden Epoxyallyl-Radikale **83b** rekombinieren dann mit dem dritten Molekül Sauerstoff zu den Dihydroperoxyepoxiden **84b**. Diese sind einer regioselektiven intramolekularen nucleophilen Ringöffnung durch die Hydroxy-Gruppe zugänglich. Letztlich ergibt die Reduktion der Hydroperoxide die vier regiosomeren Alkenyl-IsoF-Klassen **4b**-A als Diastereomerengemische. Die Bildung aller Diastereomere ist nicht unerwartet, da keiner der Reaktionsschritte hochdiastereoselektiv verlaufen sollte. Zusätzlich wird die Isomerenzahl dadurch erhöht, dass auch HPETE als Vorstufen fungieren können (siehe Abschnitt 4.2.1.1 und

Schema 18). Die Reihenfolge mancher Schritte mag sich von dem gezeigten Mechanismus unterscheiden, die Produktverteilung ändert sich dadurch aber nicht.

In den anderen Teil der IsoF, zu dem alle Endiol-IsoF (**4b**-B) und ein Teil der Alkenyl-IsoF (**4b**-A) gehören, wurden zwei Sauerstoff-Moleküle und ein H_2^{18}O -Molekül eingebaut. Auf dieser Grundlage schlugen Fessel und Mitarbeiter einen Mechanismus vor, bei dem zunächst eine SET-Reduktion der HPETE (**11b**) zu den Alkoxy-Radikalen **9-85b** oder **11-85b** stattfindet. Diese gehen eine 3-*exo*-Cyclisierung mit der benachbarten Dien-Einheit ein (Schema 36). Solche Prozesse wurden zur Erklärung der Bildung von Nebenprodukten der Autoxidation von Linolenat-abgeleiteten Hydroperoxiden vorgeschlagen.^[94c] Die Peroxygenierung der resultierenden Epoxyallyl-Radikale ergibt die Epoxyhydroperoxide **5-86b** bzw. **15-86b**. Die Epoxide **86b** werden zu Diolen hydrolysiert, die nachfolgend durch andere Hydroperoxide (HPETE) in Gegenwart von Mn^{II} -Ionen einer Epoxidierung zu den Epoxidiolen **5-87b** und **15-87b** unterliegen. Diese reagieren auf Weg A durch intramolekulare nucleophile Ringöffnung des Epoxids zu den Alkenyl-IsoF **5-4b-A** und **15-4b-A**. Die Endiol-IsoF **5-4b-B** und **15-4b-B** bilden sich auf dem Weg B durch Ringöffnung von **5-87b** bzw. **15-87b**.

Es ist jedoch eher unwahrscheinlich, dass die Reduktion der HPETE **11b** so früh während der Bildung der IsoF bei hohen Sauerstoff-Konzentrationen stattfindet. Darüber hinaus sind die Konzentrationen von Mn^{II} - oder anderen Übergangsmetallionen und von Hydroperoxiden in vivo in Membranen als dem Hauptbildungsort der IsoF eher gering. Wir schlagen daher vor, dass die Endiol-IsoF (**4b**-B) nach



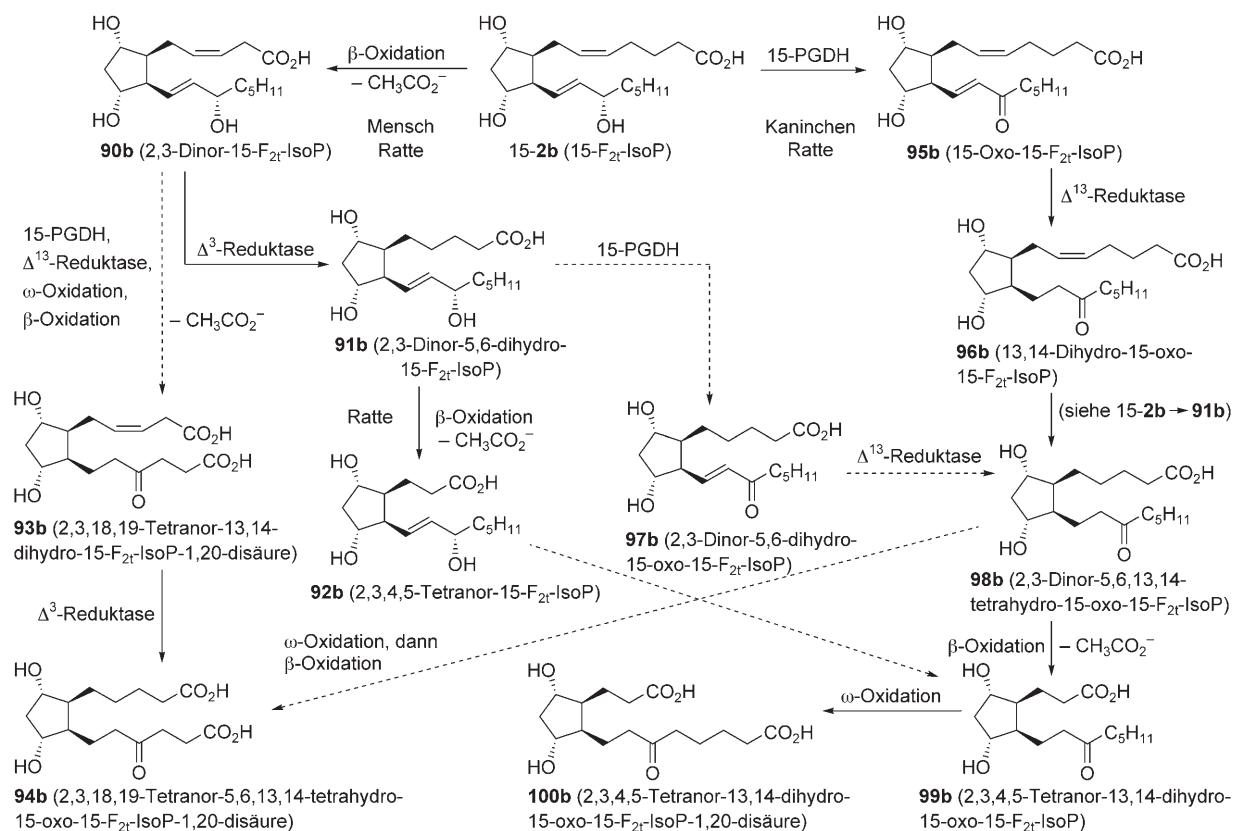
Schema 36. Zwei alternative Mechanismen zur Bildung von **4b**-A und **4b**-B (nur zwei der vier möglichen regiosomeren Serien gezeigt).

einem einheitlichen Isoprostan-Bildungsweg über die Dioxolanylcarbonyl-Radikale **12-17b** oder **8-17b** entstehen. Dieser Vorschlag stützt sich auf Studien von Porter et al. und Bloodworth et al., die überzeugend zeigten, dass die AA-abgeleiteten Dioxolanylcarbonyl-Radikale **8-17b** bzw. **12-17b** eine schnelle 1,3-S_Hi-Reaktion mit Geschwindigkeitskonstanten von $1.8 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ eingehen können, die klar kompetitiv zur C-C-Radikalcyclisierung zu IsoP **2b** ist.^[101] Die so erzeugten Alkoxy-Radikale stabilisieren sich über 3-exo-Cyclisierung und Peroxygenierung zu den Diepoxyhydroperoxiden **5-88b** bzw. **15-88b** (siehe Schema 13).^[44] Nach Hydrolyse zu den regioisomeren Epoxydiolen **5-87b**, **15-87b**, **5-89b** und **15-89b** tritt eine intramolekulare nucleophile Ringöffnung des Epoxids durch eine geeignet positionierte Hydroxy-Gruppe ein und ergibt die Alkenyl-IsoF-5- und **15-4b-A** nach Weg A und die Endiol-IsoF-5- und **15-4b-B** auf Weg B. Die letzten Schritte werden auch durch Befunde von Porter et al. gestützt, die zeigten, dass strukturell ähnliche Epoxyalkohole in einigen Fällen spontan zu Gemischen aus 2-(1-Hydroxyalkyl)tetrahydrofuranen und 2-Alkyl-3-hydroxytetrahydropyranen cyclisieren, die auch analog zu **4b** und **79b** sind (siehe Schema 34).^[101a, 102] Dies wirft die Frage auf, ob nicht auch **79b** in vivo gefunden wird. Auf diesem Gebiet ist noch viel Arbeit nötig, um ein detailliertes und konsistentes Bild der IsoF-Entstehung zu erhalten. Mittlerweile wurden auch die von DHA (**1d**) abgeleiteten Neurofurane (**4d**) als neue cyclische PUFA-Metabolite in Mäusen in Konzentrationen identifiziert, die höher als die aller anderen PUFA-Metabolite waren.^[100b]

4.3. Metabolismus von Isoprostanen und Neuroprostanen

Der größte Anteil der IsoP (**2b**), NeuroP (**2d**), PhytoP (**2a**) und IsoF (**4b**) bildete sich aus in Membranen veresterten PUFA. Aus diesen werden sie durch Verseifung mithilfe von Phospholipase A₂ (PLA₂) ins Plasma freigesetzt.^[103] Es wurde überzeugend demonstriert, dass veresterte F₂-IsoP sowohl durch die Plasma- als auch durch die intrazelluläre Form der Acetylhydrolase des Plättchen aktivierenden Faktors aus Membranen entlassen werden.^[104] Ein Teil der freien F₂-IsoP wird mit dem Urin ausgeschieden. Es ist bemerkenswert, dass die Hauptmenge des mit dem Urin ausgeschiedenen PGF_{2a} im Menschen aus dem Isoprostan-Weg stammt, da es nicht enantiomerenrein ist – es ist aber auch nicht racemisch, sondern weist einen Enantiomerenüberschuss von *ent*-PGF_{2a} auf.^[21] Bei Verabreichung von Ibuprofen an gesunde Versuchspersonen verringerte sich die Menge an ausgeschiedenem Gesamt-PGF_{2a} nur geringfügig. Dagegen sanken PGE₂-Werte, die komplett aus einer Cyclooxygenase-katalysierten Reaktion resultieren, in derselben Versuchsreihe drastisch, was die Vorstellung stützt, dass die Menge des oxidativ erzeugten *rac*-PGF_{2a} diejenige des durch COX enzymatisch erzeugten beträchtlich übersteigt.

Es gibt nur wenige Studien zum Metabolismus der IsoP (**2b**) in vivo. Als Hauptmetabolit von 15-F_{2t}-IsoP (**15-2b**) im Urin erwies sich 2,3-Dinor-5,6-dihydro-15-F_{2t}-IsoP (**91b**),^[105] das durch β -Oxidation über 2,3-Dinor-15-F_{2t}-IsoP (**90b**) und nachfolgende 5,6-Alken-Reduktion entsteht (Schema 37). Metabolit **91b** wird in Ratten-Hepatozyten weiter zu 2,3,4,5-



Schema 37. Gefundene Metabolite von 15-F_{2t}-IsoP (**15-2b**) in verschiedenen Spezies. Gestrichelte Pfeile deuten mögliche, aber unbestätigte metabolische Transformationen an (nur ein Diastereomer gezeigt).

Tetranor-15-F_{2i}-IsoP (**92b**) abgebaut.^[105b] Schon davor entdeckten Roberts et al. höher oxygenierte Tetranordicarbonäure-Metabolite **93b** und **94b** in menschlichem Urin und Plasma,^[106] die aus **90b** durch Oxidation der 15-Hydroxy-Gruppe durch 15-Hydroxyprostaglandin-Dehydrogenase (15-PGDH), Reduktion des 13,14-Olefins durch Δ^{13} -Reduktase, ω -Oxidation zur Carbonsäure-Funktion, β -Oxidation und Reduktion des 5,6-Alkens durch Δ^3 -Reduktase entstanden sein könnten.

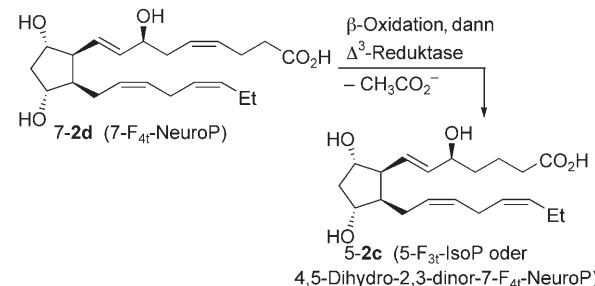
In Kaninchen und Ratten tritt anscheinend in Konkurrenz dazu ein weiterer metabolischer Weg für **15-2b** auf, der im menschlichen Organismus nicht beobachtet wurde. Basu untersuchte das Schicksal von **15-2b** in Kaninchen und fand heraus, dass es im Plasma in nur wenigen Minuten abgebaut wurde.^[107] Einer der gefundenen Hauptmetabolite war 2,3,4,5-Tetranor-13,14-dihydro-15-oxo-15-F_{2i}-IsoP (**99b**), dessen Entstehung in Analogie zum PGF_{2 α} -Metabolismus erklärt werden kann: Die Oxidation der 15-Hydroxy-Gruppe durch 15-PGDH zu **95b** und darauffolgende Reduktion der 13,14-Doppelbindung durch Δ^{13} -Reduktase führt zu 13,14-Dihydro-15-oxo-15-F_{2i}-IsoP (**96b**). Dieser Metabolit wird durch β -Oxidation leicht weiter zu **98b** und zu **99b** abgebaut.

Chiabrando und Mitarbeiter konnten den Metabolismus mehrerer Diastereomere von **15-2b** durch Inkubation isolierter Ratten-Hepatozyten-Präparationen mit authentischen Verbindungen aufklären.^[108] Sie identifizierten die Metabolite **90b**–**92b**, die aus anfänglicher β -Oxidation resultieren, und auch Metabolite **95b**–**99b**, die aus einer Dehydrierung der 15-Hydroxy-Gruppe stammen. Nachgewiesen wurde auch, dass die Konfiguration des jeweiligen Isoprostans eine bedeutende Rolle in seinem Metabolismus spielt: Bei IsoP mit 15S-Konfiguration tritt Oxidation auf beiden Wegen ein, während sich aus Verbindungen mit 15R- und/oder *ent*-Ringkonfiguration keine bedeutsamen Mengen an **95b**, **96b** und **98b** bilden. Der Tetranor-Metabolit **99b** wird jedoch im Metabolismus aller F₂-IsoP-Isomere gefunden, was auf einen Übergang zwischen den beiden Wegen **91b** nach **98b** über **97b** sowie **92b** nach **99b** (und auch von **98b** zu **94b**) hindeutet (gestrichelte Pfeile).

2006 wurde 5-F_{3i}-IsoP (**5-2c**) in menschlichem Urin gefunden; dies gibt einen Hinweis darauf, dass 7-F_{4i}-NeuroP (**7-2d**), das in Urin nicht detektierbar ist, *in vivo* über β -Oxidation zu **5-2c** metabolisiert wird (Schema 38). Somit könnte **5-2c** als diagnostischer Marker sowohl für exogene EPA aus Lebensmitteln wie auch für endogen entstandene Neuroprostane Anwendung finden (siehe Abschnitt 5).^[109]

4.4. PUFA, Isoprostane und Phytoprostane als Signalmoleküle bei der Entwicklung des Sauerstoff-basierten Metabolismus

Nach dem Beginn der Photosynthese und der damit einhergehenden Bildung von toxischem Sauerstoff mussten sich die damals lebenden Organismen an seine steigende Konzentration in der Atmosphäre und an seinen Einfluss auf das zelluläre Redoxgleichgewicht anpassen.^[110] Mehrfach ungesättigte Fettsäuren könnten sich dabei anfänglich als geeignete Opfermoleküle erwiesen haben, mit denen sich die Organismen vor den toxischen Effekten des Sauerstoffs durch



Schema 38. Metabolismus eines NeuroP.

Abfang des Diradikals zu abbaubaren organischen Verbindungen wie Alkoholen und Carbonylverbindungen schützen konnten und die gleichzeitig in einem gewissen Ausmaß zur Energieproduktion nützlich waren. Da in diesem Prozess eine kombinatorische Vielzahl oxygenierter Fettsäuremetabolite – unter ihnen die hier diskutierten racemischen IsoP und PhytoP – gebildet wurde (siehe Abschnitt 4.2), stand ein Pool von Verbindungen zur Verfügung, aus dem der Organismus im Anpassungsprozess an aerobe Bedingungen einzelne Vertreter für die Signalisierung spezifischerer Ungleichgewichte des Redoxzustands selektieren konnte. Besonders nützliche Merkmale cyclischer Fettsäuremetabolite sind in diesem Zusammenhang zum einen, dass sie in genügend großen Mengen gebildet werden, um ein deutliches Signal auszulösen. Zum anderen ist ihre Halbwertszeit unter physiologischen Bedingungen kurz genug, um das Signal durch einen relativ schnellen Abbau auch wieder abzuschalten. Da sich dieses System als effizient genug erwies, haben wahrscheinlich alle terrestrischen Organismen IsoP und PhytoP zu diesem Zweck als lokale Hormone selektiert.

Im Lauf der folgenden Evolution erwies es sich wahrscheinlich als nützlich, die Bildung der aktivsten Vertreter, der PG im Tierreich sowie von OPDA und JA im Pflanzenreich, von ihrer zufälligen autoxidativen Bildung zu entkoppeln. Mit der Zeit entwickelte sich eine enzymatische Biosynthese, die zuverlässige spezifische Signalwege in und zwischen benachbarten Zellen ermöglichte. Wenn jedoch pathogene oder lebensbedrohliche Bedingungen eintreten, wurde und wird auch heute die Autoxidation von PUFA unter Bildung von cyclischen Metaboliten genutzt, um den Redoxzustand von Zellen auszugleichen und einen nicht-enzymatischen Reserveweg für die Signalisierung verheerender Ereignisse zur Verfügung zu haben.^[111] Somit haben PhytoP und IsoP eine archetypische Funktion bei der Selbstverteidigung von Organismen gegen schädigende oxidative Bedingungen.

5. Isoprostane als diagnostische Werkzeuge in Biologie und Medizin

Eine der größten Notwendigkeiten der modernen Diagnostik ist die Verfügbarkeit zuverlässiger nicht-invasiver Verfahren zur Beurteilung des Peroxidationszustandes von menschlichen Geweben in kritischen Krankheitszuständen. Hierzu gibt es zwei Ansätze: Der erste besteht in der Quan-

tifizierung reaktiver Sauerstoff-Spezies (ROS), die die Radikalperoxidation in biologischen Flüssigkeiten oder Geweben initiieren; es ist aber mit den gegenwärtigen Mitteln sehr schwierig, die Konzentration von ROS und anderen reaktiven Spezies *in vivo* exakt zu bestimmen. Der zweite besteht darin, die Produkte oxidativer Schädigung durch ROS mit zuverlässigen Methoden zu quantifizieren.

Seit der Entdeckung der F_2 -IsoP haben sich vielzählige Belege dafür angesammelt, dass ihre Quantifizierung in menschlichem Gewebe den „Goldstandard“ zur *In-vivo*-Beurteilung oxidativer Schädigungen und damit des Status oxidativen Stresses darstellt.^[112] Bevor jedoch Übereinstimmung darüber herrschte, musste eine zuverlässige Analytik zur Detektion und quantitativen Bestimmung der F_2 -IsoP in verschiedenen biologischen Flüssigkeiten (Urin, Plasma, cerebrospinale Flüssigkeit (CSF)), ausgeatmeter Luft sowie biologischen Extrakten und Geweben (LDL, Leber, Retina, Gehirn) entwickelt werden.

5.1. Analytik cyclischer PUFA-Metabolite

Die gegenwärtig in der IsoP-Analytik hauptsächlich genutzten Methoden bestehen in Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Kombinationen (GC-MS, GC-Tandem-MS), Flüssigkeitschromatographie-Tandem-MS (LC-MS) und Immunassays.^[113] Die analytische Methodik zur quantitativen Bestimmung von F_2 -IsoP umfasst eine Reihe von Schritten, die mit ihrer Extraktion aus der biologischen Probe beginnt (Abbildung 2). Dazu werden die in der biologischen Flüssigkeit oder im Gewebe verestert vorkommenden F_2 -IsoP am häufigsten zuerst durch Folch-Lipidextraktion oder durch Flüssig-flüssig-Extraktion (LLE) hydrolysiert.^[52a,114] In Urinproben liegen Isoprostane dagegen frei vor, und es ist nur eine Ansäuerung auf einen pH-Wert von 2–3 notwendig. An diese Prozeduren schließt sich eine Festphasenextraktion (SPE) an.^[114a,115]

Die GC-MS- oder GC-MS/MS-Analyse von IsoP erfordert meist eine umfangreiche Reinigung. Variationen der Schritte sind häufig, werden hier aber nicht eingehend behandelt (siehe hierzu entsprechende Übersichtsartikel^[113]). Ein typisches Vorgehen besteht in der SPE an Umkehrphasen (RP C_{18}) und/oder mit Kieselgel-Sep-Pak-Kartuschen (Probenabtrennung und Anreicherung). Darauf folgen oft Reinigungsschritte durch Dünnschichtchromatographie (DC). Nach Derivatisierung der freien Säuren mit Pentafluorbenzylbromid (PFB-bromid) werden die IsoP-PFB-Ester durch DC von anderen Komponenten getrennt. Die gereinigte Fraktion wird in die entsprechenden Trimethylsilylether (TMS-Ether) umgewandelt, die dann in die GC-MS-Kombination eingespritzt werden können.^[116] Variationen dieser Vorgehensweise schließen die Nutzung von RP-HPLC anstatt der DC-Trennung ein. Nourooz-Zadeh et al. entwickelten eine schnellere Methode, die auf der Anwendung einer Aminopropyl(NH_2)- anstatt der Kieselgel-Kartusche und der DC-Reinigungsschritte beruht.^[117] Zwei Methoden, die auf Anionenaustausch-Festphasenextraktion (Oasis HLB oder Oasis MAX) basieren, gestatten ebenfalls ein vereinfachtes Reinigungsverfahren.^[118] Eine weitere Methode, die die SPE-

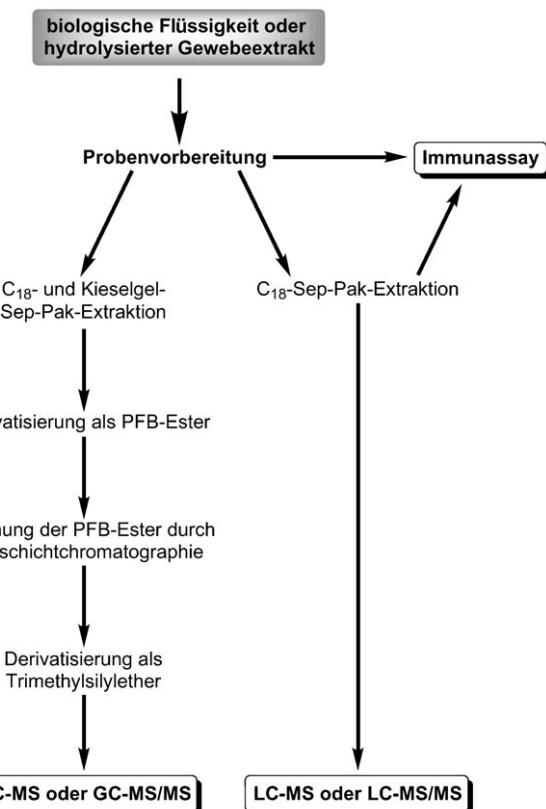


Abbildung 2. Typische Vorgehensweise für die Reinigung, Derivatisierung und Analyse von IsoP-Derivaten.

und DC-Reinigungsschritte mit bedeutend höherer Selektivität ersetzen kann, ist die Immunaffinitätschromatographie (IAC).^[119]

Wird die LC-MS-Analyse angewendet, ist die Probenbereitung einfacher, da keine Derivatisierung erforderlich ist. In den meisten Fällen wurden die freien F_2 -IsoP mittels C_{18} -RP-Festphasenextraktion aus der Probe isoliert und direkt injiziert.^[52a,120] Bohnstedt et al. entwickelten eine sehr robuste und schnelle HPLC-Methode, die eine poröse Graphitsäule zur sehr empfindlichen IsoP-Analyse nach nur einer LLE nutzt.^[120b]

Die Quantifizierung von 15- F_2 -IsoP durch einen Enzymimmunsorbensassay (EIA) wurde eingeführt, erfordert aber auch Extraktion und Reinigung, weil Metabolite ähnlicher Struktur signifikant stören können.^[112a] Bei Anwendung der Radioimmunassay(RIA)-Technik wurde eine einfache Reinigung mithilfe einer C_{18} -RP-Kartusche als ausreichend beschrieben.^[121] Basu regte die direkte Analyse nach Extraktion und, wenn notwendig, Hydrolyse ohne weitere Reinigungs schritte an.^[107b]

Die populärste und verlässlichste Analysetechnik zur IsoP-Quantifizierung in einer gereinigten Probe ist die Isotopenverdünnungsgaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie im Negativmodus chemischer Ionisierung (GC-NICI-MS). NICI-MS der PFB-TMS-Derivate, bei der $[D_4]PGF_{2a}$ oder $[D_4]15-F_2$ -IsoP als interner Standard genutzt wird, ergibt Massenspektren, die arm an Fragmenten sind. Diese Spektren werden durch einen einzigen intensiven Peak

bestimmt, der dem Fragment des Carboxylat-Anions bei m/z 569 entspricht, wenn die Methode im Einzelionenmodus (SIM) angewendet wird. Diese Analysetechnik ermöglichte die Quantifizierung der F_2 -IsoP in verschiedenen biologischen Flüssigkeiten^[114a, 117a, 122] und Gewebeextrakten.^[123] Zur Erhöhung der Selektivität und Empfindlichkeit der Detektion wurden Tandem-massenspektrometrische Methoden (GC-NICI-MS/MS) unter Verwendung von Tripel-Quadrupol-Massenspektrometern^[115b, 124] oder Ionenfallen-Massenspektrometern entwickelt.^[125] Die GC-NICI-MS/MS-Methode ermöglichte die Quantifizierung von 15- F_2 -IsoP, sie ist jedoch nicht spezifisch für die verschiedenen regioisomeren F_2 -IsoP-Klassen, weil alle das gleiche intensive Massenfragment zeigen.

Die Elektronenionisierung (GC-EI-MS) wurde angewendet, um die vier regioisomeren F_2 -IsoP-Klassen basierend auf dem charakteristischen Fragmentierungsmuster der verschiedenen PFB-TMS-Derivate zu identifizieren.^[52a] Darauf aufbauend wurden EI-Methoden zur Bestimmung von 15- F_2 -IsoP in Urin^[126] und Plasma^[127] entwickelt. Die EI-MS ist flexibler und spezifischer als die NICI-MS, ist jedoch wegen der stärkeren Fragmentierung nicht so empfindlich.

Alternativ zu GC-MS-Methoden findet auch die Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS) Anwendung. Sie hat den Vorteil einfacher Probenvorbereitung und ermöglicht die Messung ohne vorherige Derivatisierung.^[52b] Besonders bewährt hat sich die Kopplung von HPLC mit der Elektrospray-Tandem-MS-Technik (LC-ESI-MS/MS), die die Identifizierung der vier F_2 -IsoP-Regioisomerenklassen ermöglichte.^[120d] Eine Studie, in der Umkehrphasen-LC mit ESI-MS zur Analyse freier F_2 -IsoP und Normalphasen-LC, gekoppelt mit chemischer Ionisation unter Atmosphärendruck (APCI-MS), zur Analyse von IsoP-PFB-Estern genutzt wurde, demonstrierte die Trennung und Identifizierung der acht F_2 -IsoP-Diastereomere in den vier regioisomeren Serien.^[20] Die Analyse der relativen Zusammensetzung der isomeren F_2 -IsoP ist von großer Bedeutung, da sie ein möglicher Biomarker ist, der zwischen verschiedenen oxidativen oder pathologischen Bedingungen differenzieren könnte.^[120c, 108]

Massenspektrometrische Methoden ermöglichen zwar sehr genaue und spezifische Analysen, die Instrumentierung ist aber im Routinebetrieb und für den Praktiker nicht leicht zugänglich. Deshalb wurden Immunassays wie Radioimmunoassays (RIA) und Enzymimmunoassays (EIA) für 15- F_2 -IsoP entwickelt.^[121, 107b] Auch eine Reihe von Enzym-gekoppelten Immunadsorptions-Fertigtests (ELISA) sind seit einiger Zeit kommerziell erhältlich. Diese Technik ist relativ billig und einfach. Die Genauigkeit und Verlässlichkeit der Immunassays wurde jedoch von verschiedenen Forschern als ungenügend kritisiert.^[128] Die mangelnde Genauigkeit kann sehr wahrscheinlich auf eine Kreuzreaktivität mit anderen Isoprostan-Isomeren oder -Metaboliten zurückgeführt werden. Deshalb sollte man Daten, die aus GC-MS-Techniken auf der einen Seite und immunologischen Methoden auf der anderen resultieren, nicht direkt miteinander vergleichen, da wahrscheinlich nicht die gleichen Mengen an IsoP gefunden werden. Bisher gibt es keinen Konsens, welche die bessere Technik zur IsoP-Quantifizierung ist, gegenwärtig werden

jedoch chromatographische Methoden gegenüber den Immunassays als überlegen angesehen.

5.2. Cyclische PUFA-Metabolite in diagnostischen Anwendungen

Erhöhte F_2 -IsoP-Werte wurden mit einer großen Zahl von Herz-Kreislauf-, Lungen-, Nieren-, Leber- sowie neurologischen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht^[129] und haben wichtige Informationen über die Rolle des oxidativen Stresses in der Pathophysiologie dieser Krankheiten geliefert (Tabelle 1). Zwei der wichtigsten Krankheitsbilder, in denen die IsoP-Bildung detailliert studiert wurde, sind Arteriosklerose und Alzheimers Demenz (AD).

Eine Reihe von Studien hat Einblicke in die exogenen Faktoren gewährt, die die In-vivo-Bildung von F_2 -IsoP beeinflussen. Dazu gehören das Rauchen, die Aufnahme von Alkohol, die Einnahme von Medikamenten, körperliches Training, verschiedene Zusatzgaben von Antioxidantien sowie Obst- und Gemüsekonsum.^[130]

Obwohl F_2 -IsoP sichere physiologische Marker oxidativen Stresses sind, muss ihre Beziehung zur Pathogenese menschlicher Krankheiten noch tiefgehend erforscht werden. Eine begrenzte Zahl von Studien belegte bisher die ursächliche Verbindung der IsoP mit Asthma, Leberzirrhose, Sklerodermie und AD. Eine Studie von Kennedy und Mitarbeitern zum chronischen Erschöpfungssyndrom zeigte, dass die F_2 -IsoP-Werte positiv mit den Symptomen der Krankheit einschließlich Gelenkschmerz und Zustandsverschlechterung nach Belastungen korrelieren.^[131] Darüber hinaus könnte die Quantifizierung der F_2 -IsoP auch ein prognostischer Marker sein. Die Höhe der F_2 -IsoP-Werte zeigt eine klare Beziehung zur Schwere von Herzinsuffizienz^[134a-b, 166] und korreliert mit der häodynamischen Antwort auf NO in pulmonaler Hypertonie.^[167]

Weiterhin zeigten Schwedhelm et al. in einer Fall-Kontroll-Studie, dass die F_2 -IsoP-Urinwerte ein unabhängiger und kumulativer Risikomarker der koronaren Herzkrankheit sind.^[168] Gross et al. fanden eine Verbindung zwischen erhöhten Konzentrationen von im Blut zirkulierenden F_2 -IsoP und der Verkalkung der Herzkranzarterien in jungen gesunden Erwachsenen.^[169] Diese Befunde bestätigen eine Verbindung zwischen oxidativer Schädigung und dem Frühstadium von Arteriosklerose und stützen die Hypothese, dass oxidativer Stress bedeutsam bei der Entwicklung der Krankheit ist.

Die Bestimmung der IsoP-Werte wurde auch in klinischen Studien zu Auswirkungen der zusätzlichen Gabe von Antioxidantien bei kardiovaskulären und neurologischen Erkrankungen eingesetzt. Obwohl die IsoP-Werte in einigen Studien auf Antioxidans-Therapien ansprachen,^[170] wird dennoch allgemein die Meinung vertreten, dass sich das Ausmaß der Lipidperoxidation durch zusätzliche Gaben von Antioxidantien nur wenig verringert.^[171] Da oxidativer Stress aber ein komplexes Phänomen ist und durch viele Variable beeinflusst wird, können diese Befunde auch durch ungeeignete Antioxidantien oder Antioxidans-Kombinationen, falsche Dosierungen, zu geringe Behandlungsdauer oder zu späten Behandlungsbeginn bei den studierten Krankheiten

Tabelle 1: Menschliche Krankheitsbilder und pathophysiologische Zustände, in denen oxidativer Stress, durch die F₂-IsoP-Werte angezeigt, eine bedeutende Rolle spielt.

Herz-Kreislauf-Krankheiten	Lebererkrankungen
Arteriosklerose ^[132]	akute und chronische Alkohol-bedingte Lebererkrankungen ^[152]
koronare Herzkrankheit ^[133]	akute Cholestasie ^[153]
Herzinsuffizienz ^[134]	hepatorenales Syndrom ^[144]
Ischämie/Reperfusionsverletzung ^[135]	Lebertransplantation ^[154]
renaler Bluthochdruck ^[136]	primär biliäre Zirrhose ^[155]
Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen	neurologisch bedingte Krankheiten
Diabetes ^[117b, 137]	Alzheimers Demenz ^[69a, 156]
Hypercholesterinämie ^[138]	Creutzfeld-Jacob-Krankheit ^[157]
Hyperhomocystämie ^[139]	Huntington-Syndrom ^[156c]
männliches Geschlecht ^[140]	multiple Sklerose ^[157, 158]
Fettleibigkeit ^[141]	verschiedene Krankheitsbilder
Rauchen ^[142]	Sklerodermie ^[159]
Nierenkrankheiten	Down-Syndrom ^[156b]
Hämodialyse ^[143]	Morbus Crohn ^[160]
hepatorenales Syndrom ^[144]	Osteoporose ^[161]
Rhabdomyolyse-induzierte Nierenschädigung ^[145]	Autismus ^[162]
Lungenkrankheiten	Chronisches Erschöpfungssyndrom ^[132]
Asthma ^[146]	rheumatische Entzündungsantwort ^[163]
chronisch-obstruktive Lungenerkrankung ^[147]	muskuläre Nebenwirkungen von Statinen ^[164]
Mukoviszidose ^[148]	obstruktives Schlafapnoea-Syndrom ^[165]
interstitielle Lungenerkrankung ^[149]	
akute Lungenverletzung/Atemnot-Syndrom des Erwachsenen ^[150]	
akuter Brustschmerz bei Sichelzellenanämie ^[151]	

zustandekommen. Gleichwohl sind die F₂-IsoP-Werte gegenwärtig ein wertvolles pharmakologisches Werkzeug für die Bewertung oxidativen Stresses und der Effizienz neuer Antioxidans-Therapien. Die Isoprostan-Quantifizierung sollte daher immer als ein Surrogatendpunkt in größere klinische Studien zu Antioxidantien einbezogen werden.

Eine weitere Klasse von Verbindungen, die in diesem Zusammenhang betrachtet werden muss, sind die F₂-IsoP-Metabolite (siehe Abschnitt 4.3). Die Analyse von F₂-IsoP-Metaboliten in Urin ist eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung des systemischen Ausmaßes oxidativen Stresses *in vivo*. Diese Vorgehensweise hat einige Vorteile gegenüber der Bestimmung der IsoP in Plasma, da Urinproben leichter erhältlich sind und nicht bei –70°C gelagert oder sofort analysiert werden müssen, um die Entstehung von F₂-IsoP durch Autoxidation als Artefakt zu verhindern.^[8] Darüber hinaus umgeht die Bestimmung von IsoP-Metaboliten die Unsicherheit der zusätzlichen Bildung von F₂-IsoP in den Nieren durch renalen oxidativen Stress.

Bisher sind die einzigen in Urin identifizierten F₂-IsoP-Metabolite die von 15-F₂t-IsoP abgeleiteten 2,3-Dinor-5,6-dihydro-15-F₂t-IsoP (**91b**)^[105a] und 2,3-Dinor-15-F₂t-IsoP (**90b**).^[105b] Diese können durch Analyse mit den verfügbaren Methoden (siehe Abschnitt 5.1) auch als Biomarker oxidativen Stresses genutzt werden. In einer Studie wurde **91b** parallel zu 15-F₂-IsoP bestimmt, und es zeigte sich, dass ihre Werte zur Abschätzung des kardiovaskulären Risikos ähnlich gut geeignet sind.^[172]

E₂- und D₂-IsoP entstehen in Konkurrenz zu den F₂-IsoP, und man fand, dass durch die Dezimierung von zellulären Reduktionsmitteln, besonders von α -Tocopherol, die Bildung von E₂/D₂-IsoP gegenüber der von F₂-IsoP bevorzugt wird.^[42, 173] Da aber E₂/D₂-IsoP weniger stabil als F₂-IsoP sind,

eignen sie sich nicht so gut als Biomarker oxidativen Stresses.^[112]

A₂/J₂-IsoP sind Endprodukte des Isoprostan-Weges und bilden sich durch Dehydratisierung aus E₂/D₂-IsoP. Musiek et al. bestätigten, dass sich 15-A₂-IsoP im menschlichen Gehirn in höheren Konzentrationen als F₂-IsoP bilden.^[67] Die Werte steigen unter oxidativen und neurodegenerativen Bedingungen drastisch an. Daher ist 15-A₂-IsoP als potenzieller Vermittler oxidativen Stresses im Gehirn anzusehen. Mehrere Studien befassten sich mit dem zellulären Metabolismus von Cyclopentenon-IsoP und stützten die Hypothese, dass diese hauptsächlich durch Reaktion mit GSH entfernt werden.^[174] Ihre Neigung zu Michael-Additionen ist der Grund, weswegen man freie Cyclopentenon-IsoP *in vivo* nicht detektieren kann. Dagegen wird 15-A₂-IsoP verestert in Membranlipiden gefunden, wo es vor Adduktbildung mit Nucleophilen geschützt ist.

In Rattenurin konnte vor kurzem durch LC-MS/MS ein Metabolit von 15-A₂-IsoP, das *N*-Acetylcysteinsulfoxid-Addukt **101**, identifiziert werden, in dem die C9-Carbonylgruppe zur Hydroxygruppe reduziert ist (Abbildung 3).^[52a, 68] Aktuelle Forschungen konzentrieren sich darauf, die menschlichen Hauptmetabolite von 15-A₂-IsoP zu identifi-

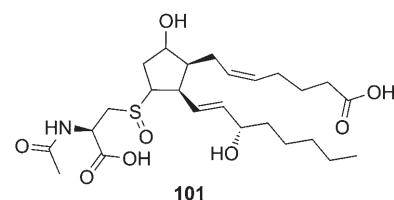


Abbildung 3. Struktur des Hauptmetaboliten **101** von 15-A₂-IsoP aus Rattenurin.

zieren, die als neue Biomarker oxidativen Stresses und besonders von neurologischen Erkrankungen fungieren können.

Während AA (**1b**) in allen Zelltypen des Gehirns vorkommt, liegt DHA (**1d**) in neuronalen Membranen hoch konzentriert vor (25–33 % der Gesamtmenge an Fettsäuren in Aminophospholipiden). F₄-NeuroP, die sich aus DHA bilden, wurden sowohl *in vitro* als auch *in vivo* in großen Mengen detektiert. Signifikant erhöhte Mengen an F₄-NeuroP wurden in CSF und Gehirngewebe des Hippocampus sowie des Temporallappens von AD-Patienten gefunden.^[156a,175] Studien mit AD-Patienten haben seitdem gezeigt, dass F₄-NeuroP empfindlichere In-vivo-Marker oxidativer neuronaler Schädigungen als F₂-IsoP sind.^[176]

E₄- und D₄-NeuroP werden auch in gesundem Gehirngewebe gefunden; sie kommen zu etwa einem Drittel der F₄-NeuroP vor. Das Verhältnis von F₄- zu E₄/D₄-NeuroP ist jedoch bei Patienten mit AD in allen Gehirnregionen 40–70 % geringer als das einer gesunden Vergleichsgruppe gleichen Alters. Das F₄-NeuroP/F₂-IsoP-Verhältnis bleibt dabei unverändert. Dies lässt auf einen verminderten Reduktionsmittelgehalt in den DHA-haltigen Geweben der Gehirne von AD-Patienten schließen.^[71] Somit könnte das Verhältnis von F₄-NeuroP zu E₄/D₄-NeuroP als Indikator für das Einsetzen von AD herangezogen werden.

EPA (**1c**) wird gemeinsam mit DHA zunehmend als Quelle von ω-3-PUFA in Form von Nahrungsergänzungsmitteln genutzt. Beide können daher zu einer weiteren wichtigen Komponente in zellulären Phospholipiden werden. Aus diesem Grund ist es wichtig, das Ausmaß der Peroxidation dieser hoch ungesättigten Fettsäure zu bewerten. Eine Untersuchung hat die Bildung der F₃-IsoP *in vitro* und auch *in vivo* belegt.^[54b]

Fast zur gleichen Zeit entwickelten Rokach et al. eine spezifische Methode zur Analyse von 5-F_{3c}-IsoP in menschlichem Urin.^[109] Sie lieferten zusätzlich Belege dafür, dass 7-F_{4t}-NeuroP durch β-Oxidation in Rattenleber-Homogenaten schnell zu 5-F_{3t}-IsoP metabolisiert wird. Dieser Befund deutet darauf hin, dass endogenes 5-F_{3t}-IsoP auf zwei Wegen, nämlich durch direkte Autoxidation von EPA und durch β-Oxidation von DHA-abgeleitetem 7-F_{4t}-NeuroP, gebildet werden kann. Da eine quantitative nicht-invasive Bestimmung von NeuroP (aus Urin oder Blut) erst noch entwickelt werden muss, könnte der obige Befund einen Lösungsansatz für das Problem bieten.

Wie diese Untersuchungen zeigen, ist es erforderlich, zum einen ein besseres Verständnis der Peroxidation von ω-3-PUFA und besonders der Faktoren, die die Bildung und den Metabolismus cyclischer Produkte beeinflussen, zu entwickeln und zum anderen die biologischen Konsequenzen der Bildung dieser neuen Metabolite aufzudecken. Steht eine verlässliche Methode zur Quantifizierung von F₃-IsoP und NeuroP zur Verfügung, sollten diese zu nützlichen Biomarkern werden, mit denen sich der mögliche Nutzen von EPA und DHA in der menschlichen Ernährung detailliert bestimmen lässt. Tatsächlich hat eine erste entsprechende Studie gezeigt, dass ω-3-PUFA aus der Nahrung die Bildung von biologisch aktiven Peroxidationsprodukten der ω-6-PUFA unterdrücken, indem der Radikalreaktionsweg weg von F₂-IsoP und hin zu F₃-IsoP umgeleitet wird.^[34]

Orientierende Studien haben deutlich gezeigt, dass die Quantifizierung der IsoF im Unterschied zu jener der IsoP ein überaus empfindlicher Gradmesser für oxidativen Stress bei erhöhtem Sauerstoff-Partialdruck ist. Dies wurde bei Hyperoxie-induzierten Lungenverletzungen von Mäusen eindeutig belegt, wo signifikant erhöhte Werte veresterter IsoF ermittelt wurden, während sich die F₂-IsoP-Werte nicht änderten.^[100]

Zu einer weiteren großen Gruppe von Krankheiten, bei denen der zelluläre Sauerstoff-Partialdruck erhöht ist, gehören solche, denen eine mitochondriale Funktionsstörung zugrunde liegt. Tatsächlich waren die IsoF-Werte in der Substantia nigra des Gehirns von Patienten, die an der Parkinsonschen Krankheit leiden, wesentlich höher als die einer altersgleichen gesunden Kontrollgruppe.^[177] Das führte zur Hypothese, dass die gemeinsame Bestimmung von F₂-IsoP und IsoF eine wesentlich genauere und verlässlichere Kennziffer oxidativen Stresses liefern sollte. Eine solche Bestimmung ist leicht zu realisieren, da F₂-IsoP und IsoF gemeinsam durch DC gereinigt und durch GC-MS analysiert werden können, indem zusätzlich ein weiterer Ionenkanal für die um 16 Da höhere Masse der IsoF einbezogen wird.

Levuglandine entstehen durch Umlagerung aus PGH₂ und bilden *in vivo* Proteinaddukte, die durch einen Immunassay detektiert werden können.^[178] Salomon und Mitarbeiter erbrachten durch die Detektion einer Iso[4]LGE₂-Protein-Immunreaktion in menschlichem Plasma den Beweis eines In-vivo-IsoLG-Weges.^[86] Der Befund einer erhöhten Produktion von LG-Proteinaddukten in Patienten mit Arteriosklerose verglichen mit einer gesunden Kontrollgruppe deutete auf eine Beziehung zu oxidativer Schädigung hin. In einer klinischen Studie wurde später bestätigt, dass die Werte der IsoLG-Proteinaddukte in Plasma von Patienten mit Arteriosklerose oder Nierenerkrankungen im Endstadium etwa doppelt so hoch sind wie die gesunder Menschen. Diese erhöhten Werte sind aber nicht mit dem Alter sowie den Gesamtcholesterol- oder apoB-Werten in Zusammenhang zu bringen. Die IsoLG-Proteinaddukt-Werte sind aber stärker mit der Schwere der Krankheit korreliert als die Gesamtcholesterol- oder apoB-Werte, was auf einen unabhängigen Effekt hindeutet, der bei Arteriosklerose und Nierenerkrankungen zu abnorm erhöhter oxidativer Schädigung führt.

Eine weitere wichtige Studie belegte, dass sogar Enzyme für die In-vivo-Auslösung der oxidativen Bildung von IsoLG-Proteinaddukten bei Entzündungsvorgängen verantwortlich sein können. Tatsächlich wurde die Beteiligung von Myeloperoxidase (MPO) an der Bildung von Iso[4]LGE₂-Proteinaddukten nachgewiesen.^[27] Diese Studie zeigte auch, dass die F₂-IsoP-Werte dabei unverändert bleiben und dass LG- und IsoLG-Proteinaddukte wie ein Dosimeter zur Messung der Zunahme cyclischer AA-Metabolite während der Lebenszeit von Proteinen geeignet sind. Damit können sie als kumulativer Gradmesser oxidativen Stresses fungieren.

Die nicht-enzymatische Peroxidation von LA (**1a**) ergibt ein breites Spektrum von Phytoprostanen in pflanzlichen Geweben. PhytoP haben sich dort ähnlich wie die IsoP in Wirbeltieren als verlässliche In-vivo-Marker oxidativen Stresses erwiesen.^[76,78] E₁- und F₁-PhytoP kommen in höheren Pflanzen allgegenwärtig in Mengen vor, die ähnlich wie die

ihrer enzymatisch biosynthetisierten Gegenstücke 12-OPDA und JA sind.^[77] Unter oxidativem Stress (Peroxide, Verwundung) wachsen die F₁-PhytoP-Werte dramatisch an und können die von Jasmonat in maximal betroffenen Pflanzenzellen um mehr als eine Größenordnung übersteigen.^[78,179]

Eine neue Untersuchung zeigte, dass F₁-PhytoP, E₁-PhytoP, A₁-PhytoP und B₁-PhytoP in pflanzlichen Ölen und parenteraler Ernährung (Intralipid) in bemerkenswert hohen Werten von 0.09–99 mg L⁻¹ vorkommen.^[180] Darin wurde demonstriert, dass die F₁-PhytoP nach oraler Aufnahme absorbiert werden, in einer unbekannten konjugierten Form im Plasma zirkulieren und in freier Form im Urin wieder ausgeschieden werden. Legt man zugrunde, dass Cyclopentenon-PhytoP potente antientzündliche und Apoptose-induzierende Aktivitäten aufweisen, die ähnlich zu denen der PGA₁, Desoxy-PGJ₂, A₂-IsoP und J₂-IsoP sind (siehe Abschnitt 6), lässt diese Studie darauf schließen, dass PhytoP zu den vorteilhaften Wirkungen mediterraner Nahrung beitragen können.

Diese Befunde machen deutlich, dass ein besseres Verständnis cyclischer ω-3-PUFA-Metabolite wie PhytoP in menschlicher Nahrung erforderlich ist. Weitere Forschungen sollten sich auf die Bestimmung der In-vivo-PhytoP-Werte im Menschen konzentrieren und dokumentieren, ob sie mit Krankheitssymptomen korrelieren oder ob Symptome durch eine vegetarische Nahrung, die reich an ω-3-PUFA ist, ge-lindert werden können.

6. Biologische Aktivität cyclischer PUFA-Metabolite

Die gemeinsamen Forschungen von Analytikern, Synthetikern, Biochemikern und Biologen führten zur Entdeckung bedeutender biologischer Aktivitäten von cyclischen PUFA-Metaboliten. Das gegenwärtig umfassendste Wissen zur biologischen Aktivität ist für die F₂-IsoP (von denen wiederum 15-F_{2t}-IsoP am gründlichsten studiert wurde) und für 15-E₂-IsoP vorhanden.^[181] In ersten Experimenten zur Wirkung auf Rattennieren erwies sich 15-F_{2t}-IsoP als ein sehr potenter renaler Vasokonstriktor im unteren nanomolaren Bereich. Seitdem wurde belegt, dass 15-F_{2t}-IsoP in den meisten Spezies und Gefäßsystemen als Vasokonstriktor wirkt.^[166,182] Seine Aktivität ist nicht nur auf Blutgefäße beschränkt – es wurden auch signifikante Effekte auf Lymphgefäße, die Bronchien, den gastrointestinalen Trakt und den Uterus gefunden. Außerdem ruft die Verbindung eine weitgehend über die TP-Rezeptoren vermittelte Reizreaktion hervor, z.B. in der Haupt- und Halsschlagader, den Koronargefäßen sowie dem Gefäßsystem des Gehirns, der Hirnhaut und der Retina.^[183] Andere Effekte wie die Aktivierung des Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptors (PPAR) sind auch TP-Rezeptor-abhängig (Abbildung 4).^[184]

Die Effekte von 15-F_{2t}-IsoP auf Blutplättchen sind komplex, in menschlichem Vollblut wirkt es jedoch antiaggregierend. Es induziert die Adhäsion polymorphonuclearer Neutrophile und von Monocyten, die an der Pathophysiologie der Arteriosklerose beteiligt sind. In Endothelzellen wird die 15-F_{2t}-IsoP-induzierte Kontraktion durch die Freisetzung von NO und Prostacyclin (PGI₂) moduliert. Zusätzlich induziert

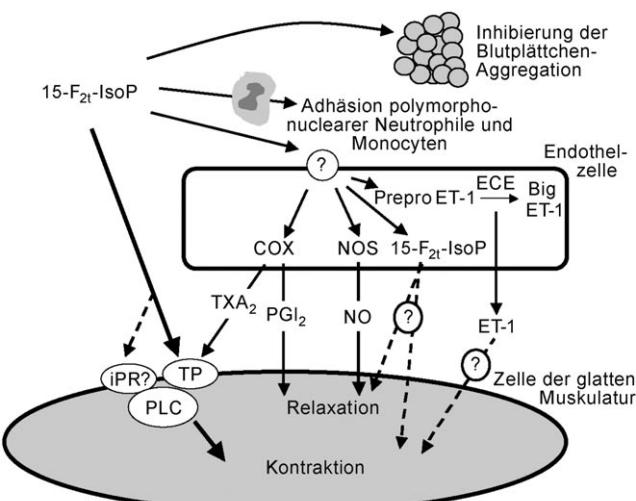


Abbildung 4. Pharmakologische Wirkungen von 15-F_{2t}-IsoP auf die Zelltypen von Blutgefäßen. Für ein besseres Verständnis steht die Dicke der Pfeile im Verhältnis zur wissenschaftlichen Evidenz, die für diese Mechanismen besteht. Die dargestellten Mechanismen können aber von Spezies zu Spezies und unter den einzelnen Gefäßtypen variieren. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [166].

15-F_{2t}-IsoP die Bildung von Thromboxan A₂ (TXA₂) und Endothelin-1 (ET-1). Die Kontraktion von Zellen der glatten Muskulatur wird entweder über TP-Rezeptoren oder einen noch zu findenden spezifischen IsoP-Rezeptor (iPR) vermittelt.

15-F_{2t}-IsoP zeigt in vitro mehrere Aktivitäten, die alle in Hinsicht auf die Pathophysiologie von Arteriosklerose relevant sind.^[185] So promoviert es die Plättchen-Aktivierung^[185c] und die Bildung von TXA₂ im Kapillargefäßsystem des Gehirns.^[186] Es induziert die Mitose von Zellen der glatten Gefäßmuskulatur,^[187] die starke Vermehrung von Fibroblasten^[188] und Endothelzellen und steigert die Freisetzung von Endothelin-1 in Aorta-Endothelzellen, wodurch es die Zellbiologie des Endothels verändert.^[189] Alle diese Effekte können durch pharmakologische Antagonisten von TP-Rezeptoren verhindert werden, was darauf hinweist, dass diese Rezeptoren an den Effekten von 15-F_{2t}-IsoP beteiligt sind. Daher wurde die Hypothese aufgestellt, dass 15-F_{2t}-IsoP als Agonist von TP-Rezeptoren eine funktionale Rolle bei der Entstehung der Arteriosklerose spielen könnte. Tatsächlich steigert die Stimulierung von TP-Rezeptoren in Endothelzellen die Freisetzung von Zelladhäsionsmolekülen wie dem interzellulären Adhäsionsmolekül 1 (ICAM-1),^[190] das die Haftfähigkeit von Monocyten fördert.^[191] ICAM-1 wird in menschlichen arteriosklerotischen Läsionen freigesetzt,^[192] und seine zirkulierenden Mengen sind in einigen Studien zu-folge mit dem Fortschreiten von Arteriosklerose assoziert.^[193] 2005 wurde gezeigt, dass die Verabreichung von 15-F_{2t}-IsoP an ApoE-knockout-Mäuse (ApoE: ein Apoprotein, das essenziell für den normalen Katabolismus von Triglycerid-reichen Lipoprotein-Bestandteilen ist) und LDLR-knockout-Mäuse die Entstehung von Arteriosklerose fördert.^[194] Es ist nicht bekannt, ob die nanomolaren In-vivo-Konzentrationen von F₂-IsoP ausreichend sind, um biologi-

sche Wirkungen zu entfalten, aber lokale Konzentrationen, die an Entzündungsherden freigesetzt werden, sollten hoch genug sein, um eine regionale Vasokonstriktion auszulösen.

Ein weiteres *in vivo* in signifikanter Konzentration gebildetes Isoprostan ist 15-E₂-IsoP. Im Unterschied zu den COX-abgeleiteten PGE₂ und PGF_{2α}, die gegensätzliche biologische Wirkungen haben, ist 15-E₂-IsoP auch ein Vasokonstriktor und ein Inhibitor der TP-vermittelten Plättchenaggregation. 15-E₂-IsoP ist in Gefäßen des Körper- und Lungenkreislaufs sogar potenter als 15-F_{2t}-IsoP. Seine Kontraktionswirkung wird auch über den TP-Rezeptor ausgeübt. Interessanterweise wurde in Lungenvenen von Schweinen die Verengung durch die EP-Rezeptoren, wahrscheinlich durch den EP₃-Subtyp, vermittelt.^[195] 15-E₂-IsoP kann aber über die EP-Rezeptoren auch eine Entspannung bewirken.^[196]

Andere F₂-IsoP wurden wesentlich weniger intensiv studiert. Erste Untersuchungen von Cracowski et al. zeigten, dass 5-F_{2t}-IsoP und sein 5-Epimer keine vasomotorischen Effekte in der Brustaorta von Ratten, der menschlichen inneren Brustkorbarterie (Arteria thoracica interna) und den Beinvenen auslösen.^[197] Obwohl 5-F_{2t}-IsoP das in menschlichem Urin und Plasma am häufigsten vorkommende F₂-IsoP ist, ist es unwahrscheinlich, dass es an der Pathogenese von Gefäßerkrankungen beteiligt ist. 5-F_{2c}-IsoP wurde bisher nicht untersucht.

Chemtob et al. studierten detailliert die Effekte von 5-, 12- und 15-F₂-IsoP-Isomeren im retinalen und Gehirnmikrogefäßsystem von Schweinen.^[198] Sie demonstrierten, dass 15-*epi*-15-F_{2t}-IsoP, *ent*-15-F_{2t}-IsoP und *ent*-15-*epi*-15-F_{2t}-IsoP auch potente Vasokonstriktoren sind. Ebenso bewirkten die isomeren 12-F_{2t}-IsoP und 12-*epi*-12-F_{2t}-IsoP eine ausgeprägte Gefäßverengung. Es wurde auch bestätigt, dass 5-F_{2t}-IsoP und 5-*epi*-5-F_{2t}-IsoP tatsächlich keine vasomotorischen Eigenschaften haben, während *ent*-5-F_{2t}-IsoP erstaunlicherweise eine mäßige Gefäßverengung verursachte. Die Vasokonstriktion von *ent*-5-F_{2t}-IsoP, 12-F_{2t}-IsoP und 12-*epi*-12-F_{2t}-IsoP wurde durch Entfernung des Endothels, durch einen TXA₂-Synthase-Inhibitor, durch einen TXA₂-Rezeptorblocker sowie durch die Blockierung von Rezeptor-operierten Ca²⁺-Kanälen aufgehoben. Entsprechend steigerten diese IsoP-Isomere die TXB₂-Bildung durch Aktivierung des Ca²⁺-Einstroms durch spannungsunabhängige Rezeptor-operierte Ca²⁺-Kanäle in Endothelzellen. Die aktiven 15-F_{2t}-IsoP, *ent*-5-F_{2t}-IsoP, 12-F_{2t}-IsoP und 12-*epi*-12-F_{2t}-IsoP verengten sowohl retinale als auch Gehirnmikrogefäße durch Induktion von Endothel-abhängiger TXA₂-Synthese. Diese neuen Befunde verbreitern das Spektrum biologisch aktiver F₂-IsoP hinsichtlich ihrer Wirkung als Vermittler oxidativer Schädigungen.

Der Hauptmetabolit von 15-F_{2t}-IsoP in menschlichem Urin, 2,3-Dinor-5,6-dihydro-15-F_{2t}-IsoP (**91b**),^[105a] bewirkte im Unterschied zu PG-Metaboliten, die keine pharmakologische Aktivität mehr aufweisen, eine deutliche Verengung von Retinaloberflächengefäß und Mikrogefäß des inneren Gehirns von Schweinen mit Werten, die denen seiner Vorstufe 15-F_{2t}-IsoP für retinale und Gehirngefäße sowie für Astrozyten ähnlich sind.^[199] Cracowski und Mitarbeiter zeigten in einer weiteren Studie zu den Effekten mehrerer IsoP-Metabolite auf die Brustaorta von Ratten, dass 15-Keto-15-

F_{2t}-IsoP (**95b**) wahrscheinlich als ein partieller Agonist eine Kontraktion durch Aktivierung von TP-Rezeptoren auslöst und eine schwache Endothel-unabhängige Entspannung bei hohen Konzentrationen induziert.^[200] Dagegen bewirken 2,3-Dinor-15-F_{2t}-IsoP (**90b** und **91b**) weder eine Gefäßerweiterung noch eine Gefäßverengung an der Brustaorta von Ratten.

Eine neue Studie zu den Isoprostan-Metaboliten **95b**, beiden Isomeren von **90b** und **91b** sowie 20-Carboxy-2,3,4,5-tetranor-15-oxo-5,6,13,14-tetrahydro-15-F_{2t}-IsoP (**100b**) ergab, dass sie in der glatten Muskulatur pulmonaler Gefäße von Menschen und Rindern keinerlei pharmakologische Aktivität mehr aufweisen.^[201] Die letzten Studien heben Diskrepanzen hinsichtlich der biologischen Aktivitäten einiger Metabolite hervor und deuten auf das Vorliegen komplexer Wirkmechanismen hin, die detaillierter untersucht werden müssen.

Die Totalsynthesen von Zanoni et al. ermöglichten Studien zur biologischen Aktivität von Cyclopentenon-IsoP wie 15-A₂-IsoP und 15-J₂-IsoP.^[202] A₂/J₂-IsoP sind dank ihrer α,β -ungesättigten Cyclopentenon-Struktur sehr gute Elektrophile und addieren nucleophile Biomoleküle, besonders solche mit Thiol-Funktionen wie GSH oder Cystein-Resten aus zellulären Proteinen. Levonen et al. zeigten, dass 15-A₂-IsoP mit dem Cystein-reichen Protein Keapl reagiert und so die wichtigen cytoprotektiven Antioxidans-Antworthelemente der Zelle aktiviert. Dies lässt darauf schließen, dass Zellen elektrophile Lipide wie Cyclopentenon-IsoP nutzen, um oxidativen Stress wahrzunehmen und darauf zu reagieren.^[203] 15-J₂-IsoP induziert z. B. sowohl ROS-Bildung als auch zelluläre Antioxidans-vermittelte Verteidigungsmechanismen z. B. auf Basis von Hämoxigenase-1 (HO-1) und Glutathion (GSH).^[203b]

Anschließende Untersuchungen an Makrophagen demonstrierten, dass 15-A₂-IsoP potente biologische Aktivität einschließlich anti-inflammatorischer und pro-angiogenetischer Effekte aufweist. So unterdrücken 15-A₂-IsoP und 15-J₂-IsoP z. B. das Lipopolysaccharid(LPS)-induzierte Entzündungssignal in Makrophagen durch Inhibition des NF- κ B-Weges (NF- κ B: nukleärer Faktor κ -B) über die Verhinderung des I κ B α -Abbaus.^[204] Sie setzen auch die Expression von induzierbarer NO-Synthase (iNOS) und COX-2 als Antwort auf LPS sowie die Bildung von NO, PG und verschiedenen proinflammatorischen Cytokinen außer Kraft.^[174] 15-J₂-IsoP aktiviert den Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor γ (PPAR γ), der biologische Prozesse wie die Entzündungsantwort und den Fettsäuremetabolismus moduliert; dazu wirkt 15-J₂-IsoP auch entzündungshemmend. Es wurde vorgeschlagen, dass Cyclopentenon-IsoP negative Rückkopplungsregulatoren in Entzündungen sind und Bedeutung für die Bestimmung des Einflusses von oxidativem Stress bei der Entzündungsantwort haben. Es gibt auch Anhaltspunkte dafür, dass 15-A₂-IsoP im Gehirn neuroprotektiv wirken kann, jedoch steht dem entgegen, dass die basale NF- κ B-Aktivität in Neuronen für deren Überleben notwendig ist, während die Inhibition von NF- κ B zum Absterben von Neuronen führt und Neurodegeneration verstärkt. Einmal gebildet, können 15-A₂-IsoP somit die weitere oxidative Schädigung durch Stimulierung der ROS-Bildung einleiten.

Dadurch wird möglicherweise ein das Ergebnis potenzierender Oxidationszyklus ausgelöst, der den intrazellulären Redoxstatus von Makrophagen schnell verändert und ihre Zellfunktion in Mitleidenschaft zieht.

Eine wichtige Untersuchung von Musiek et al. belegte, dass Cyclopentenon-IsoP in Gehirngewebe reichlicher vorhanden sind als F₂-IsoP und dass ihre Mengen durch oxidative Schädigung stark ansteigen.^[67] Besonders 15-A₂-IsoP erwies sich schon bei submikromolaren Konzentrationen als ein potentes neuronales Apoptogen (Abbildung 5). Die einge-

produkte sind, die zu ischämischer und excitotoxischer Schädigung des ZNS führen, und dass ihre Wirkung im Gehirn nicht länger vernachlässigt werden sollte. Bisher wurden keine systematischen Studien zur biologischen Aktivität von NeuroP und IsoF durchgeführt, hauptsächlich aus dem Grund, dass nicht genug synthetisches Material zur Verfügung steht.

IsoLG haben eine außerordentliche Fähigkeit zur Reaktion mit Proteinen und können dadurch viele strukturelle und funktionelle Eigenschaften von Proteinen, die sich in Nachbarschaft zu Peroxidationsherden befinden, signifikant verändern.^[86,87b] Eine der ersten Beobachtungen zur Aktivität der strukturverwandten LG war ihre Fähigkeit zur Störung der Tubulin-Funktion durch Inhibition der Polymerisation zu Mikrotubuli.^[206] Anscheinend schädigen die LG die für die Zellteilung wichtige Maschinerie des Cytoskeletts und verhindern so die Mitose. Weiterhin schränkt die kovalente Modifikation von Ovalbumin (OA) oder dem Amyloid- β_{1-40} -Protein (A β_{1-40}) durch IsoLG ihre Verarbeitung durch das 20S-Proteasom stark ein.^[89] Zusätzlich inhibieren die IsoLGE₂-OA- und IsoLGE₂-A β_{1-40} -Addukte die proteasomale Chymotrypsin-artige Aktivität kompetitiv, sodass die Adduktbildung die intrazelluläre Akkumulation von Proteinen potenziert kann. Diese Befunde stellen möglicherweise eine Beziehung zwischen der vermehrten Oligomerisierung von A β_{1-40} und der verminderten Gesamtproteasom-Aktivität her, die in AD-Patienten gefunden wird. Darüber hinaus induzieren IsoLG schon bei submikromolaren Konzentrationen den Zelltod verschiedener Zellkulturen unter anderem von Lungenfibroblasten, Neuroblastom- sowie Gliazellen.^[89,207]

In mild oxidiertem LDL (MM-LDL) aktiviert oxidiertes 1-Palmitoyl-2-arachidonyl-sn-glycero-3-phosphorylcholin (Ox-PAPC) Endothelzellen zur Produktion von Monocyten-chemotaktischem Protein-1 (MCP-1) und Interleukin-8 (IL-8). Beide Chemokine (Chemokine sind chemotaktisch wirkende Cytokine, also kleine Signalproteine, die bei Zellen eine Wanderungsbewegung auslösen (Chemotaxis)) haben sich als wichtige Regulatoren der Entstehung von Arteriosklerose erwiesen und kommen bei menschlichen arteriosklerotischen Verletzungen in erhöhten Mengen vor. Epoxyisoprostan-Phospholipide (PEIPC) und Epoxyoctocyclopentenonisoprostan-Phospholipide (PECPC),^[92] die Hauptkomponenten von Ox-PAPC, sind potente Aktivatoren des PPAR α , der an der durch oxidierte Phospholipide vermittelten Chemokin-Bildung beteiligt ist. Darüber hinaus wird durch PEIPC und PECPC die Biosynthese von MCP-1 und IL-8 in menschlichen Endothelzellen von Aorten (HAEC) sehr effizient ausgelöst.^[93] Weiterhin kann die Akkumulation dieser bioaktiven oxidierten Phospholipide die Produktion von inflammatorischen Chemokinen an Entzündungsherden als Antwort auf pro-inflammatorische Cytokine in Endothelzellen fördern.^[93] Es wird angenommen, dass die Epoxid-Einheit eher für die biologische Aktivität von PEIPC und PECPC verantwortlich ist als der Cyclopentenon-Teil.

In Pflanzen wurde für PhytoP ein breites Spektrum biologischer Aktivitäten gefunden. Orientierende Studien zeigten, dass Cyclopentenon-PhytoP mit dem Desoxy-J₁-PhytoP-, A₁-PhytoP- oder B₁-PhytoP-Ringsystem die Mitogen-aktivierte Proteinkinase (MAPK) in Zellsuspensionen von To-

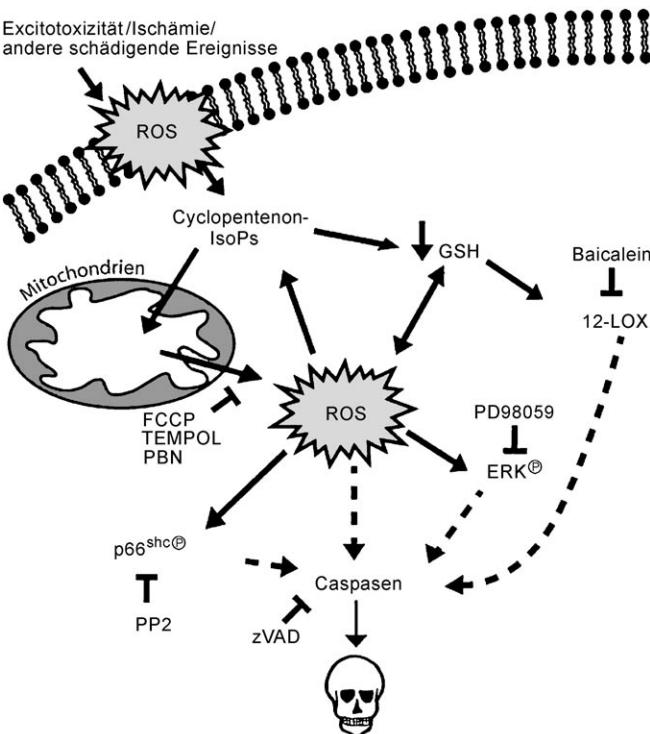


Abbildung 5. Modell der Signalwege bei der 15-A₂-IsoP-induzierten Neurodegeneration. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [67].

hende Studie zeigte ein Modell für die Induktion der neuronalen Apoptose durch 15-A₂-IsoP auf. Es enthält die anfängliche Verringerung der Konzentration von Glutathion durch Konjugation. Durch die dadurch gesteigerte Produktion von ROS wird 12-Lipoxygenase (12-LOX) aktiviert und eine Phosphorylierung der extrazellulären Signal-regulierten Kinase 1/2 sowie des redoxempfindlichen Adapterproteins p66^{shc} induziert. Alle drei lösen die Spaltung von Caspase-3 aus. Darüber hinaus wurde durch Zugabe von geringen 15-A₂-IsoP-Konzentrationen (100 nm) die Neurodegeneration, die durch subletale oxidative Glutamat-Toxizität verursacht wird, noch verschlimmert; damit wird demonstriert, dass sogar geringe Konzentrationen synergistisch mit anderen schädigenden Ereignissen wirken können und so den Zelltod beschleunigen. 15-J₂-IsoP wirkt ebenfalls stark neurotoxisch,^[205] woraus geschlossen werden kann, dass die Cyclopentenon-IsoP eine neue Klasse neurotoxischer Lipidperoxidations-

maten (*Lycopersicon esculentum*) aktivieren. In den gleichen Tomaten-Zellkulturen wurde ein Gen, das am Primärmetabolismus beteiligt ist, – die extrazelluläre Invertase – durch B₁-PhytoP, aber nicht durch A₁-PhytoP induziert.^[76] Es gibt auch Belege dafür, dass mehrere PhytoP-Klassen (Desoxy-J₁-PhytoP, B₁-PhytoP, E₁-PhytoP und F₁-PhytoP) die Bildung von antimikrobiellen Sekundärmetaboliten (Phytoalexinen) in taxonomisch entfernten Pflanzenspezies auslösen.^[76,208] Neue Untersuchungen mit B₁-PhytoP-Regiosomeren ergaben, dass sie eine Reihe von Genen aktivieren, besonders solche, die an der Entgiftung und am Sekundärmetabolismus beteiligt sind.^[209] B₁-PhytoP-Isomere steigern die Expression von mindestens 17 Glutathion-S-transferasen einschließlich GST1, die eine Rolle bei der Entgiftung reaktiver Elektrophile spielt, und von mehreren mutmaßlichen ABC-Transportern, die Glutathion-Konjugate und Chlorophyll-Abbauprodukte in die Vakuole bringen. B₁-PhytoP-Isomere können also als Stresssignale angesehen werden, die eine adaptive Antwort der Pflanze auslösen und damit zumindest partiell den Zelltod abwenden.

Diese Befunde lassen darauf schließen, dass PhytoP ursprüngliche Mediatoren sind, die eine erste adaptive Reaktion zur Begrenzung der Konsequenzen oxidativer Stresses bewirken, indem sie verschiedene Pflanzenverteidigungsmechanismen auslösen.^[111] Tatsächlich akkumulieren F₁-PhytoP sehr früh – in den ersten fünf Stunden nach der Infektion der Pflanze mit einem Pathogen, was mit der enzymatischen Synthese von JA als Signalsubstanz zur Verteidigung zusammenfällt.^[210]

Frühe Arbeiten zum Einfluss von PhytoP auf Säuger zeigten, dass das in Birkenpollen reichlich vorkommende E₁-PhytoP zu PGE₂ vergleichbare Aktivitäten aufweist, z. B. die Hemmung der Produktion von IL-12 in dendritischen Zellen und die Verstärkung der Polarisierung zu T_h2-Zellen.^[211] Der interessante Befund, dass relativ große Mengen an PhytoP in pflanzlichen Ölen vorkommen, gab Anlass zu detaillierteren Untersuchungen ihrer PG-artigen Effekte.^[180] Karg und Mitarbeiter demonstrierten, dass Cyclopentenon-PhytoP wie A₁-PhytoP und Desoxy-J₁-PhytoP durch Herunterregulierung von NF-κB und Inhibition der NO-Biosynthese anti-inflammatorische Aktivitäten im gleichen Konzentrationsbereich von 10–50 μM wie PGA₁ und Desoxy-PGJ₂ in HEK-Zellen und RAW264.7-Makrophagen aufweisen.^[180] Es muss aber bemerkt werden, dass die Inhibitionseffekte bei der NF-κB-getriebenen Gentransaktivierung und die Nitrit-Akkumulation nicht auf einer Cytotoxizität der PhytoP beruhen.

9-A₁-PhytoP induziert die Apoptose in menschlichen Jurkat-Zelllinien im selben Konzentrationsbereich von 10–40 μM wie PGA₁. Desoxy-J₁-PhytoP und dPGJ₂ sind ähnlich in ihrer apoptotischen Wirkung (20–40 μM); 16-A₁-PhytoP und 16-B₁-PhytoP sind dagegen völlig inaktiv.^[180] Die gleiche Studie ergab, dass freies F₁-PhytoP nach dem Verzehr von Oliven- oder Sojaöl nicht detektierbar war, aber eine veresterte Form in menschlichem Blut gefunden wurde. Weitere Forschungen zur Wirkung von PhytoP sind notwendig, um ihren Einfluss auf das Immunsystem, das kardiovaskuläre System und die Krebsprävention zu untersuchen, die alle vom Verzehr pflanzlicher Öle, die reich an ω-3-PUFA sind, profitieren.

7. Total- und Partialsynthesen autoxidativ gebildeter PUFA-Metabolite

Die Totalsynthese cyclischer PUFA-Metabolite ist von größter Bedeutung für das allgemeine Verständnis ihrer In-vivo-Bildung und ihrer biologischen Funktionen sowie für diagnostische Anwendungen. Da alle autoxidativ gebildeten cyclischen PUFA-Metabolite in der Natur als regio- und ste-
reoisomere Gemische vorkommen, in denen die einzelnen Isomere sehr ähnliche chemische und physikalische Eigen-
schaften haben, gelingt die eindeutige Identifizierung einzel-
ner Verbindungen oft nur mithilfe synthetischer Vergleichs-
proben. Darauf hinaus wird synthetisches Material auch als
analytischer Standard und für die Bestimmung potenzieller
biologischer Funktionen benötigt. Abschnitt 7 wird zeigen,
dass bisher nur relativ wenige Vertreter cyclischer PUFA-
Familien präparativ zugänglich geworden sind. Vor der or-
ganischen Synthese liegt zunächst die schwierige Aufgabe der
Entwicklung effizienterer Zugangswege zu cyclischen Lipid-
Derivaten, die weniger Stufen und Zeit als die bisherigen
Strategien erfordern. In der Folge wird der aktuelle Kennt-
nisstand zusammengefasst. Da Cyclopentan-haltige IsoP,
NeuroP und PhytoP die interessantesten Metabolite sind,
erfolgt die Präsentation ihrer Synthesen zuerst. Es schließt
sich die der IsoLG und IsoF an. Die Synthesen werden jedoch
nicht in jedem Detail besprochen – der Schwerpunkt liegt
vielmehr auf der Präsentation der Strategien und der
Schlüsselschritte, die zum Aufbau der jeweiligen Gerüste
führen.

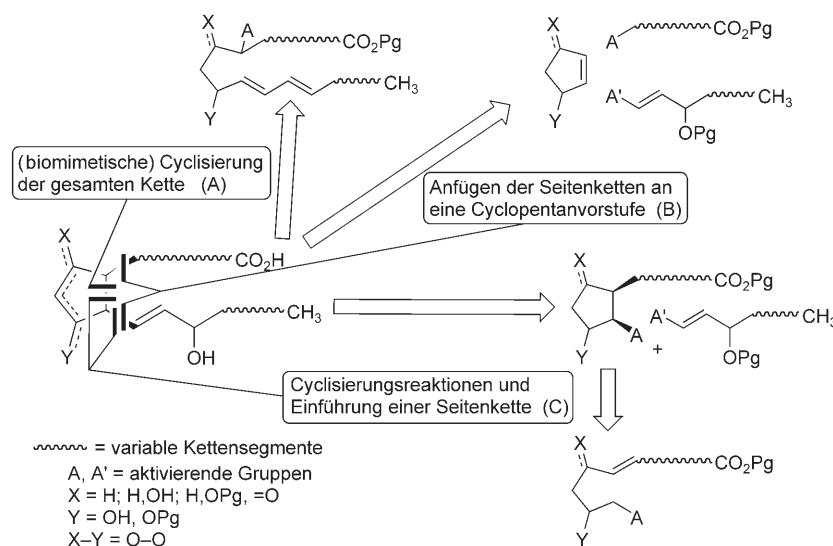
7.1. Synthese Cyclopentan-haltiger PUFA-Metabolite – IsoP, NeuroP und PhytoP

7.1.1. Retrosynthese

Die meisten der Synthesen wurden nach einer der drei grundlegenden retrosynthetischen Zerlegungsmöglichkeiten des IsoP-, NeuroP- oder PhytoP-Gerüsts geplant (Schema 39). Nach Weg A werden zuerst die acyclischen PUFA-Vorstufen mit den gewünschten funktionellen Grup-
pen aufgebaut. Schlüsselschritt ist anschließend eine (manchmal biomimetische) Cyclisierung, die das vollständige Gerüst ergibt. Mögliche Nachteile sind ein beträchtlicher Aufwand zur Herstellung der Cyclisierungsvorstufen und die geringe Flexibilität bei der Synthese von regiosomeren Natur-
stoffen.

Nach Zerlegung B geht man von einem geeignet funktionalisierten Cyclopentan-Derivat aus und führt die beiden Seitenketten in einer einzigen Operation oder in dicht auf-
einanderfolgenden Schritten ein. Diese Strategie ist sehr fle-
xibel in Hinsicht auf die Synthese von Vertretern regioiso-
merer Serien cyclischer PUFA-Metabolite. Da die Konfigu-
ration am Ring die eintretenden Seitenketten aber stark di-
rigiert, besteht eine mögliche Einschränkung der Strategie im
Zugang zu diastereomeren Strukturen.

Eine Reihe von Synthesen wurde nach einer zweistufigen Retrosynthese C konzipiert, in der zuerst eine Seitenkette entfernt wird. Zum Aufbau des Cyclopentanrings mit der anderen Seitenkette wird eine Reihe von Cyclisierungsme-



Schema 39. Retrosynthese der publizierten Total- und Partialsynthesen von Cyclopentan-haltigen PUFA-Metaboliten.

thoden genutzt. Diese Methode kann recht leicht entwickelt werden, und hier gibt es divergente stereochemische Steuerungsmöglichkeiten. Die Synthese der Vorstufen ist meist etwas länger als nach Zerlegung B, ist aber verglichen mit der gemäß Weg A oft einfacher.

7.1.2. Cyclisierungen von Substraten mit vollständig aufgebauter Kette (Weg A)

7.1.2.1. Biomimetische Zugänge

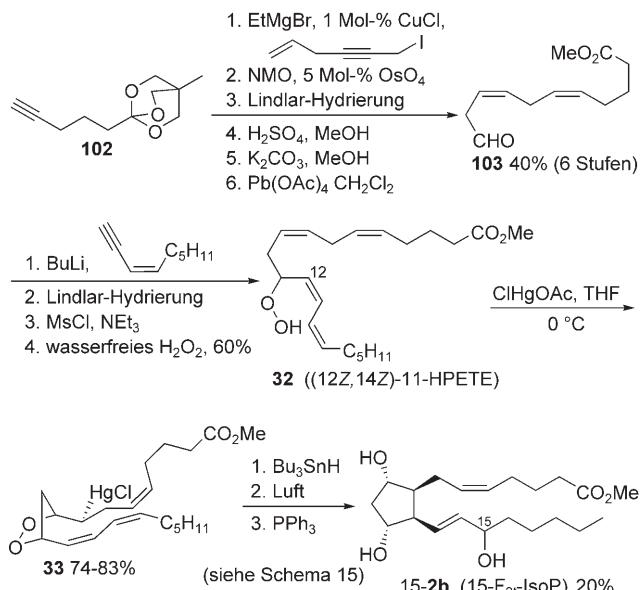
Es gibt drei als biomimetisch zu betrachtende Totalsynthesen von IsoP, bei denen eine vollständig aufgebauter Kette durch eine 5-*exo*-Radikalcyclisierung und Peroxygenierung in das zentrale Cyclopentangerüst umgewandelt wird. Die erste, eigentlich auf einen Zugang zu PGF_{2α} ausgerichtete, publizierten Corey und Mitarbeiter sogar vor der Entdeckung der IsoP als Naturstoffe (Schema 40).^[46]

Die Synthese begann mit dem Orthoester **102** der 5-Hexinsäure. Die Kette wurde nach Deprotonierung zum Magnesiumacetylid durch eine Kupfer-katalysierte Kupplung mit Hex-5-en-3-inyliodid verlängert. Daraus erzeugten die Autoren durch Osmiumtetroxid-katalysierte Dihydroxylierung das terminale Diol als maskierte Aldehyd-Funktion. Das resultierende 1,4-Diin wurde durch Lindlar-Hydrierung in das *Z,Z*-1,4-Dien überführt. Die zweistufige Umwandlung des Orthoesters in den Methylester und die nachfolgende Blei-tetraacetat-vermittelte Glycolspaltung ergaben die C1–C11-Einheit **103**. Nach der nucleophilen Addition des Lithium-acetylids von Non-3-en-1-in an die Aldehyd-Funktion in **103** und einer weiteren Lindlar-Semihydrierung wurde die zentrale Hydroperoxid-Cyclisierungsvorstufe **32** durch Umwandlung des Alkohols ins Mesylat und folgende Substitution mit wasserfreiem Wasserstoffperoxid in guter Ausbeute erhalten.

Die intramolekulare Peroxymercurierung lieferte die Endoperoxyorganoquecksilber-Verbindung **33** in guter Aus-

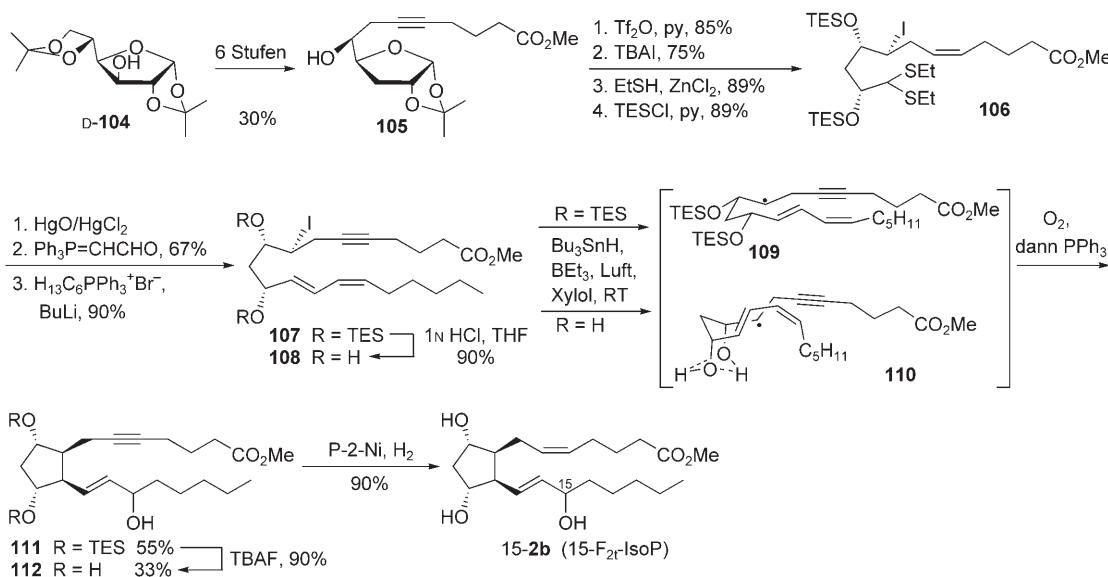
beute. Durch reduktive Demercurierung mit Tributylzinnhydrid wurde das gleiche Radikal erzeugt, durch das auch die In-vivo-Bildung der IsoP vonstattengeht (siehe Schema 15). Die Kettenreaktion verlief über eine 5-*exo*-Cyclisierung und Rekombination mit Sauerstoff und ergab 15-G₂-IsoP (15-**21b**). Dessen Reduktion mit Triphenylphosphin lieferte 15-F₂-IsoP (15-**2b**) in 20% Ausbeute an isoliertem Produkt als einheitliches Ringdiastereomer, aber als 1:1-Diastereomerengemisch in 15-Position.

1994 veröffentlichten Corey und Wang eine zweite biomimetische Synthese (Schema 16).^[48] Darin wurde 15-HPETE (15-**11b**) als Cyclisierungsvorstufe eingesetzt. Deren Radikalbicyclisierung, durch Samariumdiiodid in Gegenwart von Sauerstoff initiiert, führte zu einem 3:1-Diastereomerengemisch von 15-G₂-IsoP und PGG₂ in 15% Ausbeute an isoliertem Produkt (43% basierend auf nicht umgesetztem Ausgangsstoff).



Schema 40. Biomimetische Totalsynthese von 15-F₂-IsoP (15-**2b**) nach Corey et al.^[46]

Die Gruppe von Durand und Rossi entwickelte die dritte biomimetische Totalsynthese eines IsoP (Schema 41).^[212] Ausgangspunkt war kommerziell erhältliche *D*-Diacetoglucose (**D-104**), die in sechs Stufen in den Homopropargylalkohol **105** transformiert wurde.^[213] Die Alkohol-Funktion in **105** wurde mithilfe einer Finkelstein-Reaktion ins Iodid überführt und die Furanose durch Transacetalisierung ins Dithioacetal umgewandelt. Der Schutz der verbleibenden Hydroxy-Gruppe als TES-Ether lieferte die C1–C12-Einheit **106** in guter Ausbeute. Die Entschützung des Dithioacetals und zwei sich anschließende Wittig-Reaktionen, die in Gegenwart des Iodids glatt abliefen, ergaben die C₂₀-Vorstufe **107**.

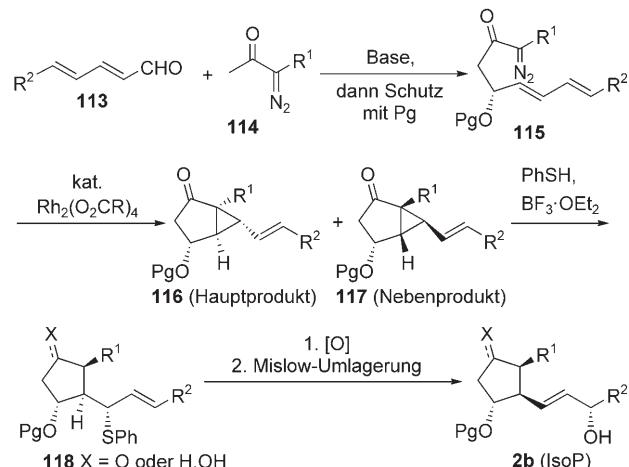


Schema 41. Asymmetrische biomimetische Totalsynthese von 15-F_{2t}-IsoP (15-2b) durch Durand, Rossi et al.^[212]

Um den Einfluss der Silylschutzgruppen auf die Effizienz der folgenden Stufen zu prüfen, war die Entschützung eines Teils von **107** zum freien Diol **108** notwendig. Sowohl **107** als auch **108** wurden in einer Tributylzinnhydrid-vermittelten Sequenz aus 5-exo-Radikalcyclisierung und Peroxygenierung mit Sauerstoff bei Raumtemperatur umgesetzt. In beiden Reaktionen bildete sich nur ein einziges Diastereomer **111** bzw. **112** mit F_{2t}-IsoP-Konfiguration. Der stereochemische Verlauf der Radikalcyclisierung von **107** ist unter Annahme eines Beckwith-Houk-Übergangszustandes **109**, in dem alle Substituenten pseudoäquatorial angeordnet sind, nachvollziehbar. Für die Cyclisierung des Diols **108** kann jedoch auch ein alternativer Wasserstoffbrücken-gebundener Übergangszustand **110**, der dem Endoperoxid im natürlichen Vorbild ähnelt, formuliert werden (siehe Schema 22). Die Radikal-kupplung mit Sauerstoff geschah ausschließlich in 15-Position unter Bildung eines 1:1-Diastereomerengemisches der 15S- und 15R-Hydroperoxyde. Die Synthese von **15-2b**-Methylester wurde durch Reduktion mit Triphenylphosphin und P-2-Nickel-katalysierte Z-selektive Semihydrierung des Alkins in 15 Stufen aus **D-104** abgeschlossen.

7.1.2.2. Tabers Diazoketon-Zugang zu IsoP ausgehend von einer vollständigen Kette

Seit den frühen neunziger Jahren nutzten Taber und Mitarbeiter eine flexible Strategie zur Synthese verschiedener IsoP-Klassen unter Verwendung von vollständig aufgebauten C₂₀-Vorstufen (Schema 42).^[214] Allen Synthesen ist eine Sequenz gemeinsam, die mit dem Aufbau der C₂₀-Cyclisierungsvorstufen **115** durch eine Aldol-Addition von Diazoketonen **114** an geeignete ungesättigte Aldehyde **113** beginnt. Über Rhodium- oder Kupfer-katalysierte intramolekulare Cyclopropanierungen gelingt der Aufbau der Bicyclo-[3.1.0]hexanon-Gerüste **116** und **117**, woraus durch BF₃-OEt₂-induzierte Ringöffnung mit Thiophenol das Cyclopentan-Gerüst **118** mit einer Allylsulfid-Einheit erhalten wird.^[215]

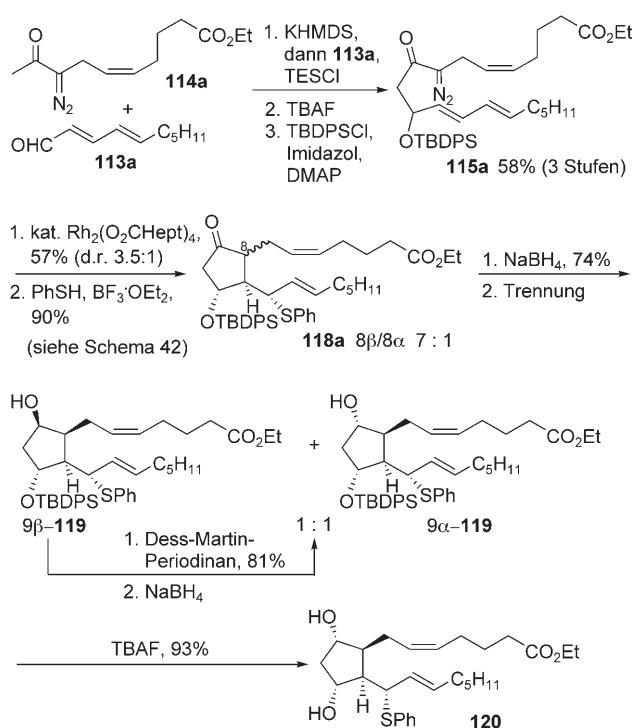


Schema 42. Allgemeine Strategie zur Synthese von IsoP-Isomeren nach Taber et al.^[214]

Dieses kann durch eine Mislow-Umlagerung leicht in die gewünschten IsoP-Systeme **2b** transformiert werden.

Ein Beispiel für die Verwirklichung des Konzepts ist die Totalsynthese aller Stereoisomere von 15-F_{2t}-IsoP (Schemata 43 und 44).^[216] Die C₂₀-Kette wurde durch Aldol-Addition des Kaliumenolats des Diazoketons **114a** mit kommerziell erhältlichem 2,4-Decadienal **113a** in Gegenwart von Chlor-triethylsilan in 61 % Ausbeute aufgebaut. Ein notwendiger Wechsel der Schutzgruppe von der Lewis-Säure-labilen TES- zur stabileren TBDPS-Gruppe ergab die Cyclopropanierungsvorstufe **115a** in guter Ausbeute. Die Rh-katalysierte Cyclopropanierung zum Bicyclo[3.1.0]hexanon-Ringsystem verlief mit annehmbarer 3.5:1-Diastereoselektivität.

Die BF₃-vermittelte Ringöffnung durch Thiophenol lieferte das cyclische Keton **118a** in exzellenter Ausbeute mit guter Diastereoselektivität (siehe Schema 42). Wie erwartet



Schema 43. Synthese des 15-F_{2t}-IsoP-Intermediats **120** über den Diazo-keton-Zugang.

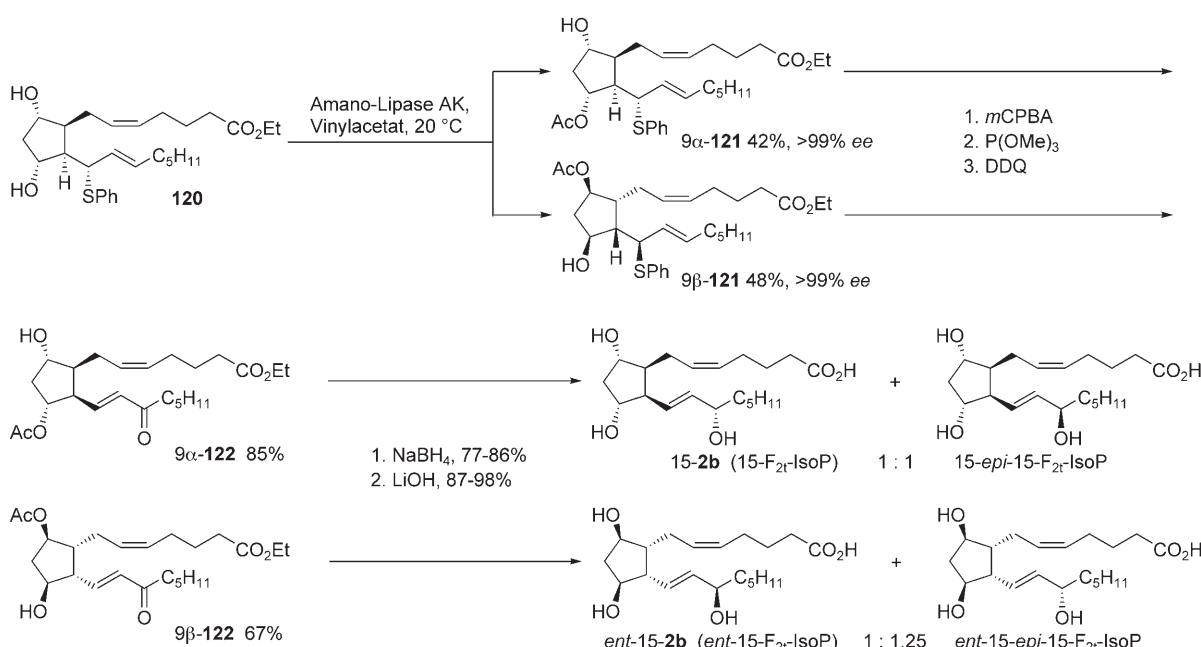
verlief die Reduktion des Ketons **118a** mit NaBH_4 zu **9α-119** und **9β-119** nicht diastereoselektiv. Die Konfiguration des unerwünschten Diastereomers **9β-119** konnte jedoch mithilfe einer Sequenz aus Dess-Martin-Oxidation und nochmaliger Natriumborhydrid-Reduktion zu **9α-119** korrigiert werden. Zur Synthese der einzelnen 15-F_{2t}-IsoP-Enantiomere wurde der Thioether **9α-119** zum racemischen Diol **120** entschützt.

Die pseudosymmetrische Verbindung **120** wurde einer fünftägigen enzymatischen Desymmetrisierung mittels Amano-Lipase AK in Vinylacetat unterzogen (Schema 44). Die trennbaren Monoacetate **9α-121** und **9β-121** wurden in 42 bzw. 48 % Ausbeute mit exzellentem Enantiomerenüberschuss erhalten. Die Anwendung der Mislow-Umlagerung ermöglichte die Herstellung der individuellen Allylalkohole. Deren Oxidation mit DDQ führte in guten Ausbeuten selektiv zu den Enonen **9α-122** und **9β-122**. Die anschließende Reduktion mit Natriumborhydrid war wie erwartet unselektiv und ergab die trennbaren Alkohol-Diastereomere in der Seitenkette. Die einzelnen 15-F_{2t}-IsoP-Stereoisomere wurden daraus durch Verseifung der Ester- und Acetat-Funktionen gewonnen.

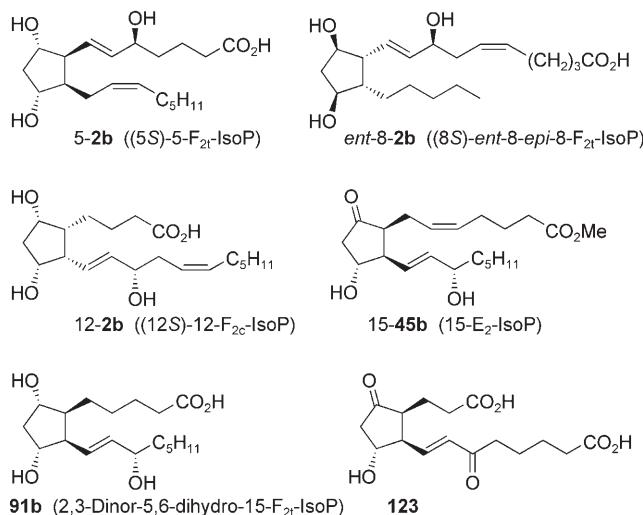
Diese Strategie ermöglichte die Synthese vieler IsoP-Regio- und Stereoisomere (Schema 45). Dazu gehören die 5-F_{2t}-IsoP-Stereoisomere wie **5-2b**,^[21a] alle vier 8-F_{2t}-IsoP-Stereoisomere wie *ent*-**8-2b**,^[21b] alle acht Stereoisomeren 12-F_{2t}-IsoP wie **12-2b**,^[21c] 15-E₂-IsoP (15-**45b**),^[21d] 2,3-Dinor-5,6-dihydro-15-F_{2t}-IsoP (**91b**)^[21e] und auch der potenzielle 15-E₂-IsoP-Ketodicarbonsäure-Metabolit **123**.^[21f]

Der β-Alkohol **124**, der aus der Reduktion des Enons **9β-122** resultiert (siehe Schema 44), fungierte als Ausgangsverbindung für eine Synthese von *ent*-**15-45b** und *ent*-PGE₂ (**125**; Schema 46).^[21g] Eine Änderung des Schutzgruppenmusters und Dess-Martin-Oxidation ergaben *ent*-**15-E₂-IsoP (*ent*-**15-45b**), das aber schon mit Kaliumacetat in Methanol sehr leicht in 8-Position zum thermodynamisch stabileren **125** epimerisierte.**

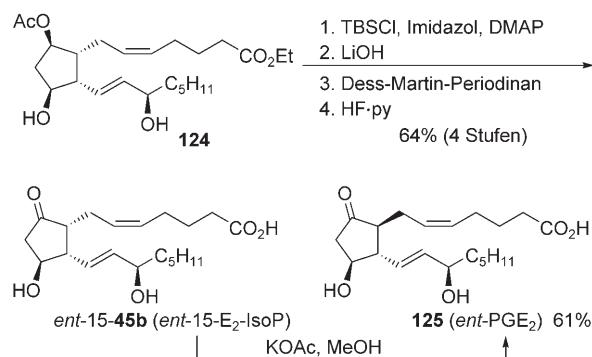
Der Alkohol **126** erwies sich als geeignete Ausgangsverbindung für eine einfache Synthese von 8,15-diepi-15-D₂-IsoP (**128**; Schema 47).^[21h] Nach Änderung des Schutzgruppenmusters wurde durch eine Dess-Martin-Oxidation des C11-Alkohols das Keton **127** erhalten, aus dem durch Entschützen des 1-Ethoxyethylethers und anschließende Mislow-Umla-



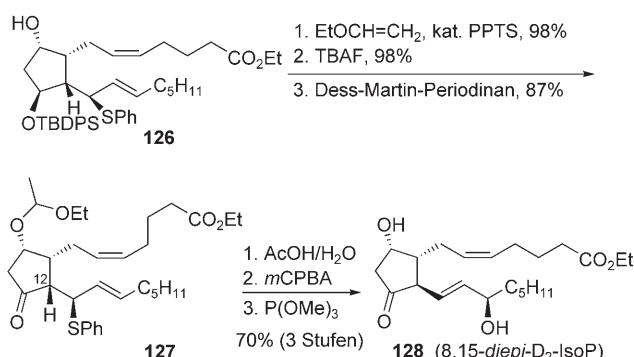
Schema 44. Präparativer Zugang zu allen vier 15-F_{2t}-IsoP-Stereoisomeren aus **120**.



Schema 45. Von Taber et al. synthetisierte IsoP-Klassen.^[217]



Schema 46. Synthese von *ent*-15-E₂-IsoP und *ent*-PGE₂.



Schema 47. Zugang zu einem 15-D₂-IsoP-Diastereomer 128 durch Adjustierung der funktionellen Gruppen.

gerung 128 zugänglich war. Nach Oxidation des Sulfids mit *m*CPBA trat eine quantitative Epimerisierung der konfigurativ sehr labilen 12-Position im IsoP-Derivat 127 ein, sodass ein Stereoisomer mit relativer PG-Ring- aber invertierter Konfiguration der 15-Position erhalten wurde.

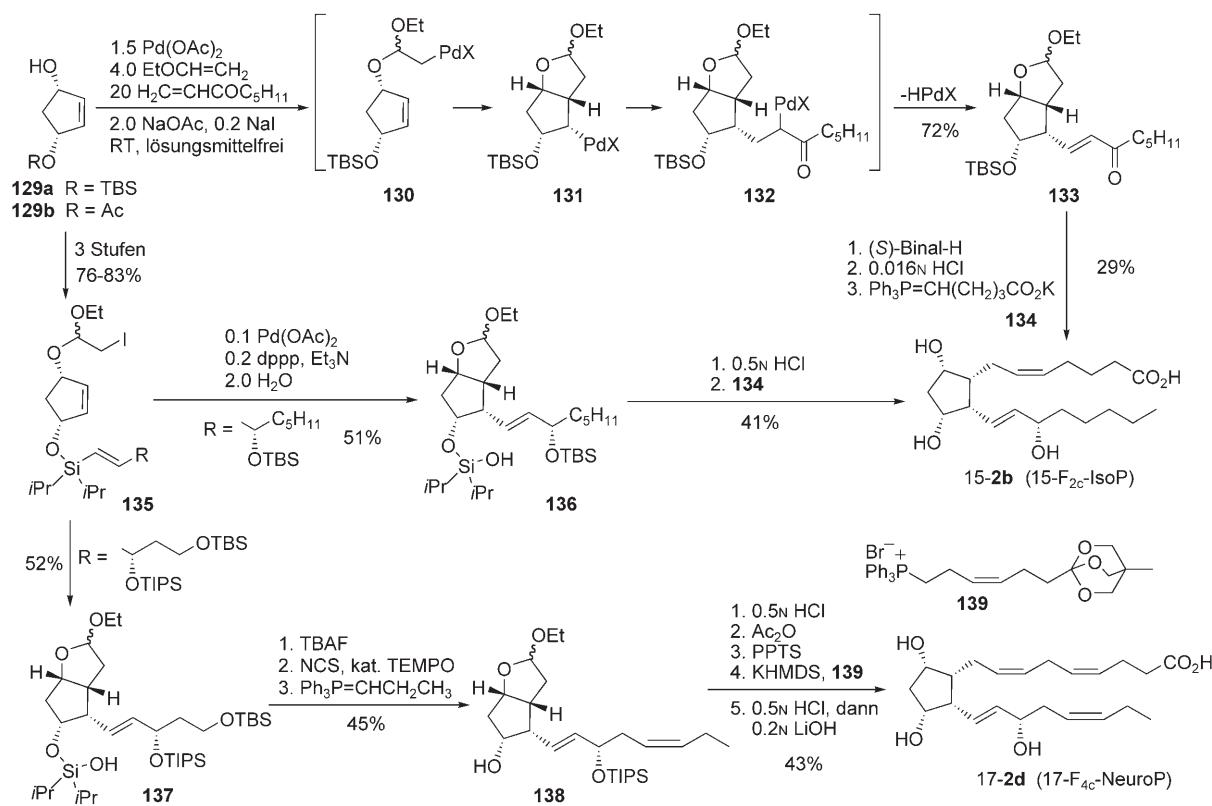
7.1.3. Synthese von IsoP, NeuroP und PhytoP durch Einführung der Seitenketten in funktionalisierte Cyclopentan-Vorstufen (Weg B)

7.1.3.1. Nutzung funktionalisierter Cyclopenten-Derivate

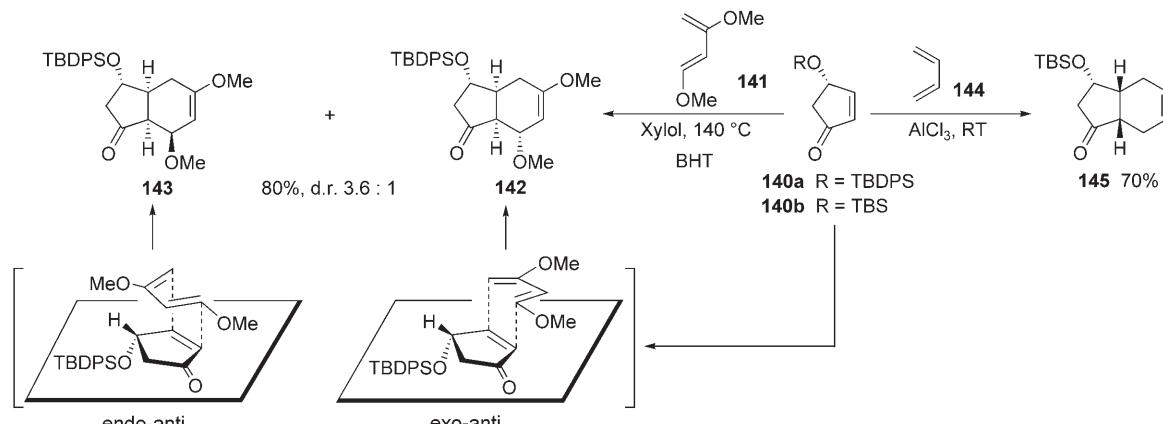
Nur ein Jahr nach der In-vivo-Entdeckung der IsoP publizierten Larock und Lee eine hochstereoselektive Synthese von 15-F_{2c}-IsoP auf Basis einer Palladium-vermittelten Domino-Dreikomponentenkupplung (Schema 48).^[220] Sie gehört zu den kürzesten bisher entwickelten IsoP-Synthesen. Der Schlüsselschritt bestand in einer Alkoxy palladiert von Ethylvinylether mit dem enantiomerenreinen 2-Cyclopenten-1,4-diol-Derivat 129a zu 130 und zwei Carbopalladierschritten, die über 131 und 132 den Bicyclus 133 lieferten. Die Synthese von 15-F_{2c}-IsoP (15-2b) wurde davon ausgehend in drei Standardschritten, nämlich der asymmetrischen Reduktion des Ketons durch Binal-H, der Entfernung der Schutzgruppen und einer Wittig-Reaktion mit dem häufig angewandten Phosphoran 134, vollendet. Nachteilig an der Methode ist, dass äquimolare Mengen an Pd(OAc)₂ und relativ große Überschüsse der Kupplungskomponenten eingesetzt werden müssen.

Cha und Quan verbesserten und erweiterten diese Methode durch die Entwicklung einer intramolekularen Version. Dies ermöglichte die Verwendung katalytischer Mengen Palladium sowie wesentlich geringere Substrat-Überschüsse und erhöhte die Flexibilität zur Einführung der α - und ω -Seitenketten.^[221a] Aus enantiomerenreinem 129b wurde zuerst ein Iodacetal aufgebaut. Die anschließende Silylierung der verbleibenden Alkohol-Funktion mit enantiomerenreinen Alkenylchlorodiisopropylsilanen lieferte in drei Stufen die Verbindungen 135. Deren Doppelcyclisierung mithilfe von Pd(OAc)₂ als Katalysator, dppp als Ligand und Et₃N als Base führte in mittleren bis guten Ausbeuten zu den gekuppelten Silanolen 136 und 137. Damit konnte die ω -Seitenkette durch die Wahl des entsprechenden Alkenylsiloxans sehr flexibel eingeführt werden. Die Synthese von 15-F_{2c}-IsoP wurde ausgehend von 136 durch Entfernung der Schutzgruppen mit HCl und Einführung der α -Seitenkette durch eine Wittig-Reaktion mit dem Phosphoran 134 vollendet. Die Flexibilität der Methode wird durch die erfolgreiche Synthese von 17-F_{4c}-NeuroP (17-2d) unterstrichen.^[221b] Hier folgte nach der Kupplung zu 137 die selektive Entschützung der TBS-Gruppe mit TBAF und die Oxidation des entstandenen Alkohols zum Aldehyd. Die anschließende Wittig-Reaktion mit Propylidene-triphenylphosphoran lieferte 138. Das vollständige Kohlenstoffgerüst wurde durch Entfernung der TIPS-Gruppe, O-Acetylierung beider Alkohol-Einheiten, PPTS-vermittelte Entschützung des Acetals und eine weitere Wittig-Reaktion mit dem Orthoesterphosphoniumsalz 139 aufgebaut. 17-F_{4c}-NeuroP wurde letztlich durch Verseifung des Esters und der Acetat-Schutzgruppen erhalten.

Die Gruppe um Rokach entwickelte eine Synthesestrategie für IsoP basierend auf Diels-Alder-Reaktionen. Das garantiert die *cis*-Anordnung der Seitenketten zueinander.^[222] Aus der Reaktion der Dienophile 140a bzw. 140b mit den Dienen 141 bzw. 144 wurden die Hydroxybicyclo[4.3.0]nonenone 142 und 143 bzw. 145 als Hauptprodukte erhalten (Schema 49). Bei der Reaktion mit 141 bildete sich zusätzlich



Schema 48. Ursprüngliche Totalsynthese von 15-F_{2c}-IsoP nach Larock und Lee und die intramolekulare Version nach Cha und Quan.^[220,221]

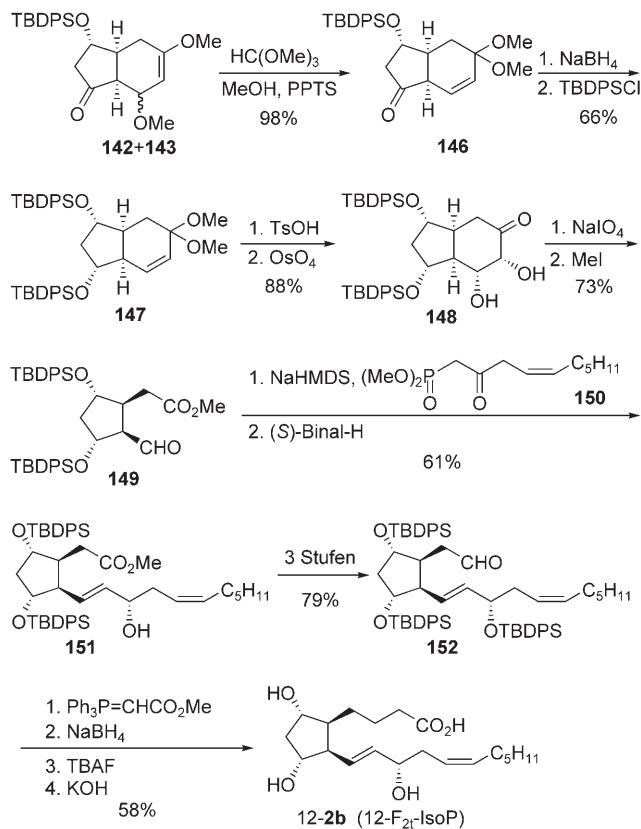


Schema 49. Zugang zu IsoP über Diels-Alder-Reaktionen nach Rokach et al.^[222]

noch ein weiteres bicyclisches Diastereomer in 7% Ausbeute. Die Bildung des Hauptprodukts **143** wurde über einen *endo-anti*-Angriff von **141** auf die weniger gehinderte Seite von **140a** erklärt. In ähnlicher Weise erfolgt die Bildung des *syn-anti-syn*-Produkts **142** durch einen *exo-anti*-Angriff. In der Lewis-Säure-vermittelten Reaktion zum Cycloaddukt **145** nähert sich das Dien **144** dagegen der stärker gehinderten Seite von **140b** mit einer 96:4-Selektivität (70% Ausbeute).

Basierend auf dem Gemisch der beiden bicyclischen Ketone **142** und **143** gelang die Synthese von 12-F_{2i}-IsoP (12-**2b**) in 16 Stufen (Schema 50). Die erste Stufe bestand aus einer durch PPTS initiierten Allylumlagerung mit Ortho-

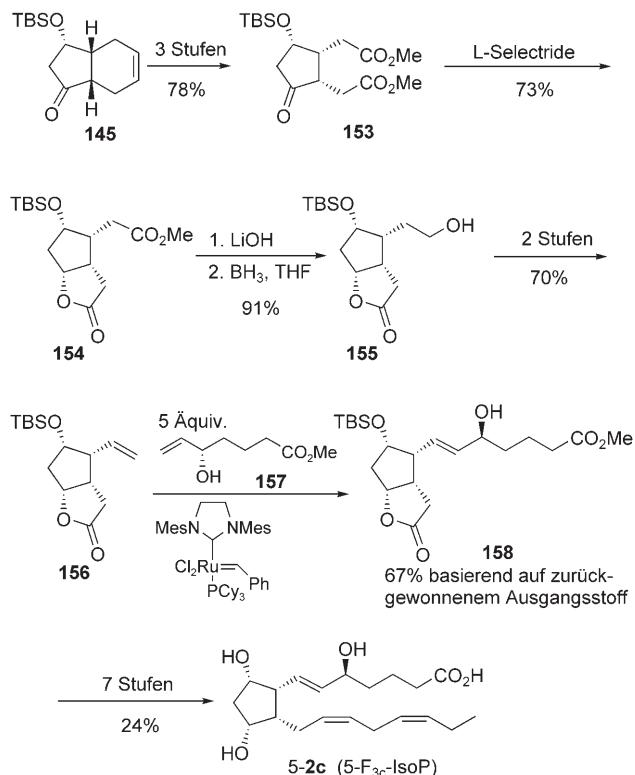
ameisensäuretrimethylester, aus der das stereochemisch einheitliche Ketal **146** resultierte. Die folgende Reduktion der Carbonylgruppe mit NaBH₄ trat mit einer 5:1-Selektivität von der β -Seite ein und führte zum Alkohol mit F_{2i}-Konfiguration, der in guter Ausbeute als TBDPS-Ether **147** geschützt wurde. Die Hydrolyse des Dimethylketals mit p-TsOH und anschließende Dihydroxylierung mit OsO₄ ergaben das 1,2-*cis*-Diol **148** in 88% Ausbeute. Dessen Glycolsplattung/Decarboxylierung mit Natriumperiodat, gefolgt von der Veresterung der gebildeten Carboxy-Gruppe mit Methyliodid, führte in 72% Ausbeute zum Methylester-Aldehyd **149**. Die ω -Seitenkette wurde durch eine Horner-Wadsworth-



Schema 50. Totalsynthese von 12-F_{2c}-IsoP nach Rokach et al.

Emmons(HWE)-Reaktion mit dem β -Ketophosphonat 150 angefügt und das resultierende Enon durch Binal-H asymmetrisch zum Hydroxyester 151 reduziert. Dieser wurde in drei Standardschritten in den Aldehyd 152 umgewandelt. Die Einführung der α -Kette gelang durch eine Wittig-Reaktion mit Phosphoranylidessigsäuremethylester. Die Totalsynthese von 12-F_{2c}-IsoP (12-2b) wurde über drei weitere Stufen erreicht.

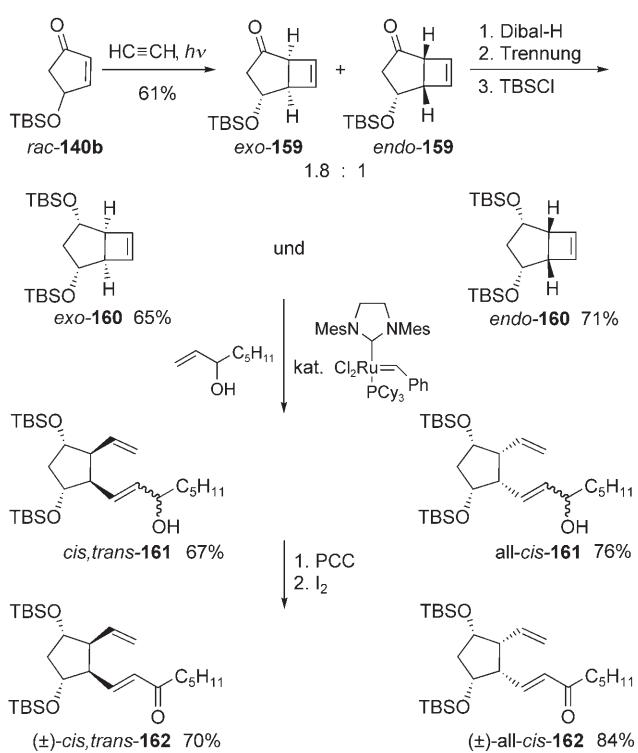
2006 wurde von Rokach und Mitarbeitern die erste Synthese von 5-F_{3c}-IsoP veröffentlicht (Schema 51), die auf dem Cycloaddukt 145 basiert (siehe Schema 49).^[223] Über drei Standardstufen war daraus der Diester 153 in 78% Gesamtausbeute zugänglich. Die zwei Methylester-Gruppen wurden durch stereoselektive Reduktion des Ketons mit L-Selectride, das 153 selektiv von der β -Seite angriff, und folgende Lactonisierung in 73% Ausbeute zu 154 differenziert. Verseifung des Methylesters mit LiOH und selektive Reduktion der Carbonsäure-Einheit mit BH₃·THF ergaben den bicyclischen Alkohol 155 in 91% Ausbeute. Dieser wurde durch Substitution zum *o*-Nitrophenylselenid und anschließende oxidative Eliminierung mit H₂O₂ in 70% Ausbeute in das Vinyllacton 156 transformiert. Damit konnte die α -Kette durch eine Olefin-Kreuzmetathese mit dem chiralen Allylalkohol 157, der in elf Stufen aus D-Arabinose zugänglich ist, eingeführt werden. Das gewünschte Produkt 158 bildete sich in annehmbarer Ausbeute und wurde über sieben Standardstufen in 24% Ausbeute in 5-F_{3c}-IsoP (5-2c) überführt.



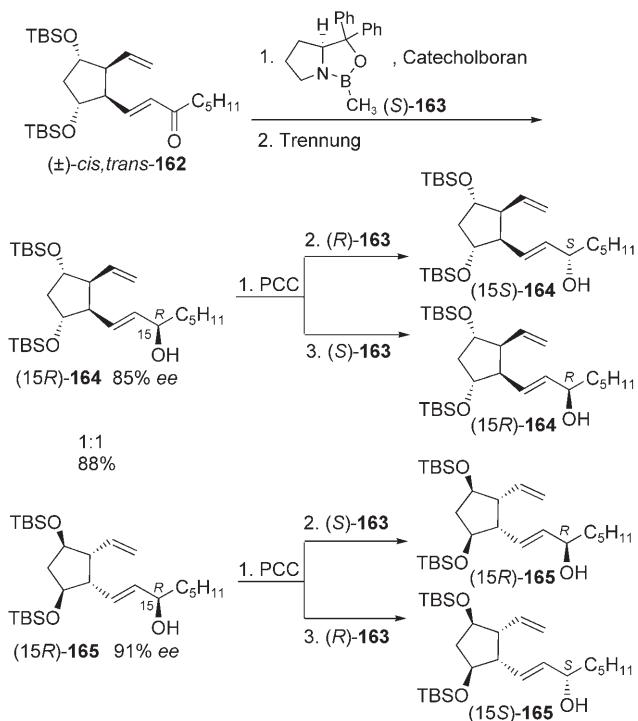
Schema 51. Totalsynthese von 5-F_{3c}-IsoP nach Rokach et al.^[223]

Snapper und Mitarbeiter nutzten eine Ringöffnungsmeatathese-Kreuzmetathese-Strategie zur stereodivergenten Synthese der acht möglichen 15-F₂-IsoP-Stereoisomere (Schema 52).^[224] Ausgangspunkt war die bekannte [2+2]-Photocycloaddition von racemischem 4-Silyloxy-2-cyclopen-tenon 140b und Acetylen, die ein nicht trennbares 1:8:1-Gemisch der Cycloaddukte *exo*-159 und *endo*-159 ergab. Damit wurde die jeweilige *cis*-Orientierung der Seitenketten auf dem Weg zu den 15-F_{2c}- bzw. 15-F_{2c}-IsoP-Stereoisomeren gesichert. Die folgende Reduktion mit Dibal-H führte zu einem Diastereomerengemisch von Alkoholen, das getrennt und durch Schützen mit TBSCl in die gewünschten *meso*-Cyclobutene *exo*-160 bzw. *endo*-160 transformiert wurde. Die Metathesesequenz mit einem Überschuss von 1-Octen-3-ol in Gegenwart des Grubbs-Katalysators der zweiten Generation ergab *cis,trans*-161 bzw. *all-cis*-161 mit vollständiger ω -Seitenkette. Das erhaltene Gemisch der *E/Z*- und Alkohol-Diastereomere wurde durch PCC-Oxidation und Iod-katalysierte Olefin-Isomerisierung zu den racemischen *E*-Enonen *cis,trans*-162 bzw. *all-cis*-162 vereinfacht.

Die enantiomerenreinen Naturstoffe wurden auf zwei Wegen synthetisiert. Der erste, zur Synthese der Vertreter der 15-F_{2c}-IsoP-Serie, ist gezeigt (Schema 53). Die asymmetrische Reduktion von (\pm) -*cis,trans*-162 mit dem *S*-2-Methyl-oxazaborolidin-CBS-Katalysator (*S*)-163 und Catecholboran lieferte die enantiomerenangereicherten diastereomeren Alkohole 164 und 165 mit *R*-Konfiguration an C15. Ihre Trennung, individuelle Reoxidation und erneute asymmetrische Reduktion mit beiden Enantiomeren des CBS-Katalysators



Schema 52. Metathese-Strategie zu 15-F₂-IsoP nach Snapper et al.^[224]



Schema 53. Stereodivergenter Zugang zu den 15-F₂-IsoP-Stereoisomeren nach Snapper et al.^[224]

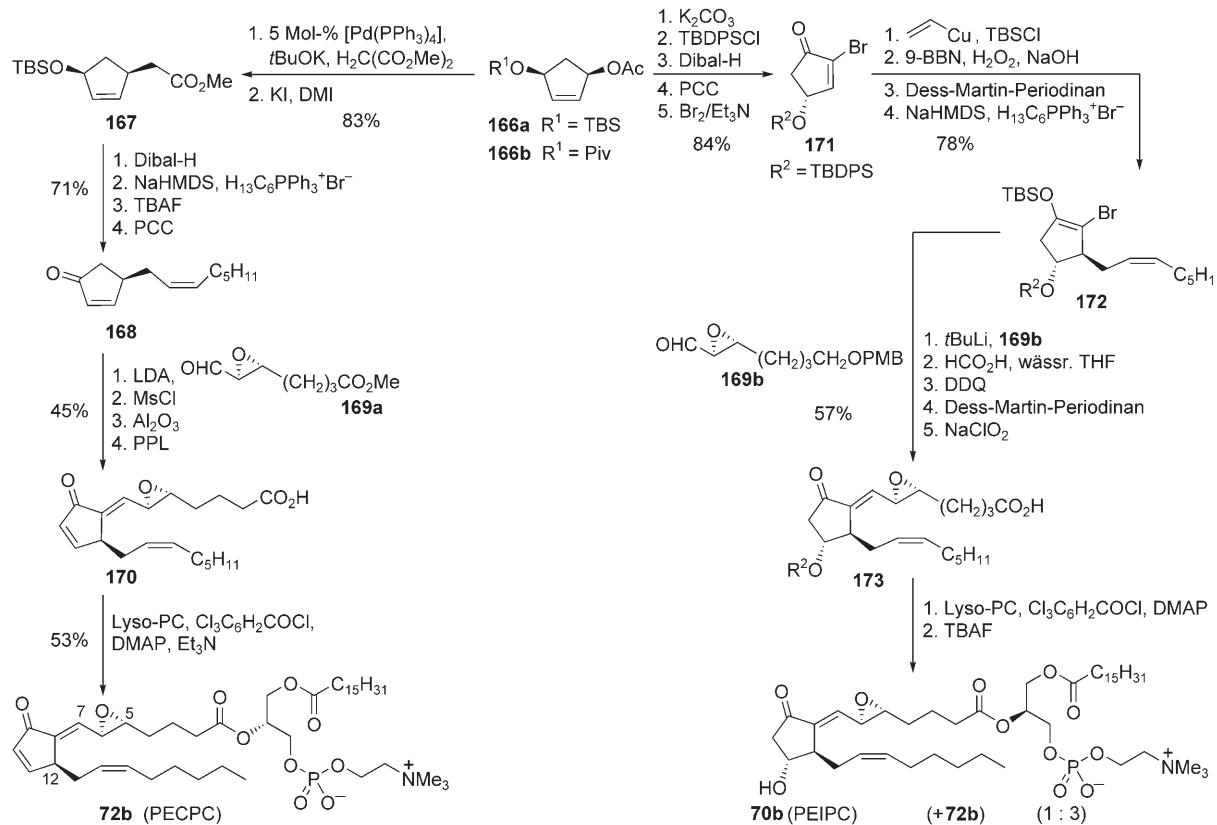
163 ermöglichte die Synthese der vier enantiomerenreinen Diastereomere **164** und **165** mit > 98% ee für jedes Produkt. Die Vollendung der Totalsynthese aller individuellen 15-F₂-IsoP-Stereoisomeren wurde ausgehend von **164** und **165** durch

Hydroborierung des terminalen Alkens und Oxidation zum Alkohol, dessen Oxidation zum Aldehyd, Wittig-Reaktion mit **134** und TBS-Entschützung erreicht (nicht gezeigt, siehe Schema 48). Diese Strategie eignet sich aber auch als spezifischer Zugang zu einzelnen Vertretern wie *ent*-15-*epi*-F_{2t}-IsoP, wenn von (*R*)-**140b** ausgegangen wird.^[224c]

Im Fall der nicht gezeigten 15-F_{2c}-IsoP-Serie wurden die zwei diastereomeren Allylalkohole durch Reduktion von (\pm)-all-*cis*-**162** mit NaBH_4 synthetisiert. Deren klassische Racematspaltung mit (*R*)-*O*-Acetylmandelsäurechlorid machte die vier enantiomerenreinen Alkohole zugänglich. Die Totalsynthese konnte dann, wie oben für die 15-F_{2t}-IsoP-Isomere beschrieben, vollendet werden. Dies ermöglichte erstmals Studien zur biologischen Aktivität von IsoP-Stereoisomeren, die vorher nicht zugänglich gewesen waren (siehe Abschnitt 6). Darüber hinaus wurden auch 15-F_{2t}-IsoP-Phosphatidylethanolamin und *ent*-15-*epi*-F_{2t}-IsoP-Phosphatidylcholin durch Veresterung der TBS-geschützten Isoprostane mit den entsprechenden Phosphatidyllipid-Fragmenten hergestellt.^[224d]

Zwei Gruppen berichteten 2005 über die Totalsynthese von Epoxyisoprostan-Phospholipiden, nämlich von 1-Palmitoyl-2-(5,6-epoxy-15-E₂-IsoP)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (PEIPC, **70b**) und von 1-Palmitoyl-2-(5,6-epoxy-15-A₂-IsoP)-*sn*-glycero-3-phosphatidylcholin (PECPC, **72b**), ausgehend von 1,4-Bis(acetoxy)-2-cyclopenten. Mit ihrer Synthese von **72b** konnten Acharya und Kobayashi die richtige relative Konfiguration der Epoxy-Gruppe und von C12 bestimmen sowie die *E*-Konfiguration der Δ^7 -Alken-Einheit festlegen (Schema 54).^[225,226] Die Synthese begann mit der Palladium-katalysierten allylischen Alkylierung des Kaliumenolats von Dimethylmalonat mit dem enantiomerenreinen Monoacetat **166a**. Die anschließende Decarboxylierung ergab den Ester **167**, der nach Reduktion zum Aldehyd durch eine Wittig-Reaktion stereoselektiv in das *Z*-Olefin **168** überführt wurde. Dessen Aldolreaktion mit dem Epoxyaldehyd **169a** führte unter basischen Bedingungen zum Gemisch der *E*- und *Z*-Kondensationsprodukte, das an Aluminiumoxid zum 7*E*-Enonmethylester isomerisierte. Mithilfe von Schweinepankreas-Lipase (PPL) gelang daraus die Freisetzung der Carbonsäure **170**. Diese wurde unter Yamaguchi-Bedingungen mit 1-Palmitoyl-2-lyso-PC zu **72b** verestert. In folgenden Arbeiten entwickelten Acharya et al. ähnliche Zugangswege zu **72b** und einem 14,15-Epoxyisoprostan-Isomer.^[225b,c]

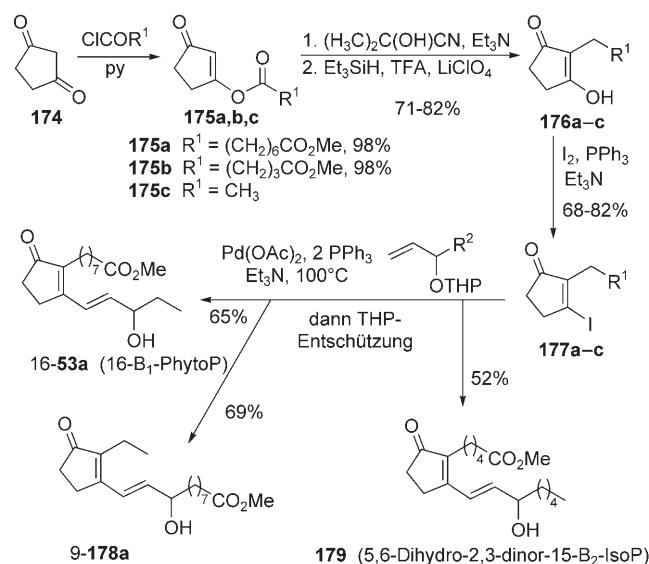
Jung und Mitarbeiter beschäftigten sich dagegen mit der Synthese von **70b**. Dazu transformierten sie enantiomerenreines **166b** zuerst über fünf Stufen in das 2-Brom-4-(silyloxy)cyclopentenon **171** (Schema 54).^[227] Die ω -Seitenkette wurde durch eine konjugierte Addition von Vinylkupfer in Gegenwart von TBS-Cl eingeführt. Aus der Vinyl-Gruppe gelang der Aufbau des Cyclopentanonsilylenolethers **172** durch eine Sequenz aus Hydroborierung, Oxidation und Wittig-Reaktion. Durch Lithium-Brom-Austausch wurde aus **172** eine Vinyllithium-Spezies erzeugt. Deren Addition an den Epoxyaldehyd **169b** lieferte die entsprechenden Aldoladdukte. Die Entfernung der TBS-Schutzgruppe und Dehydratisierung mit Ameisensäure ergaben das Vinylleoxid-Strukturelement. Der PMB-Ether wurde anschließend mit



Schema 54. Totalsynthesen von PEIPC (70b) und PECPC (72b).

DDQ gespalten und der resultierende Alkohol zweistufig über eine Dess-Martin- und Pinnick-Oxidation in die Carbonsäure **173** überführt. Veresterung nach Yamaguchi und Entfernung der TBDPS-Gruppierung lieferten PEIPC (**70b**) sowie PECPC (**72b**) als ein 1:3-Gemisch, wobei **72b** erst durch β -Eliminierung während der Entschützung mit TBAF entstand.

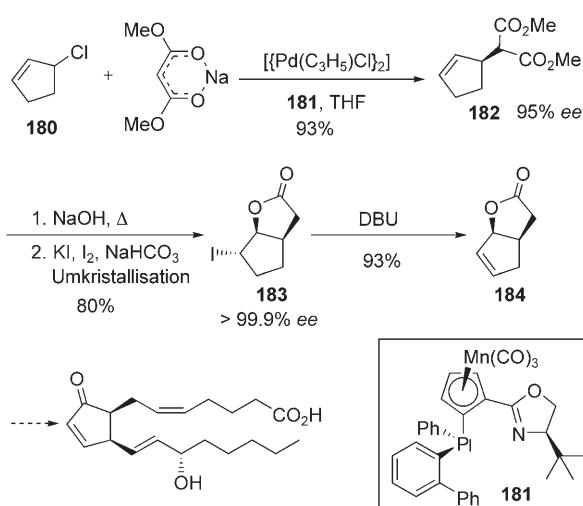
Boland und Schmidt veröffentlichten 2007 einen sehr kurzen und allgemein anwendbaren Weg zur Synthese von B₁-PhytoP, Dinor-IsoP und einer Reihe von Analoga (Schema 55).^[228] Ihre Strategie basiert auf fünf Schlüsselstufen zur Einführung der Seitenketten. Ausgehend von 1,3-Cyclopentandion (**174**) wurde zuerst eine O-Acylierung mit Säurechloriden zu den Verbindungen **175** durchgeführt. Daran schloss sich eine durch Acetoncyanhydrin/NEt₃ unterstützte 1,3-O,C-Acylverschiebung und die selektive Reduktion der exocyclischen Keto-Funktion mit Triethylsilan an, die die gewünschten C-alkylierten 3-Hydroxyenone **176a–c** mit vollständig aufgebauter α -Kette lieferten. Die Reaktion mit dem Triphenylphosphin-Iod-Komplex führte zu den 2-Alkyl-3-iodcyclopentenonen **177a–c**, die als Vorstufen zur Einführung der ω -Ketten durch Heck-Reaktionen, katalysiert durch ein 2:1-Gemisch von PPh₃ und Pd(OAc)₂, in Gegenwart von Et₃N, dienten. Dabei erwiesen sich THP-ge schützte 1-Alken-3-ole als Kupplungspartner der Wahl. Die Totalsynthesen von 16-B₁-PhytoP (**16-53a**), 9-**178a** und 5,6-Dihydro-2,3-dinor-15-B₂-IsoP (**179**) wurden durch Entfernung der THP-Schutzgruppen in guter Gesamtausbeute ab-



Schema 55. Hochdivergente Synthese von B₁-PhytoP (**53a**) und Analoga nach Boland und Schmidt.^[228]

geschlossen. Die Flexibilität dieser Strategie konnte auch durch die Synthese von Acetylen-haltigen und O-alkylierten Phytoprostan-Analoga belegt werden.

Ein Weg, der prinzipiell zur Synthese von IsoP geeignet ist, wurde 2004 von Helmchen und Mitarbeitern publiziert (Schema 56).^[229] Eine asymmetrische Pd-katalysierte allyli-



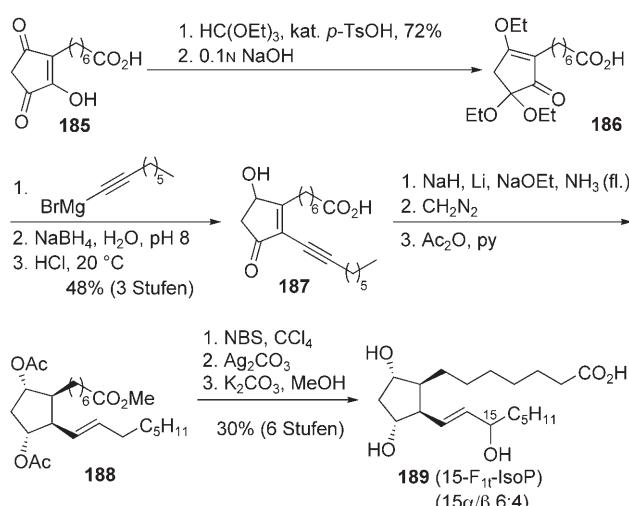
Schema 56. Synthese des IsoP-Intermediats **184** nach Helmchen et al.^[229]

sche Substitution unter Verwendung des chiralen Mangantricarbonyl-Liganden **181** ermöglichte die Synthese des Diesters **182** aus dem Cyclopentenylchlorid **180** und dem Natriumnenolat von Dimethylmalonat in fast quantitativer Ausbeute. Die Autoren bemerkten, dass der allylische Chlor-Substituent hier eine bessere Abgangsgruppe als die sonst häufiger angewendeten Acetate oder Carbonate ist. Nach Verseifung/Decarboxylierung und Iodlactonisierung wurde **183** in hoher Ausbeute erhalten. Die Dehydroiodierung mit DBU ergab das ungesättigte Lacton **184** in 93 % Ausbeute. Ausgehend von **184** gelang die Synthese von Jasmonoiden wie 12-OPDA, jedoch könnten auch Isoprostan-Serien durch ähnliche Wege zugänglich werden.

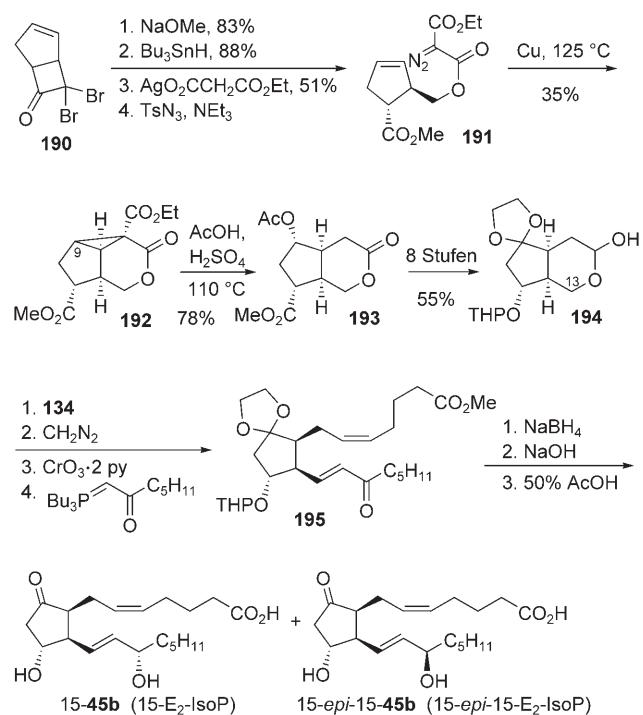
7.1.3.2. Nutzung von Cyclopentan-Vorstufen, die weitere Kohlenstoffatome tragen

Das 3-Alkylcyclopentan-1,2,4-trion **185** erwies sich als günstige Vorstufe bei einer sehr frühen Synthese von IsoP (Schema 57).^[230] Seine simultane Acetalisierung und Veresterung mit Orthoameisensäuretriethylester ergab das Triethoxycyclopentenon **186**. Daraus war durch eine Sequenz aus nucleophiler Addition des Magnesiumacetylids von 1-Octin, Dehydratisierung, Reduktion des resultierenden Ketons und saurer Acetal-Hydrolyse das Hydroxycyclopentenon **187** in 48 % Ausbeute zugänglich. Durch nachfolgende erschöpfende Reduktion der Enon- und der Alkin-Einheit mit Lithium in flüssigem Ammoniak bildete sich das 15-Desoxy-15-F₁₅-IsoP-Gerüst mit guter Diastereoselektivität; seine Isolierung erfolgte als Diacetat **188**. Interessanterweise wurde die Einführung der 15-Hydroxy-Gruppe in **188** durch eine Wohl-Ziegler-Bromierung und anschließende nucleophile Substitution des allylischen Bromsubstituenten mit Silbercarbonat erreicht. Nach Verseifung der Acetat- und Ester-Funktionen war 15-F₁₅-IsoP (**189**) in 30 % Ausbeute über sechs Stufen erhältlich.

Eine intramolekulare Kupfer-katalysierte Cyclopropanierung eines 2-Cyclopentenylesters war der Schlüsselschritt



Schema 57. Totalsynthese von 15-F₁₅-IsoP aus einer Cyclopentantrion-Vorstufe.



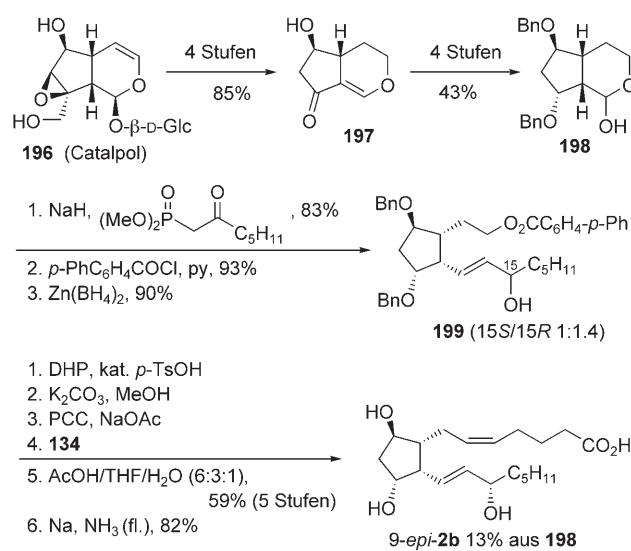
Schema 58. Totalsynthese von 15-E₂-IsoP (15-45b) und seinem 15-Epimer nach Nakamura und Sakai.^[231]

bei einer Synthese von 15-E₁- und 15-E₂-IsoP (Schema 58).^[231] Ausgangspunkt war das bicyclische Keton **190**, das durch [2+2]-Cycloaddition von Dibromketen und Cyclopentadien hergestellt wurde. Seine nucleophile Ringöffnung mit Natriummethoxid und selektive radikalische Monoreduktion mit Tributylzinnhydrid ergab ein Cyclopentenylmethylbromid, das mit dem Silbersalz von Malonsäuremonoethylester verestert wurde. Eine Diazo-Transferreaktion mit Tosylazid lieferte das Diazomalonat **191**. Die Kupfer-vermittelte intramolekulare Cyclopropanierung in siedendem Xylool ergab das tricyclische Lacton **192** in moderater Ausbeute. Das in 9-Po-

sition des IsoP notwendige Sauerstoff-Atom wurde durch solvolytische Ringöffnung der Cyclopropan-Einheit mit Essigsäure unter Bildung des bicyclischen Lactons **193** eingeführt.

Ein Nachteil dieser Synthese besteht darin, dass zur Einstellung des korrekten Musters der funktionellen Gruppen von **193** bis zum bicyclischen Lactol **194** acht Stufen notwendig waren. Die Synthese wurde danach mit einer Z-selektiven Wittig-Reaktion unter Nutzung von **134** zum Aufbau der α -Kette fortgesetzt. Die Veresterung der Carbonsäure, Collins-Oxidation des 13-Alkohols zum Aldehyd und eine zweite Wittig-Reaktion lieferten das vollständige C_{20} -Gerüst **195**. Einige Zugangswege zu PG basierten auf Cyclopentan-Vorstufen mit IsoP-Konfiguration, die dann auf der C13-Aldehyd-Stufe epimerisierten; eine solche Epimerisierung geschah bei der Anwendung des Tributyl- β -ketophosphorans Reagens zur Einführung der ω -Kette hingegen nicht. Die Totalsynthese von **15-45b** und **15-*epi*-45b** wurde durch unselektive Reduktion der 15-Keto-Funktion, Verseifung und Spaltung des cyclischen Ketals vervollständigt.

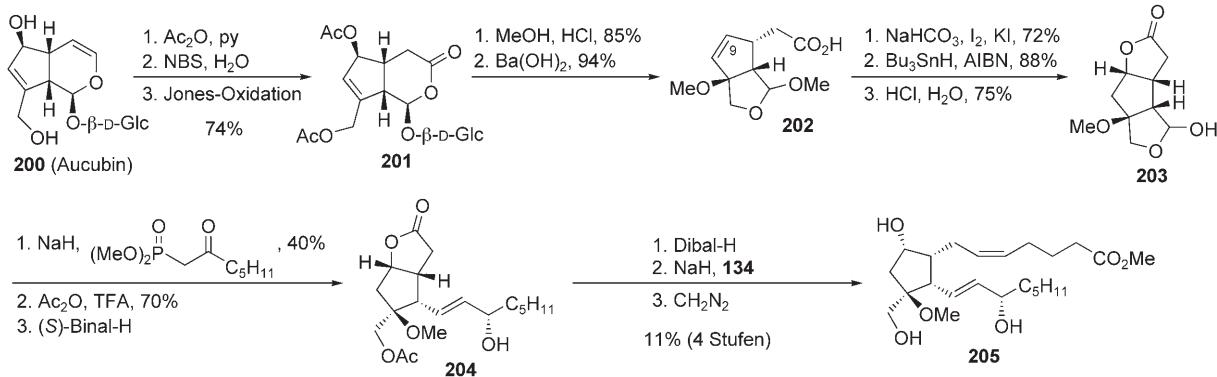
Iridoidglucoside sind weit verbreitete pflanzliche Naturstoffe, die als enantiomerenreine Ausgangsmaterialien aus dem chiralen Pool häufig zur Synthese von Prostaglandin-Derivaten und auch von einigen IsoP-Analoga eingesetzt wurden. Weinges und Mitarbeiter nutzten Catalpol (**196**) als Ausgangsverbindung zur Synthese von (15*R*)- und (15*S*)-9-*epi*-15-F_{2c}-IsoP (9-*epi*-**2b**; Schema 59).^[232a] Catalpol konnte in großer Menge über den Ketoenoether **197** in das Lactol **198** transformiert werden. Dieses verfügt über zwei günstig differenzierte Funktionalitäten zur Einführung der Seitenketten. Zuerst wurde die ω -Seitenkette durch eine HWE-Reaktion mit 2-Oxoheptylphosphonat in Gegenwart von NaH aufgebaut. Nach temporärem Schutz des primären Alkohols wurde die Keto-Funktion mit Zinkborhydrid (wenn auch wenig diastereoselektiv) reduziert. Nach der Trennung der 15*R*- und 15*S*-Diastereomere von **199** folgte eine Sequenz bestehend aus Schutz der 15-Position als THP-Ether, Verseifung des Benzoates und Oxidation des resultierenden Alkohols zum Aldehyd. Mit diesem gelang die Einführung der α -Kette durch eine Z-selektive Wittig-Reaktion mithilfe von **134**. Über zwei Entschützungsschritte wurde die Synthese des Isoprostan 9-*epi*-**2b** abgeschlossen. Durch eine ähnliche Strategie wurde auch ein verzweigtes 15-Methyl-Analogon synthetisiert.^[232b]



Schema 59. Totalsynthese von (15*S*)-9-*epi*-15-F_{2c}-IsoP aus dem Iridoid Catalpol (**196**).

Eine ähnliche Strategie wurde zur Synthese von in 11-Position modifizierten IsoP angewendet (Schema 60).^[233] Das Iridoidglucosid Aucubin (**200**) wurde dazu als Ausgangsverbindung genutzt. Durch Modifizierung der funktionellen Gruppen gelang die Synthese des Lactons **201** in drei Stufen. Aus diesem wurde durch Hydrolyse von Glucose, Verseifung der Acetat-Gruppen und Ringöffnung die bicyclische Carbonsäure **202** erhalten. Eine Iodlactonisierung ermöglichte die Einführung des Sauerstoff-Atoms in 9-Position. Die Radikalreduktion des Iodids, gefolgt von saurer Entschützung, lieferte das Lactol **203**. Ähnlich wie bei Weinges' Synthese wurde in **203** zuerst die ω -Kette durch eine HWE-Reaktion mit 2-Oxoheptylphosphonat in Gegenwart von NaH eingeführt. Acetylierung des neu erhaltenen Alkohols und stereoselektive Reduktion des C15-Ketons mit Noyoris (*S*)-Binal-H ergaben das (15*S*)-Hydroxylacton **204**. Von diesem ausgehend wurde die Synthese von **205** abgeschlossen, indem das Lacton mit Dibal-H zum Lactol reduziert, die α -Kette durch Wittig-Reaktion mit **134** eingeführt und die Carbonsäure mit Diazomethan verestert wurde.

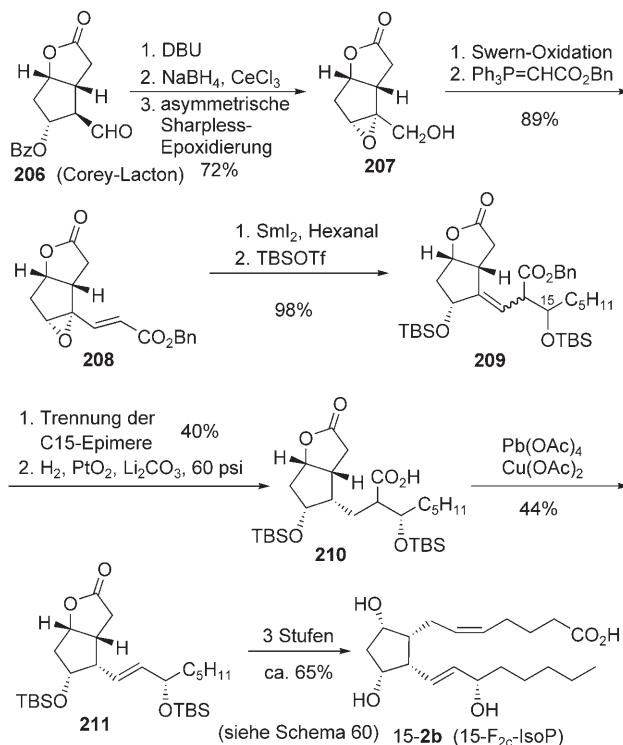
Diese Synthesestrategie basiert auf den Arbeiten von Ohno et al., die eine Reihe von meist in 11-Position modifi-



Schema 60. Synthese von IsoP-Analoga ausgehend vom Iridoidglucosid Aucubin (**200**).

zierten IsoP-Analoga aus Aucubin (**200**) herstellten.^[234] Auf diesen Ergebnissen aufbauend wurde eine Reihe weiterer Cyclopentan-Derivate synthetisiert, die ein Ausgangspunkt für Totalsynthesen von Isoprostanen sein könnten.^[235]

Das käufliche Benzoyl-geschützte Corey-Lacton (**206**) kann auch zur Synthese von IsoP wie 15-F_{2c}-IsoP (15-**2b**) eingesetzt werden, wie Cha und Mitarbeiter 1999 zeigten (Schema 61).^[236] E1cB-Eliminierung der Benzoyl-Gruppe in

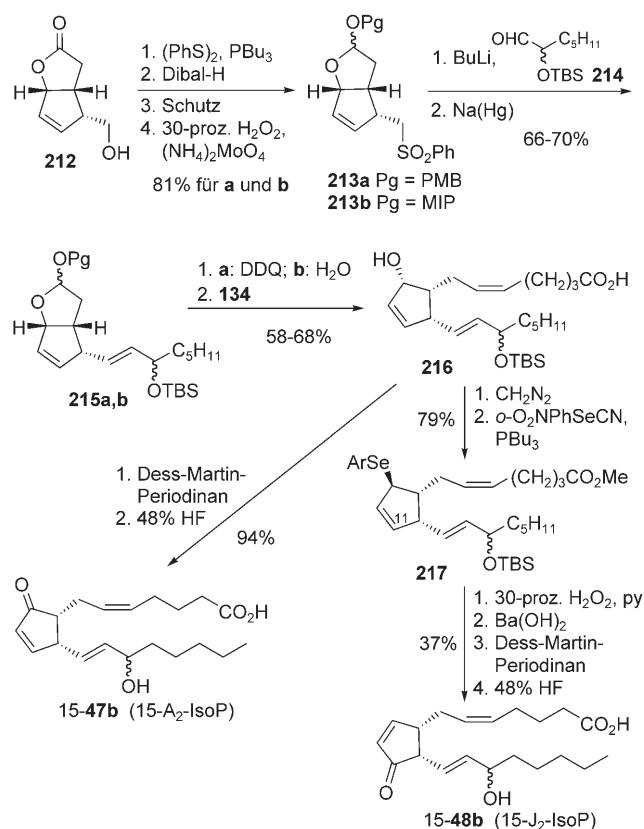


Schema 61. Totalsynthese von 15-F_{2c}-IsoP aus dem Corey-Lacton (**206**).

206 mit DBU und anschließende Luche-Reduktion führten zum entsprechenden Allylalkohol, aus dem durch Sharpless-Epoxydierung der Epoxyalkohol **207** in 72 % Ausbeute zugänglich war. Daraus wurde durch Swern-Oxidation und anschließende Wittig-Reaktion der γ,δ -Epoxy- α,β -ungesättigte Ester **208** erhalten. Die SmI₂-vermittelte reduktive Ringöffnung des Epoxids und der In-situ-Abfang des resultierenden Dienolats mit Hexanal ergaben ein Gemisch aus sechs diastereomeren Aldol-Additionsprodukten, die mit TBSOTf als Silylether **209** geschützt wurden. Auf dieser Stufe gelang die Trennung der 15R- und 15S-Epimere. Anschließend wurde das Olefin stereoselektiv hydriert und der Benzylester zum *cis*-dialkyl-substituierten Cyclopentan **210** mit freier Säure gespalten (nur 15S-Diastereomer gezeigt). Die oxidative Decarboxylierung lieferte selektiv das bicyclische Lacton **211** mit der 13,14-*E*-Olefin-Einheit. Klassische Lacton-Reduktion, Einführung der α -Kette über eine Wittig-Reaktion mit **134** und Entschützung ergaben sowohl 15-F_{2c}-IsoP (15-**2b**) als auch 15-*epi*-F_{2c}-IsoP.

Cyclopentenon-IsoP stehen im Zentrum der Arbeiten von Zanoni et al. Ihr Zugang zu den A₂- und J₂-IsoP beruht auf

der Vorstufe **212**, die durch eine Palladium(II)-katalysierte Translactonisierung bicyclischer Lacton-Isomere herstellbar ist (Schema 62).^[237a] Daraus wurden die bicyclischen Sulfone **213a** oder **213b** in guter Gesamtausbeute über eine vierstu-



Schema 62. Totalsynthese von 15-A₂-IsoP und 15-J₂-IsoP nach Zanoni et al.^[237a]

fige Sequenz aus Substitution der Hydroxy-Gruppe zum Sulfid, Reduktion des Lactons zum Lactol, Schutz des Lactols als PMB- oder MIP-Acetal und Sulfid-Oxidation synthetisiert.^[202a] Diese gingen eine Julia-Lythgoe-Olefinition mit dem α -Silyloxyaldehyd **214** zu den bicyclischen Derivaten **215a,b** ein, in denen die ω -Seitenkette die gewünschte *E*-Konfiguration hat. Das C₂₀-Cyclopentenol-Gerüst **216** wurde durch Entschützung der Lactol-Einheit und anschließende Wittig-Reaktion mit **134** erhalten. Dess-Martin-Oxidation von **216** und Entschützung des verbleibenden TBS-Ethers komplettierten die Totalsynthese von 15-A₂-IsoP (15-**47b**) als ein C15-Diastereomerengemisch.

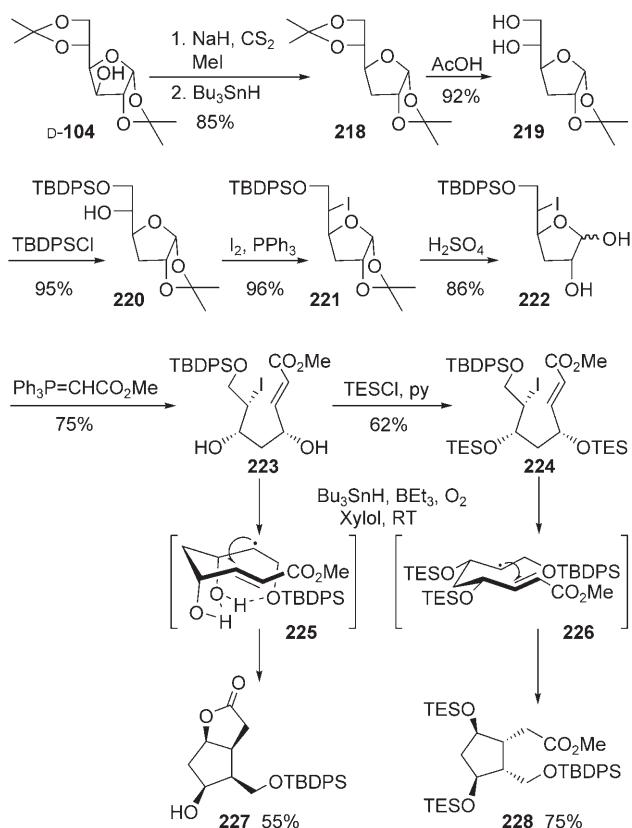
Die Synthese von 15-J₂-IsoP (15-**48b**) gelang in sechs Stufen aus **216**. Dazu wurde die Carbonsäure mit Diazomethan verestert und der Allylalkohol ins Selenid **217** umgewandelt.^[202b] Dessen Umsetzung mit Wasserstoffperoxid in Pyridin löste eine [2,3]-sigmatrope Umlagerung zum entsprechenden Allylalkohol in 11-Position aus. Durch Esterverseifung, Oxidation des Cyclopentenols zum Cyclopentenon und TBS-Entschützung wurde die Totalsynthese von 15-J₂-IsoP als ein C15-Diastereomerengemisch abgeschlossen.

Zanoni und Mitarbeiter publizierten vor kurzem die erste Synthese von 14-A₄-NeuroP auf einem analogen Weg.^[237b]

7.1.4. Cyclisierungsreaktionen und folgende Einführung der verbleibenden Seitenkette (Weg C)

7.1.4.1. Radikalcyclisierungen

Da sich Radikalcyclisierungen gut zur Synthese von Cyclopentanringen mit *cis*-Konfiguration eignen,^[55] sind sie sehr nützlich zur Herstellung von IsoP. Zu Beginn der 1990er Jahre präsentierte die Durand/Rossi-Gruppe sowie Rokach und Mitarbeiter gemeinsam die Synthese des Schlüsselintermediats **227**, eines Diastereomers von Coreys Formyllacton, aus einem acyclischen Thionocarbonat.^[238] Durand und Rossi entwickelten darauf aufbauend Radikalcyclisierungen der funktionalisierten Iod-Vorstufen **223** und **224** (Schema 63),



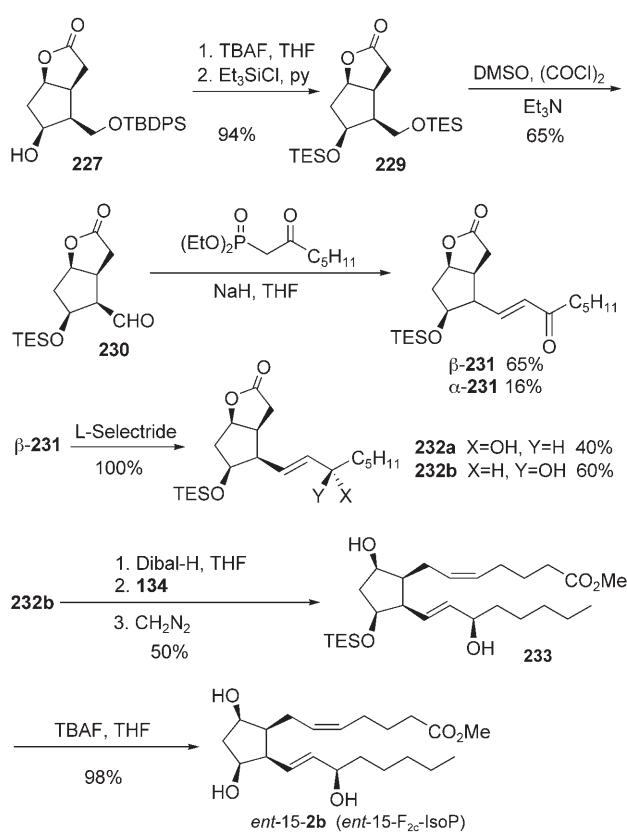
Schema 63. Radikalcyclisierungen zu den zentralen IsoP-Intermediaten **227** und **228** nach Durand, Rossi et al.^[238]

die die zuvor genutzten Thionocarbonate^[238] vorteilhaft ersetzten. Die Synthese von **227** begann mit der käuflichen Glucofuranose **D-104**, die durch eine Barton-McCombie-Reaktion in 85 % Ausbeute in den 3-Desoxyzucker **218** umgewandelt wurde. Die selektive Entfernung der Isopropyliden-Gruppe in der 5,6-Position führte durch Einwirkung von 70-proz. wässriger Essigsäure in guter Ausbeute zum Diol **219**. Der folgende Schutz des primären Alkohols mit 1.1 Äquivalenten *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid und Imidazol in DMF ergab den Monosilylether **220**. Die Einführung von

Iod in die C5-Position zu **221** gelang mit I₂, Ph₃P und Imidazol in Xylo nach einer früher von Durand, Rossi et al. entwickelten Prozedur in 96 % Ausbeute.^[239]

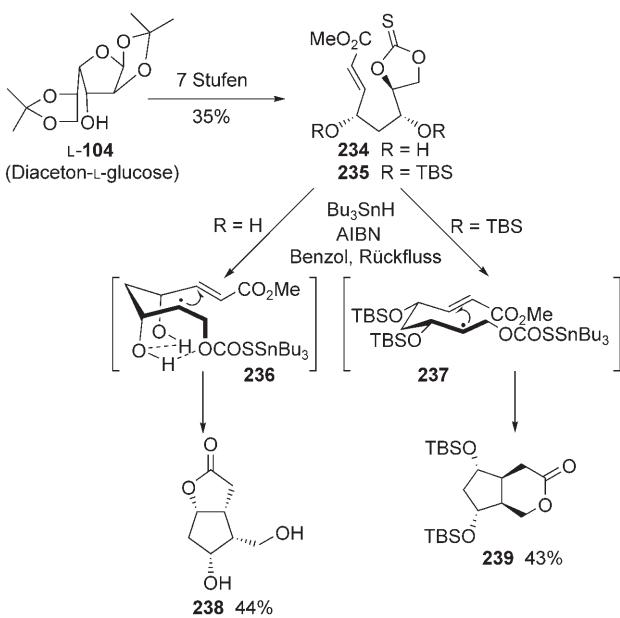
Die Hydrolyse der Isopropyliden-Einheit in der 1,2-Position zum Diol **222** gelang durch Reaktion mit 10-proz. wässriger Schwefelsäure in THF/Dioxan (3:1) in 86 % Ausbeute. Die nächste Stufe bestand aus einer Wittig-Reaktion mit Triphenylphosphoranylideneessigsäuremethylester und lieferte die Cyclisierungsvorstufe **223** in 75 % Ausbeute. Schützen der zwei Hydroxy-Gruppen in **223** mit Triethylsilylchlorid in Pyridin führte in 62 % Ausbeute zu **224**. Die entscheidenden 5-*exo*-Radikalcyclisierungen beider Substrate wurden mit Tributylzinnhydrid als Reagens und Triethylboran/Sauerstoff als Initiator bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Faktoren, die die Diastereoselektivität der Cyclisierung dieser mehrfach oxygenierten 5-Hexenyl-Radikale steuern, wurden sorgfältig untersucht. Das Schutzgruppenmuster an den zwei sekundären Hydroxy-Gruppen in **223** und **224** wirkte sich sehr stark auf das Ergebnis der Cyclisierung aus.^[240] **223** cyclisiert bevorzugt über einen Wasserstoffbrücken-gebundenen Übergangszustand **225** zu *all-cis*-**227**. Dagegen geht das Bis(TES)-Derivat **224** die Cyclisierung über einen Beckwith-Houk-Übergangszustand **226** zu *syn-anti-syn*-**228** ein. Alle für *D*-Glucose gezeigten Reaktionen wurden auch mit *L*-Glucose ausgeführt, um alle Stereoisomere der *syn-anti-syn*- und *all-cis*-Cyclopentan-Familien zugänglich zu machen.

227 und **228** ermöglichen die Synthese einer ganzen Reihe von enantiomerenreinen IsoP, NeuroP und PhytoP. Dazu wurden folgende Transformationen genutzt: a) aufeinander folgende Einführung der Seitenketten durch Wittig- und/oder HWE-Reaktionen, b) Schutzgruppenmanipulationen, c) regioselektive Oxidationen, d) asymmetrische Reduktionen. Ein Beispiel ist die erste Totalsynthese von *ent*-15-F_{2c}-IsoP (*ent*-15-**2b**), die 1996 ausgehend vom Lacton **227** erfolgte (Schema 64).^[241] Die Entschützung der TBDPS-Gruppe und der anschließende Schutz beider Alkohol-Funktionen mit Triethylsilylchlorid in Pyridin ermöglichen die Synthese des Lactons **229** in quantitativer Ausbeute. Die folgende Eintopfsequenz aus Entschützung und Swern-Oxidation von **229** lieferte das labile Formyllacton **230** in 65 % Ausbeute. Die ω -Kette wurde durch eine HWE-Reaktion mit 2-Oxoheptanphosphonsäurediethylester/NaH in *all-cis*-**230** eingeführt und ergab das Enon β -**231** in 65 % Ausbeute sowie 16 % des epimerisierten Derivats α -**231**. Die Transformation von β -**231** in *ent*-15-F_{2c}-IsoP-Methylester wurde in Anlehnung an die Methode von Vionnet und Renaud erreicht.^[242] So lieferte die Reduktion der Keto-Funktion mit L-Selectride quantitativ ein 2:3-Gemisch der leicht trennbaren epimeren Alkohole **232a** und **232b**. Das Hauptisomer **232b** reagierte mit Dibal-H in THF in 71 % Ausbeute zum Lactol. Daran wurde die α -Kette durch eine Wittig-Reaktion mit **134** angeknüpft, und die Veresterung mit Diazomethan ergab **233** in 70 % Ausbeute. Die Synthese von *ent*-15-F_{2c}-IsoP-Methylester (*ent*-15-**2b**) wurde durch Entschützung der Silylether mit *n*Bu₄NF in THF in quantitativer Ausbeute abgeschlossen. Die IsoP, NeuroP, PhytoP und IsoP-Metabolite in Schema 65 wurden über den Radikalcyclisierungszugang synthetisiert.^[243]

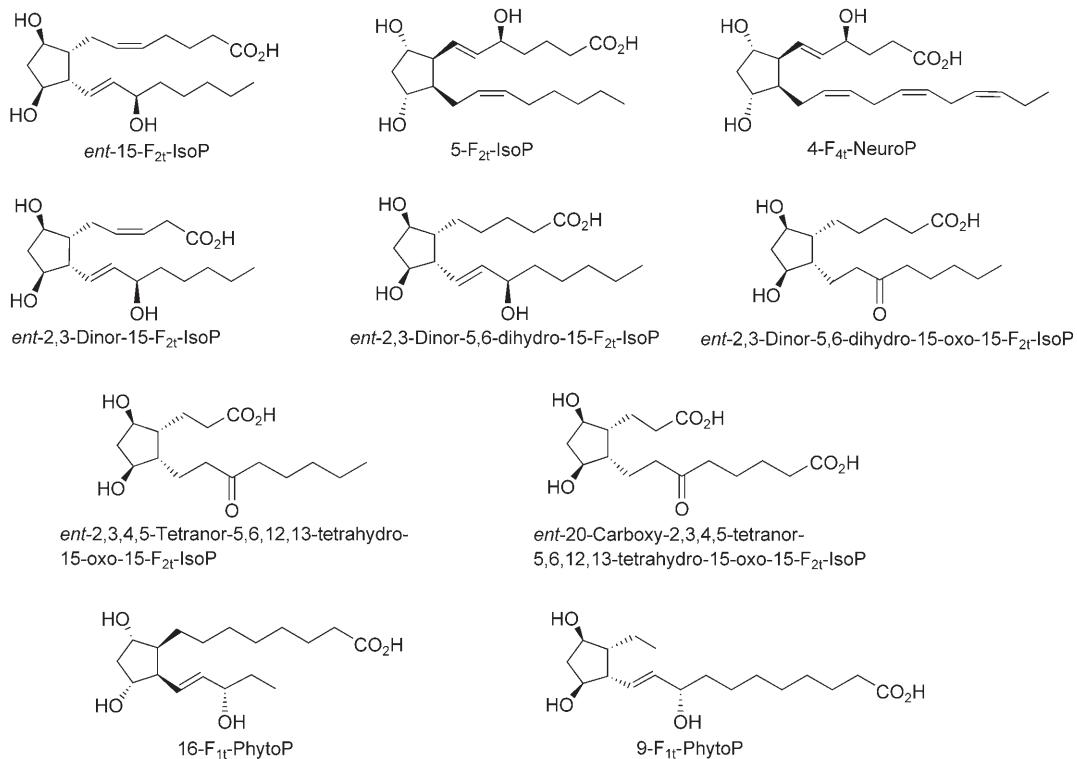


Schema 64. Totalsynthese von *ent*-15-F_{2c}-IsoP nach Durand, Rossi et al.^[241]

Rokach et al. nutzten die von Diaceton-L-glucose (**L-104**) abgeleiteten cyclischen Thionocarbonate **234** und **235** als Radikalcyclisierungsvorstufen, die sich als sehr effizient zur Erzeugung des sekundären Radikals für die Cyclisierung erwiesen (Schema 66).^[244] Darüber hinaus lassen sich durch die

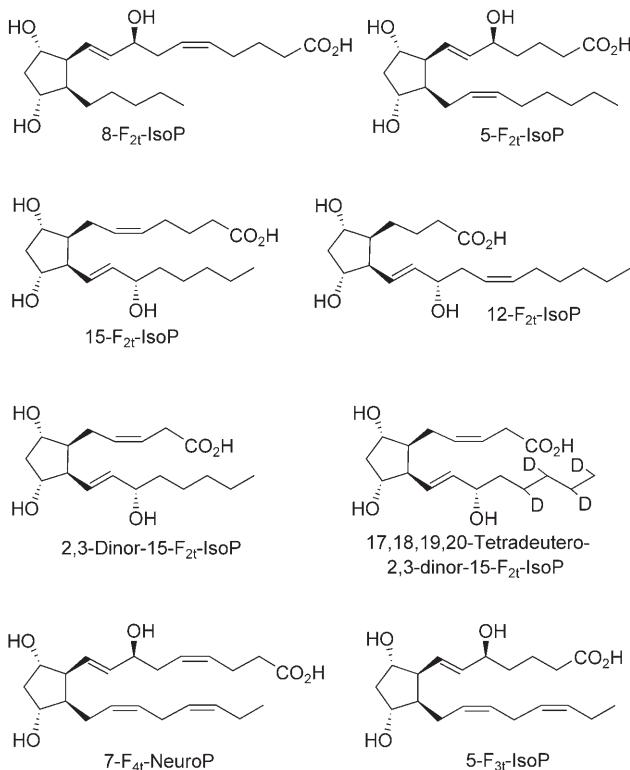


Schema 66. Radikalcyclisierungen zu den bicyclischen Lactonen **238** und **239** nach Rokach et al.^[244]



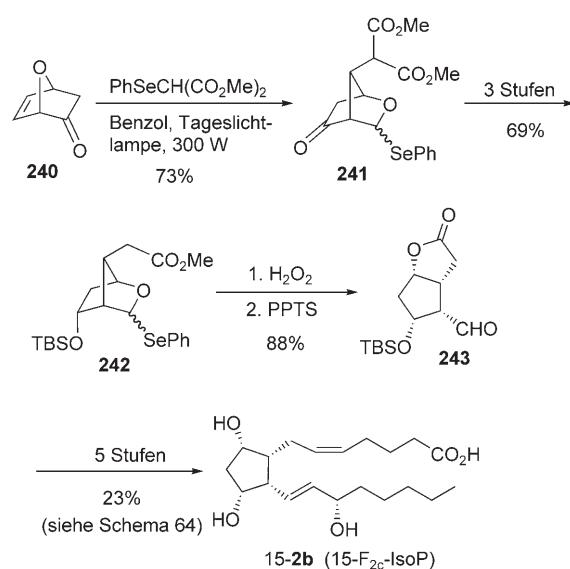
Schema 65. Auf dem Durand/Rossi-Radikalcyclisierungsweg synthetisierte IsoP-Klassen.

Anwendung des Thionocarbonats Schutzgruppenmanipulationen der primären Hydroxy-Gruppe vermeiden. Die Diastereoselektivität der 5-*exo*-Radikalcyclisierungen ist auch vom Schutzgruppenmuster abhängig. Aus **234** wird das Oxabicyclo[3.3.0]octanon-Ringsystem **238** über einen Wasserstoffbrücken-gebundenen Übergangszustand **236** gebildet, während das Oxabicyclo[4.3.0]nonanon-System **239** aus **235** über einen Beckwith-Houk-Übergangszustand **237** entsteht. Diese Strategie ermöglichte die Totalsynthese der 5-, 8-, 12- und 15-F_{2t}-IsoP-Klassen, der 7-Serie der F₄-NeuroP, von 15-F_{2t}-IsoP-Metaboliten sowie von isotopenmarkierten Vertretern der vier F₂-IsoP-Serien (Schema 67).^[15c, 105c, 109]



Schema 67. Von Rokach et al. synthetisierte IsoP-Klassen.^[15c, 105c, 109]

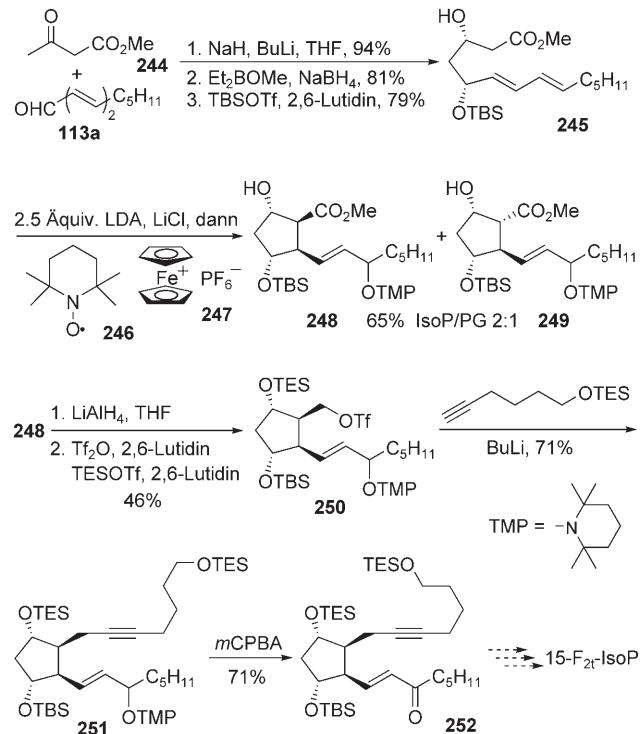
Renaud und Vionnet berichteten 1994 über die konvergente Totalsynthese von 15-F_{2c}-IsoP (15-**2b**) ausgehend von (\pm)-7-Oxabicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-on (**240**).^[242] Eine Sequenz aus Gruppentransfer-Radikaladdition von Phenylselenylmalonsäuredimethylester und Acylwanderung führte unter Belichtung zum umgelagerten Produkt **241** (Schema 68). Die folgenden Stufen bestanden aus der Reduktion des Ketons, der Decarboxylierung des Malonats sowie dem Schutz des sekundären Alkohols und lieferten den *endo*-Silyloxybicyclus **242**. Die anschließende oxidative Acetal-Hydrolyse und saure Lactonisierung ergaben das *all-cis*-Formyllacton **243** unter milden Bedingungen. Die ω -Kette wurde durch Umsetzung mit 2-Oxoheptanphosphonsäuredimethylester/NaH in einer HWE-Reaktion eingeführt. Die Wahl der richtigen Silylschutzgruppe erwies sich bei dieser Stufe als sehr wichtig, um die kompetitive Eliminierung und Epimerisierung zu verhindern. Die letzten Stufen der Syn-



Schema 68. Totalsynthese von 15-F_{2c}-IsoP nach Vionnet und Renaud.^[242]

these von 15-F_{2c}-IsoP orientieren sich an einer der PGF_{2a}-Synthesen von Corey et al. (siehe Schema 64).^[245]

Jahn und Mitarbeiter entwickelten einen Zugang zum F_{2t}-IsoP-Gerüst basierend auf oxidativen, durch Elektronentransfer induzierten Cyclisierungen von 3-Hydroxyester-Dianionen (Schema 69).^[246] Die Cyclisierungsvorstufe **245** wurde in drei Stufen durch vinyloge Aldol-Addition des Dianions von Acetessigsäuremethylester **244** mit 2,4-Decadien-1,13a, *syn*-selektive Keton-Reduktion mit Diethyl-

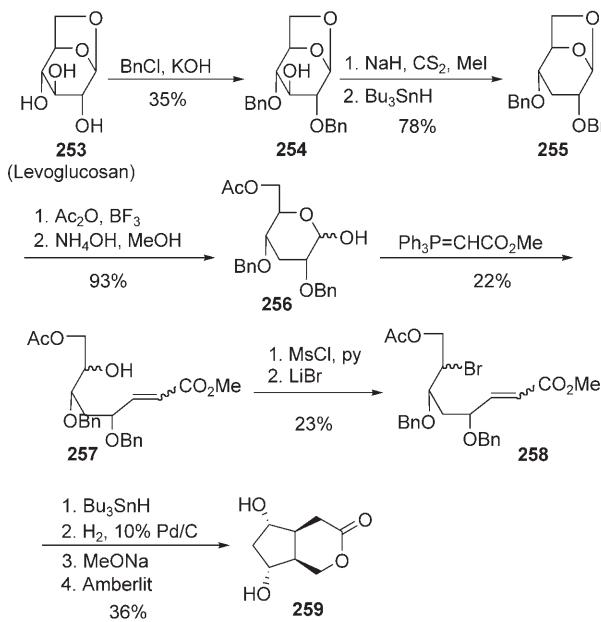


Schema 69. Synthese des IsoP-Gerüsts durch oxidative Cyclisierung nach Jahn et al.^[246]

(methoxy)boran und Natriumborhydrid sowie einen hoch selektiven Schutz der Allylalkohol-Funktion als TBS-Ether synthetisiert. Schlüsselschritt der Synthese war die oxidative Cyclisierung des Dianions von **245**, das durch Deprotonierung des Alkohols und des Esters mit einem Überschuss LDA erzeugt wurde. Durch Einelektronenoxidation der Enolat-Einheit mit Ferroceniumhexafluorophosphat (**247**) entstand das Radikal-anion, das eine *5-exo*-Radikalcyclisierung einging. Das resultierende Allylradikal wurde durch das stabile freie Radikal TEMPO (**246**) hoch regioselektiv in 15-Position oxygeniert. Die Diastereoselektivität der Cyclisierung für das IsoP-konfigurierte Isomer **248** über das PG-Isomer **249** war moderat. Die Oxygenierung mit TEMPO verlief wie erwartet nicht diastereoselektiv.

Die Reduktion des Cyclopentancarbonsäureesters **248** mit LiAlH_4 ergab den Alkohol, aus dem **250** selektiv durch O_3 -Triflierung/ O' -TES-Schutz in einer Eintopfreaktion erhalten wurde. Die Einführung der C1–C6-Kette zum C_{20} -Gerüst **251** gelang durch die Alkylierung des Lithiumacetylids des TES-Ethers von 5-Hexinol in guter Ausbeute. Der Schutz der Hydroxy-Gruppe in 9-Position war für den Erfolg dieser Stufe unerlässlich. Die TMP-Gruppe wurde anschließend durch Reaktion mit *m*CPBA oxidativ zum Enon **252** entfernt. Hiervon ausgehend kann die Synthese von 15-F_{2t}-IsoP in einigen Stufen beendet werden.

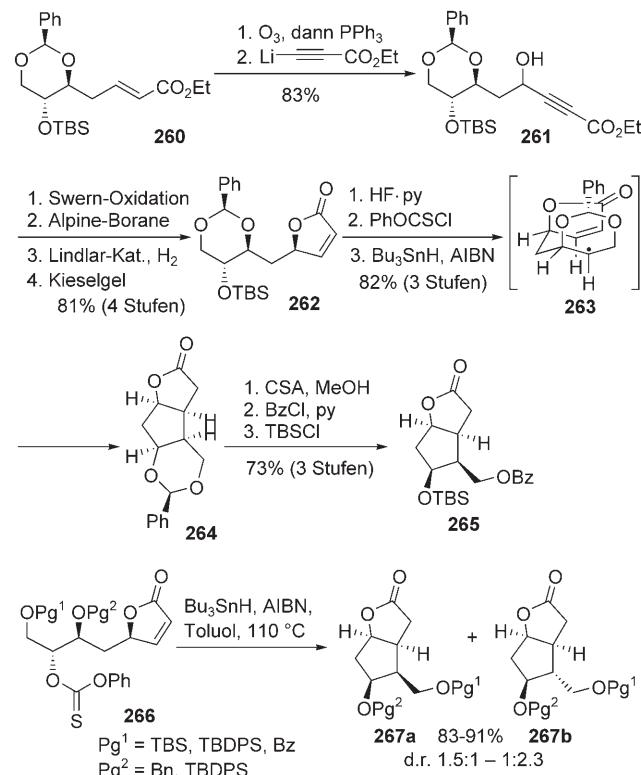
Andere Gruppen entwickelten Radikalcyclisierungen, die zu cyclischen IsoP-Vorstufen führen. Tolstikov et al. berichteten 1992 über die Synthese von nützlichen PG- und IsoP-Intermediaten, besonders die des bicyclischen *syn-anti-syn*-Derivats **259** (Schema 70).^[247] Ausgangsmaterial war Levoglucosan (**253**). Der daraus zugängliche Dibenzylether **254** wurde durch eine Barton-McCombie-Reaktion desoxygiert. Transacetalisierung und Acetylierung von **255** ergab das Zuckerderivat **256**, das durch eine Wittig-Reaktion in den α,β -ungesättigten Ester **257** umgewandelt wurde. Daran schloss sich eine in 23% Ausbeute verlaufende, zweistufige



Schema 70. Zugang zur F_{2t}-IsoP-Vorstufe **259** nach Tolstikov et al.^[247]

Finkelstein-Reaktion zum Bromid **258** an. Dessen Radikalcyclisierung in Gegenwart von Bu_3SnH ergab den gewünschten Cyclopentanring. Nach Abspaltung der Benzyl- und Acetat-Schutzgruppen sowie Lactonisierung unter sauren Bedingungen wurde **259** in 36% Ausbeute erhalten.

Mulzer et al. entwickelten eine formale Synthese von enantiomerenreinem *ent*-15-F_{2c}-IsoP (*ent*-15-**2b**) durch 5-*exo*-Radikalcyclisierung an Butenolide (Schema 71).^[248] Ausge-

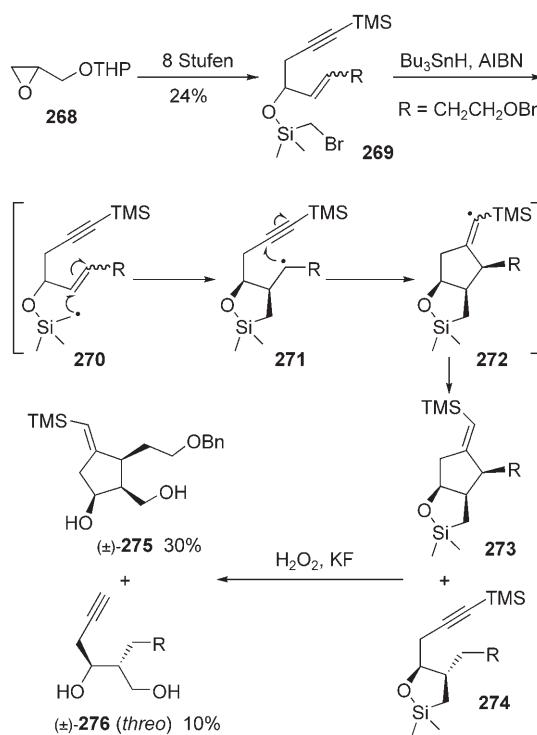


Schema 71. Synthese der 15-F_{2c}-IsoP-Intermediate **265**–**267** nach Mulzer et al.^[248]

hend vom α,β -ungesättigten Ester **260** wurde die Kette durch Ozonolyse und nucleophile Addition des Lithiumacetylids von Propiolsäureethylester zum als Diastereomerengemisch isolierten 4-Hydroxyalkinsäureester **261** verlängert.^[248a] Die Korrektur der Konfiguration des Alkohols gelang durch eine Sequenz aus Swern-Oxidation und Reduktion mit Alpine-Borane. Die Butenolid-Einheit in **262** wurde durch eine Z-selektive Semihydrierung mit dem Lindlar-Katalysator und anschließende Lactonisierung in Gegenwart von Kieselgel einfach aufgebaut. Die Entschützung der TBS-Gruppe in **262** und folgende Acylierung des sekundären Alkohols mit Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester ergab die Radikalcyclisierungsvorstufe. Aus der entscheidenden 5-*exo*-Radikalcyclisierung unter Verwendung von Tributylzinnhydrid/AIBN wurde ein einziges tricyclisches Diastereomer **264** in hoher Ausbeute erhalten, das die notwendige *all-cis*-Konfiguration am zentralen Cyclopentanring aufweist. Die Stereoselektivität der Cyclisierung ist über einen *cis*-Decalin-Übergangszustand **263** zu erklären.^[249] Aus **264** konnte das Schutzgruppenmuster in drei Stufen zu **265** eingestellt werden.

Der Einsatz einer Reihe unterschiedlich geschützter monocyclischer Butenolide **266** bei den Radikalcyclisierungen ermöglichte zwar die Synthese der bicyclischen Lactone **267a** und **267b** unter ähnlichen Bedingungen in hohen Ausbeuten, die Diastereoselektivität war jedoch nur moderat.^[248b] Die Anknüpfung der ω -Kette gelang durch Entfernung der Benzoyl-Gruppe aus **265**, Swern-Oxidation und HWE-Reaktion unter Anwendung der milden Masamune-Roush-Variante, die ohne detektierbare Epimerisierung verlief (siehe Schema 64).

Lucas et al. entwickelten 1999 eine Tandem-Radikalcyclisierungsstrategie zu all-*cis*-substituierten Isoprostanoïd-Vorstufen unter Nutzung des α -funktionalisierten allylischen (Brommethyl)dimethylsilylethers **269** (Schema 72).^[250] Die



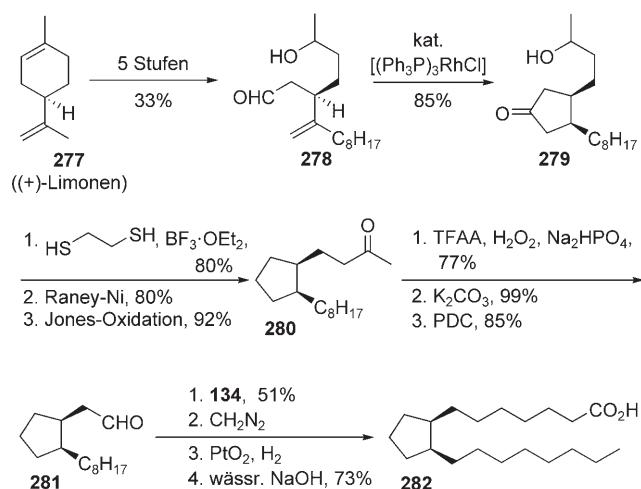
Schema 72. Synthese des IsoP-Bausteins **275** nach Lucas et al.^[250]

Cyclisierungsvorstufe, der Homopropargylsilylether **269**, wurde in acht Stufen aus Tetrahydropyranylglycidol (**268**) in 24% Ausbeute synthetisiert. **269** ging die Tandem-5-*exo*-trig/5-*exo*-dig-Cyclisierung über die Radikale **270**–**272** ein und ergab das erwartete Oxasilabicyclo[3.3.0]octan **273** und das monocyclische Oxasilacyclopentan **274**, aus denen durch Tamao-Fleming-Oxidation das Cyclopentan **275** und das acyclische Diol **276** in 30 bzw. 10% Ausbeute erhalten wurden. Das Cyclopentandiol **275** könnte als Vorstufe zu IsoP dienen, deren Synthese muss aber noch abgeschlossen werden.

7.1.4.2. Übergangsmetall-katalysierte Cyclisierungen zur Synthese von IsoP

Das Monoterpen Limonen (**277**) diente als Ausgangsverbindung aus dem chiralen Pool für eine Synthese von 8-

Isoprostansäure (**282**), dem Grundkörper der IsoP, mit einer Rhodium-katalysierten Hydroacylierung als Schlüsselschritt (Schema 73).^[251] In fünf Stufen wurde zuerst der Hydroxyaldehyd **278** aus **277** hergestellt. Die intramolekulare, durch den

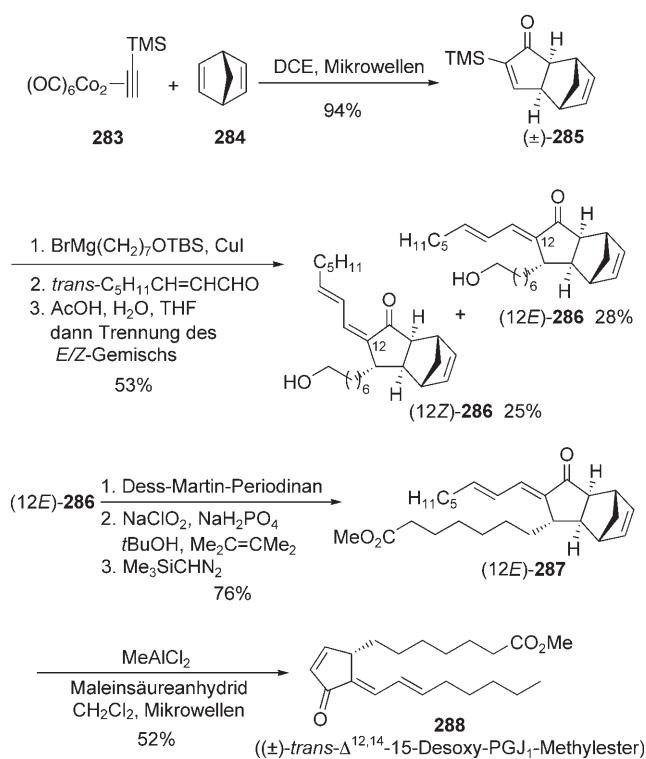


Schema 73. Synthese von Isoprostansäure (**282**) nach Sakai et al.^[251]

Wilkinson-Komplex katalysierte Hydroacylierung von **278** lieferte das diastereomerenreine *cis*-3,4-Dialkylcyclopentanon **279** in hoher Ausbeute. Die notwendige Entfernung der Keto-Funktion gelang durch Dithioacetalisierung und folgende reduktive Desulfurierung. Eine Jones-Oxidation gab nachfolgend das Keton **280**. Die Synthese wurde mit einer Trifluorperessigsäure-vermittelten Baeyer-Villiger-Oxidation, der Hydrolyse des resultierenden Acetats und Oxidation des Alkohols mit PDC zum Aldehyd **281** fortgesetzt. Die Einführung der α -Kette gelang durch eine Wittig-Reaktion mit **134**. Die Synthese von **282** wurde durch Veresterung, Platin-katalysierte Hydrierung und Verseifung des Methylesters vervollständigt.

Evans und Mitarbeiter nutzten eine interessante Pauson-Khand-Strategie zur Synthese von J-IsoP oder -PhytoP (Schema 74).^[252] Die Reaktion von $\{Co_2(CO)_6\}$ -komplexiertem Trimethylsilylacetylen (**283**) mit Norbornadien (**284**) führte zum racemischen Schlüsselintermediat **285**. Die Ausbeute konnte durch Einstrahlung von Mikrowellen erhöht werden. Die folgenden Schritte zum Aufbau der kreuzkonjugierten Dienon-Einheit in **286** sind eine Adaption der häufig bei der Synthese von PG angewendeten Dreikomponentenkupplung. Die Seitenketten wurden nacheinander durch Kupfer(I)-katalysierte konjugierte Addition von 7-Silyloxyheptylmagnesiumbromid an **285** und Aldol-Addition von *trans*-2-Octenal eingeführt, woran sich eine sofortige Peterson-Olefinierung unter sauren Bedingungen anschloss, die **286** direkt als ein anfängliches 12E/12Z-Dien-Gemisch (1:3) ergab.

Nach Entfernung der Silyl-Schutzgruppen und Trennung wurden die einzelnen Isomere (12Z)- und (12E)-**286** in 25 bzw. 28% Ausbeute isoliert. Die Autoren nannten diese Sequenz „konjugierte Addition-Peterson-Olefinierung“. Die anschließende Transformation des primären Alkohols zum

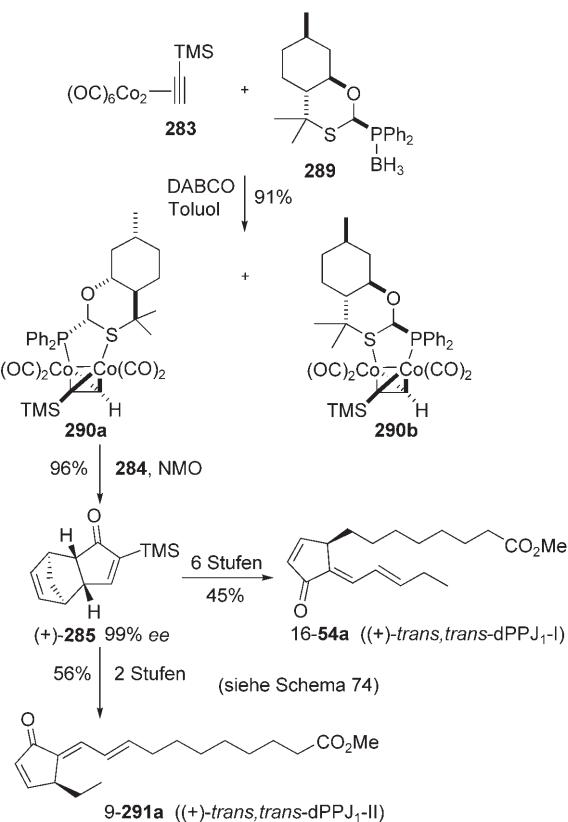


Schema 74. Totalsynthese von (\pm) -trans- $\Delta^{12,14}$ -15-Desoxy-PGJ₁-Methylester (288) nach Evans et al.^[252]

Methylester **287** gelang in drei Stufen in guter Ausbeute durch Dess-Martin-Oxidation des Alkohols **(12E)-286** zum Aldehyd, der mit Natriumchlorit zur Carbonsäure weiteroxidiert wurde, und Veresterung mit Trimethylsilyldiazomethan. Die Totalsynthese wurde durch eine Retro-Diels-Alder-Reaktion des Cyclopentadienyl-geschützten Methylesters **287** mit MeAlCl_2 und Maleinsäureanhydrid unter Mikrowellenerhitzung in 52% Ausbeute zu (\pm) -trans- $\Delta^{12,14}$ -15-Desoxy-PGJ₁-Methylester (**288**) und 14% seines *cis*-Isomers beendet.

Die Synthese der optisch aktiven 13,14-Dehydro-12-oxo-phytodienäuren (Desoxy-J₁-phytoprostane) **16-54a** und **9-291a** wurde 2005 in einer Gemeinschaftsarbeit der Gruppen von Evans und Riera mithilfe einer asymmetrischen Version des obigen Zugangs realisiert (Schema 75).^[208b] Durch Ligandenaustausch von **283** mit dem zweizähnigen chiralen Liganden **289** erhielten sie in Toluol unter Verwendung von DABCO in guter Ausbeute die zwei diastereomeren Cobalt-Komplexe **290a** und **290b**, deren Trennung durch Umkristallisation und/oder chromatographisch gelang. Die Pauson-Khand-Reaktion von **290a** mit Norbornadien (**284**) lieferte **(+)-285** in Gegenwart von NMO in Dichlormethan in exzellerter Ausbeute und mit hohem Enantiomerenüberschuss.

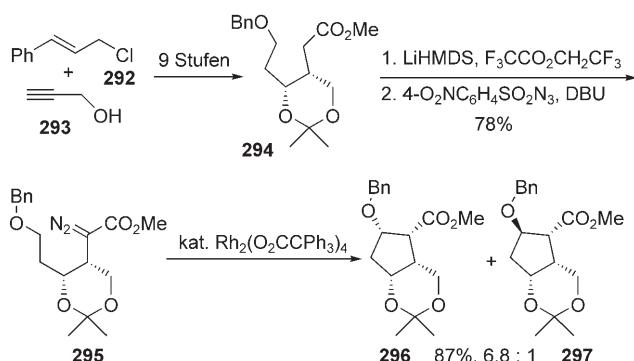
Unter ähnlichen Bedingungen wie bei der Synthese des racemischen Produkts **288** (siehe Schema 74) gelang die Synthese von $(+)$ -trans,trans-dPPJ₁-I (**16-54a**) als reinem Enantiomer aus **(+)-285** über eine sechsstufige Sequenz einschließlich 1,4-konjugierter Addition von 7-(Silyloxy)heptylmagnesiumbromid, der Peterson-Olefinition mit *trans*-2-Pentenal und der Entfernung der Cyclopentadienyl-Schutzgruppe mit MeAlCl_2 und Maleinsäureanhydrid unter Mikrowellenerhitzung in 56% Ausbeute.



Schema 75. Totalsynthese der $(+)$ -trans,trans-dPPJ₁ **54a** und **291a** nach Evans, Riera et al.^[208b]

wellenbestrahlung. Eine ähnliche Sequenz mit Lithiumdiethylcuprat und dem entsprechend funktionalisierten α,β -ungesättigten Aldehyd ergab $(+)$ -trans,trans-dPPJ₁-II (**9-291a**) in guter Ausbeute.

Taber und Mitarbeiter ersannen einen Zugang, der auf einer C-H-Insertion zu einer zentralen F_{2c}-IsoP-Vorstufe **294** beruhte (Schema 76).^[253] Der geschützte Ester **294**, der in neun Stufen aus Cinnamylchlorid **292** und Propargylalkohol **293** zugänglich ist, wurde mithilfe einer Diazo-Transferreaktion in den Diazoester **295** umgewandelt. Dieser ging eine durch das sterisch sehr anspruchsvolle Dirhodiumtetakis(triphenylacetat) katalysierte intramolekulare C-H-Insertion



Schema 76. Synthese eines F_{2c}-IsoP-Intermediats **296** durch intramolekulare C-H-Insertion nach Taber et al.^[253]

tion zum all-*cis*-Cyclopentancarbonsäureester **296** in guter Ausbeute und akzeptabler Diastereoselektivität ein.

7.1.4.3. IsoP-Synthesen auf Basis von Furan-Ringtransformation

Spur und Rodríguez entwickelten sehr effiziente Synthesen, besonders von E-IsoP und -PhytoP, über eine Zweikomponentenkupplung, die normalerweise zur Synthese von PG und Analoga genutzt wird.^[254] Durch einfache Modifizierung der Aufarbeitungsbedingungen unter Nutzung chelatisierender Protonenquellen wurde aber ein Wechsel von der *trans*-Dialkyl-Konfiguration der PG zur *cis*-Dialkyl-Konfiguration in IsoP erreicht.^[255] Die Synthese der chiralen Cyclopentenon-Komponente **302a** begann mit einer Friedel-Crafts-Acylierung von Furan mit dem gemischten Anhydrid von Azelainsäuremonomethylester und führte zum Furoylester **298a** (Schema 77).^[256a] NaBH₄-Reduktion des Ketons und anschließende durch ZnCl₂ initiierte Umlagerung in wässrigem Dioxan lieferten das 4-Hydroxycyclopentenon **300a**. Das Reaktionsergebnis kann über eine Ringöffnung des Furan-Rings zum Intermediat **299** und eine anschließende intramolekulare Aldol-Addition erklärt werden. Die Umsetzung von **300a** mit Chloral führte in 68 % Gesamtausbeute zum stabileren 4-Hydroxycyclopentenon **301a**.

Enzymatische Racematspaltung und Schutz des Alkohols als TBS-Ether ergaben **302a**. Durch Lithium-Iod-Austausch und Transmetallierung wurde aus dem Vinyliodid **303** ein chirales Organokupfer-Reagens erzeugt, das eine konjugierte Addition an **302a** einging. Durch Zugabe des resultierenden 2,3-Dialkylcyclopentanonenolat-Intermediats zu einer kalten Lösung von Acetessigsäuremethylester bildete sich das *cis*-2,3-Dialkylcyclopentanon-System mit 72 % Selektivität. Die Entfernung der TBS-Gruppe und Ester-Hydrolyse führten zu 16-*epi*-16-E₁-PhytoP (16-*epi*-**45a**); *ent*-16-E₁-PhytoP wurde

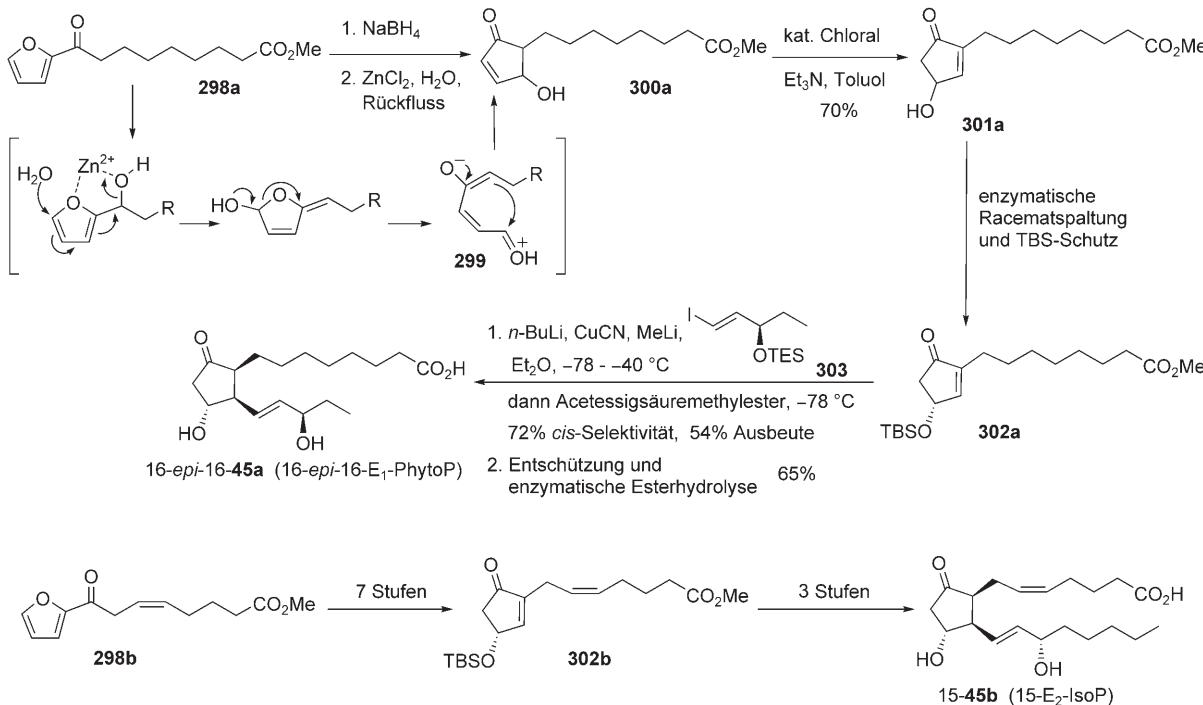
analog dazu aus dem Enantiomer von **302a** synthetisiert. Nach der gleichen Strategie, aber unter Verwendung von **298b**, wurden auch andere Isoprostane wie 15-E₂-IsoP (15-**45b**) hergestellt.^[256b,c]

2004 begann Durands Arbeitgruppe ausgehend von den zuerst von Freimanis et al.^[257] synthetisierten 4-Hydroxy-2-cyclopentenonen **306a,b** als gemeinsamen Vorstufen, neue und flexible Zugangswege zu B-, D- und E-IsoP oder B-, D- und E-PhytoP zu erkunden (Schema 78). Die Synthese von **306a,b** wurde durch eine Vilsmeier-Formylierung in 5-Position der Furane **304a,b** eingeleitet. Durch selektive Umlagerung der Aldehyde **305a,b** erhielten sie die Hydroxycyclopentenone **306a,b** in vier Stufen (siehe Schema 77). Diese wurden in drei weiteren Stufen in die 3-Oxocyclopenten-carbaldehyde **307a,b** transformiert. Durch Wittig-Reaktionen mit chiralen β-Hydroxyphosphoniumsalzen gelang daraus die Synthese der beiden Enantiomere von 16-B₁-PhytoP (16-**53a**) sowie der von 9-**17a**.^[258]

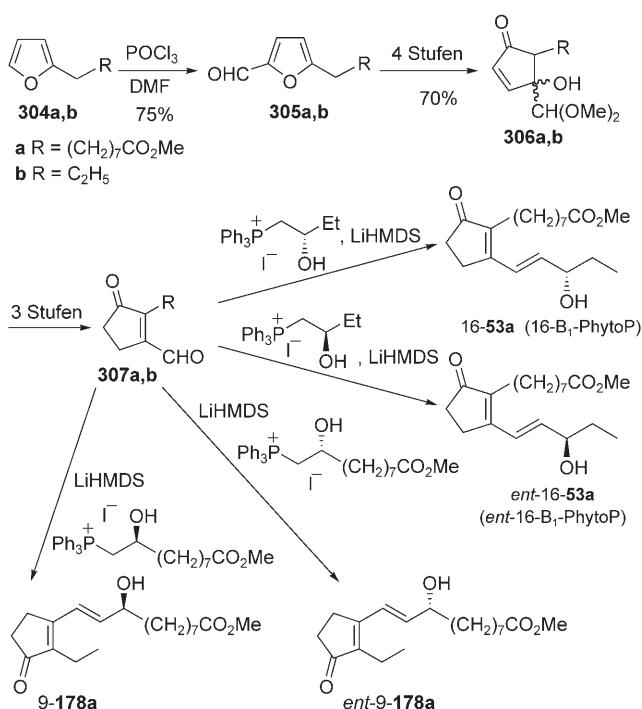
Des Weiteren wurde *trans*-3-(2-Furyl)acrylsäuremethylester (**308**) in sechs Stufen wie in Schema 78 gezeigt in das racemische 4-Hydroxycyclopentenon **309** überführt.^[259] Für **309** wurde eine effiziente enzymatische Racematspaltung zu den enantiomerenreinen Hydroxycyclopentenonen (*R*)-**309** und (*S*)-**309** durch Nutzung von CAL-B gefunden (Schema 79). Die Anwendung dieser Methodik zur Synthese von E- und D-IsoP oder E- und D-PhytoP wird gerade untersucht.

7.2. Totalsynthese von Isolevuglandinen

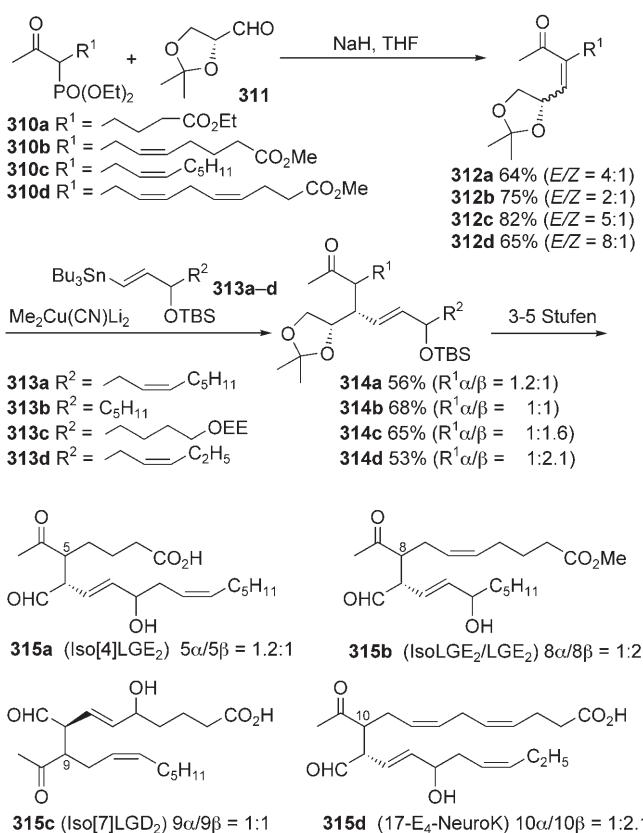
Der Synthese von IsoLG wurde viel weniger Aufmerksamkeit gewidmet. Den einzigen allgemeinen asymmetrischen Zugang zu verschiedenen IsoLG-Serien entwickelten



Schema 77. Totalsynthesen von E-IsoP und -PhytoP durch konjugierte Addition und *cis*-selektive Protonierung.



Schema 78. Totalsynthese von B-PhytoP auf dem Furan-basierten Weg nach Durand et al.^[258]



Schema 79. Enzymatische Racematspaltung der 4-Hydroxycyclopentenone 309 nach Durand et al.^[259]

Salomon und Mitarbeiter auf der Grundlage einer frühen Synthese von Levuglandinen (Schema 80).^[260a] Die Synthese begann mit einer HWE-Reaktion der β -Ketophosphonate 310a-d mit Glycerinaldehydacetond (311) als Quelle der Chiralität. Die 4,5-(Isopropylidendioxy)enone 312a-d wurden in guter Ausbeute und mit moderater bis guter *E/Z*-Selektivität isoliert. Der Aufbau der vollständigen C_{20} - oder

C_{22} -Kette gelang durch konjugierte Additionen von Vinylcupraten an 312. Das Organocuprat wurde *in situ* durch Transmetallierung des entsprechenden *E*-Vinylstannans 313a-d mit dem Cuprat höherer Ordnung $Me_2Cu(CN)Li_2$ erzeugt und sofort mit 312a-d umgesetzt. Die IsoLG-Intermediate 314a-d wurden in guter Ausbeute und mit exzellerter Diastereoselektivität hinsichtlich des Additionsschritts gebildet. Die anschließende Protonierung verlief dagegen ohne oder nur mit geringer Diastereoselektivität. Die so erhaltenen *syn*- und *anti*-Diastereomere waren in den meisten Fällen trennbar.

Einige einfache Schritte zur Adjustierung der funktionalen Gruppen bestehend aus Verseifung der C1-Ester-Funktion, Entfernung der TBS-Schutzgruppe und Freisetzung der Aldehyd-Gruppierung durch Glycolspaltung komplettierten die Totalsynthesen von Iso[4]LGE₂ (315a),^[260a] IsoLGE₂ (315b),^[260b] Iso[7]LGD₂ (315c) als *anti/syn*-Gemische^[260c] sowie von 17-E₄-NeuroK (315d).^[260d] Während der letzten Stufen fand eine Epimerisierung statt, und die isolierten *syn/anti*-Gemische der IsoLG 315a-d repräsentieren wahrscheinlich das thermodynamische Gleichgewicht, da beide getrennten Diastereomere der Produkte 314 das gleiche Diastereomerengemisch der entsprechenden IsoLG ergaben. Vor kurzem wurde von Roberts und Mitarbeitern eine sehr ähnliche Synthese von racemischen IsoLG durch Nutzung von Glyoxaldimethylacetal anstatt von Glycerinaldehyd entwickelt.^[261]

7.3. Totalsynthesen von Isofuranen

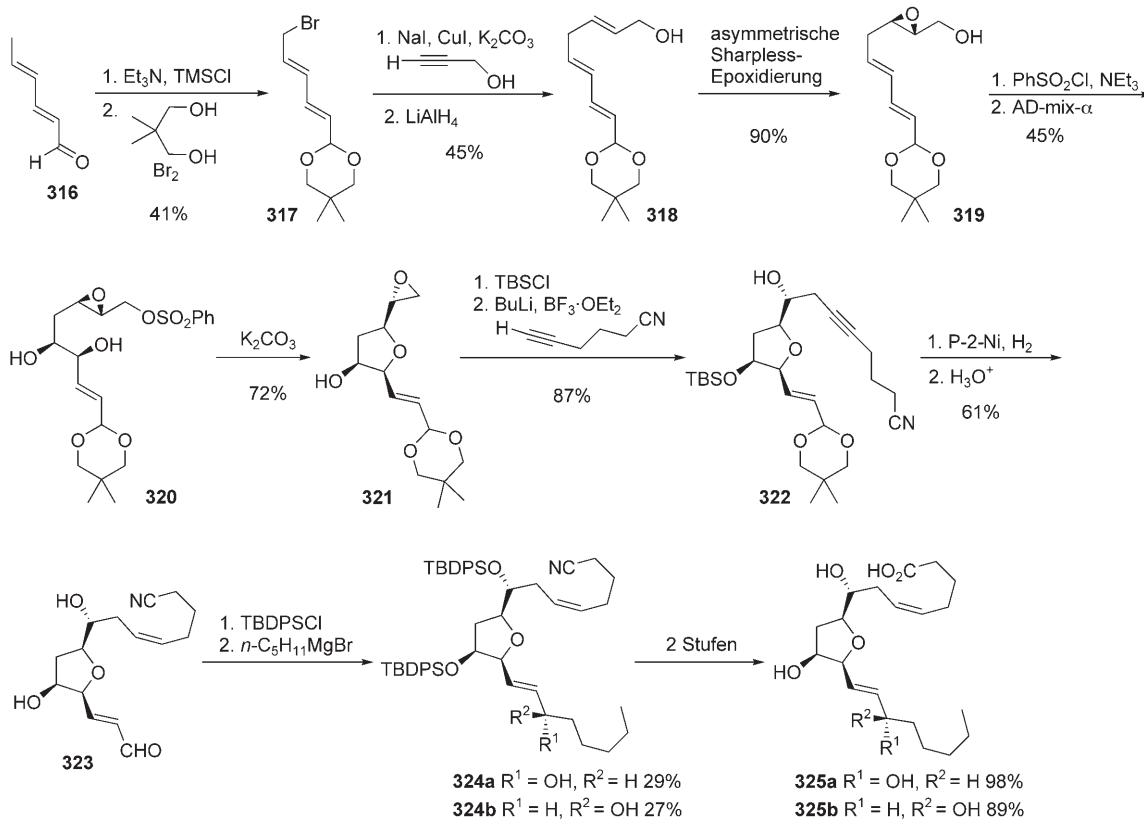
Taber und Mitarbeiter beschrieben 2004 eine flexible Totalsynthese von 8-*epi*-SC- Δ^{13} -9-IsoF (325a) und seinem 15-Epimer 325b über das vielseitig nutzbare Epoxid-Intermediat 320 (Schema 81).^[262] Die Synthese begann mit der Umwandlung von (*E,E*)-Sorbinaldehyd (316) in sein Silylenolether-Derivat, das durch Bromierung und Acetalisierung mit 2,2-Dimethylpropan-1,3-diol ins ω -Bromacetal 317 überführt wurde. Dessen Kettenverlängerung durch Alkylierung mit Propargylalkohol, anschließende Reduktion zu 318 und Sharpless-Epoxidierung lieferte das Epoxid 319. Das davon abgeleitete Benzolsulfonat wurde einer Sharpless-Dihydroxylierung mit AD-mix- α unter Bildung eines 1.3:1-Gemisches der regioisomeren Diole unterzogen (nur gewünschtes 320 gezeigt). Eine durch Kaliumcarbonat in Methanol induzierte Sequenz aus 5-*exo-tet*-Cyclisierung und intramolekularer Substitution ergab das Epoxid 321. An diesem Punkt ist die Umkehr der Konfiguration der Hydroxy-Gruppe im Ring durch eine Mitsunobu-Inversion als Zugang zur ST-Serie möglich (nicht gezeigt).

Der Aufbau des C1–C15-Gerüsts gelang ausgehend von 321 durch Schutz des sekundären Alkohols als TBS-Ether und nachfolgende Lewis-Säure-assistierte Ringöffnung des Epoxids mit dem Lithiumacetylid von 5-Hexinonitril. Das resultierende Alkin 322 wurde durch Nutzung von P-2-Ni/H₂ zum *Z*-Alken semihydrirt. Die anschließende vollständige Entschützung lieferte den Dihydroxyaldehyd 323. Die C16–C20-Einheit wurde nach Schützen der Alkohol-Funktionen

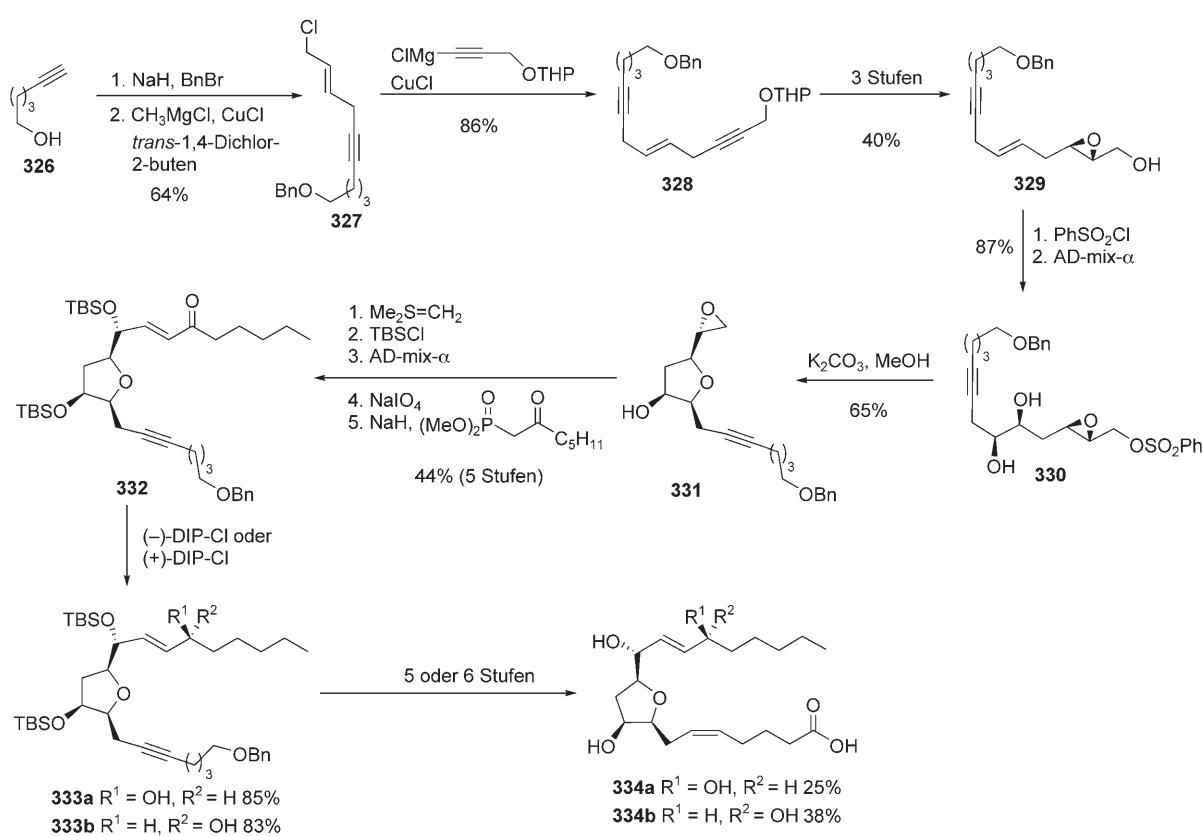
mit TBDPSCl durch Addition von Pentylmagnesiumchlorid eingeführt und ergab ein trennbares Gemisch der C15-Diastereoisomere 324a und 324b. Die Synthese der IsoF 325a und 325b wurde durch Desilylierung und Nitril-Hydrolyse vervollständigt.

Dieselbe Gruppe publizierte 2006 einen allgemein anwendbaren Zugang zur anderen Hauptklasse der IsoF, den Endiol-IsoF mit ihren Vertretern 12-*epi*-SC- Δ^{13} -8-IsoF (334a) und 12,15-*diepi*-SC- Δ^{13} -8-IsoF (334b; Schema 82).^[263] Dieser Zugang beruht auf einer ähnlichen Epoxid-Cyclisierungskaskade. Die Schlüsselverbindung, das Diolepoxyd 330, wurde effizient aus 5-Hexin-1-ol (326) synthetisiert. Nach Schützen als Benzylether und Transformation in ein Magnesiumacetylid wurde durch Kupplung mit *trans*-1,4-Dichlor-2-buten das Monoalkylierungsprodukt 327 erhalten. Eine zweite Kupfer(I)-vermittelte Kettenverlängerung mit dem von Propargylalkohol abgeleiteten Grignard-Reagens ergab das 2,5,8-Endiin 328. Anschließende THP-Entschützung, partielle Reduktion des Alkins mit LiAlH₄ und Sharpless-Epoxidierung lieferten den Epoxyalkohol 329, der durch Sulfonierung und Sharpless-Dihydroxylierung in das Epoxysulfonat 330 transformiert wurde.

Die Cyclisierungskaskade wurde wiederum mit Kaliumcarbonat in Methanol ausgeführt und ergab das Epoxytetrahydrofuran 331. Davon ausgehend wurde die Anknüpfung der ω -Seitenkette über eine C₁-Homologisierung des Epoxids mit Dimethylsulfoniumylid in Angriff genommen. Eine Sequenz aus Schutz des Allylalkohols mit TBSCl, Sharpless-Dihydroxylierung, Glycolspaltung und HWE-Reaktion lie-



Schema 81. Totalsynthese von 8-*epi*-SC- Δ^{13} -9-IsoF (325a) nach Taber et al.^[262]



Schema 82. Zugang zu den Endiol-Isofuranen 334 nach Taber et al.^[263]

ferte das Enon 332. Dessen Reduktion zum C15-Allylalkohol in 333a oder 333b wurde entweder gemäß der Luche-Vorschrift zum trennbar Diastereomerengemisch der Allylalkohole oder durch asymmetrische Reduktion mit dem entsprechenden Enantiomer von DIP-Cl realisiert. Das korrekte Substitutionsmuster der α -Seitenkette konnte leicht durch partielle Reduktion der Alkin-Einheit mit P-2-Ni, reduktive Spaltung des Benzylethers mit Li/Naphthalin, Oxidation des resultierenden Alkohols zur Säure und vollständige Entschützung erreicht werden; dies ermöglichte die erste Synthese von 12-*epi*-SC- Δ^{13} -8-IsoF (334a) sowie 12,15-*diepi*-SC- Δ^{13} -8-IsoF (334b).

8. Schlussfolgerungen und Ausblick

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren sind sehr wichtige Verbindungen in allen Organismen. Seit den ersten Hinweisen zur nicht-enzymatischen Bildung von PG-Derivaten in den 1960er Jahren sowie der 1990 folgenden Entdeckung durch Morrow und Roberts et al., dass sich IsoP in vivo in bedeutenden Mengen bilden, ist es offensichtlich geworden, dass cyclische PUFA-Metabolite viel wichtiger sind, als ursprünglich angenommen wurde. In den letzten 15 Jahren erfuhr die Chemie, Analytik, Biologie und Anwendung von IsoP einen großen Aufschwung. Es wurde überzeugend demonstriert, dass die Autoxidation von wenigstens dreifach ungesättigten Fettsäuren wahrscheinlich in allen höheren

Organismen zu biologisch aktiven cyclischen Metaboliten führt.

Das enorme Wachstum der Zahl cyclischer PUFA-Metabolite unterschiedlicher Strukturen erforderte die Entwicklung allgemein anwendbarer Nomenklatursysteme. Zwei unterschiedliche Systeme wurden 1997 für IsoP vorgeschlagen. Zukünftig sollte aber Wert auf die Nutzung eines einzigen eindeutigen Systems gelegt werden, das die Vorteile seiner Vorgänger vereint.

Eine große Zahl von Studien widmete sich der Aufklärung der Bildungswege der PUFA-Derivate. Dadurch liegt heute ein recht einheitliches mechanistisches Bild zur Autoxidation von PUFA in vitro und in vivo vor, und es steht außer Frage, dass IsoP Hauptprodukte dieses Weges sind. Racemische PG werden zu einem geringen Anteil ebenfalls gebildet, was die Schlussfolgerung zulässt, dass die Natur sie unter den verschiedenen Isomeren wegen ihrer vorteilhaften Eigenschaften zur enzymatischen Biosynthese selektiert hat. Auf der Grundlage dieses mechanistischen Gerüsts kann man sogar die Isolierung weiterer interessanter cyclischer Metabolite vorhersehen.

Zur exakten analytischen Bestimmung cyclischer PUFA-Derivate wurden Immunassays sowie hauptsächlich die Massenspektrometrie in Kombination mit der Gaschromatographie (GC-MS, GC-Tandem-MS) sowie Flüssigkeitschromatographie (LC-MS, LC-Tandem-MS) entwickelt. Aufgrund der großen Verlässlichkeit der Analytik hat sich die Quantifizierung der F₂-IsoP heute als „Goldstandard“ zur

Bewertung des Status oxidativen Stresses und der oxidativen Schädigung in vivo erwiesen. F_2 -IsoP können damit als sehr nützliche Biomarker fungieren. Zukünftig müssen aber noch deutlich mehr Daten gewonnen werden. Die wechselseitigen Beziehungen zwischen oxidativem Stress, der Bildung der IsoP und anderer bioaktiver PUFA-Metabolite sowie der Pathogenese menschlicher Erkrankungen müssen daher mit erhöhtem Aufwand erforscht werden.

Reines synthetisches Material ist sowohl als analytischer Standard für die eindeutige Strukturbestimmung und die Quantifizierung als auch für die exakte Aufklärung der biologischen Funktionen der einzelnen Metabolite notwendig. Ohne die bisher entwickelten Synthesestrategien würde sich das Feld cyclischer Lipide – speziell das Feld der IsoP – nicht auf seinem heutigen Stand befinden. Trotz der Entwicklung diverser Ansätze zur Synthese cyclischer PUFA-Metabolite wurden bisher nur relativ wenige Vertreter der einzelnen Klassen hergestellt. Eine wichtige Aufgabe ist daher nach wie vor die Entwicklung von Synthesestrategien, die in Hinsicht auf die Stufenzahl und den Zeitaufwand wesentlich besser sind als die gegenwärtigen.

Auch in der Biologie ist ein großer Fortschritt zu verzeichnen: In der klinischen Forschung ist ein starkes Wachstum von gerade drei Publikationen im Jahre 1992 auf über 200 im Jahr 2007 dokumentiert. Auch hier zeigte sich klar, dass der Fortschritt auf dem Gebiet vom Vorhandensein reinen synthetischen Materials und analytischer Standards abhängt. Inzwischen stützt eine große Zahl experimenteller und klinischer Belege die Hypothese, dass Lipidperoxidationsprodukte einschließlich F_2 -IsoP wichtige Signalmoleküle der Effekte metabolischer und hämodynamischer Abnormitäten in Patienten mit gesteigertem kardiovaskulärem Risiko oder Diabetes sind. Neuerdings wuchs auch das Interesse an der Funktion der IsoP als pathologisch relevante Mediatoren. Sie sollten inzwischen sogar als neue Klasse von Entzündungsvermittlern betrachtet werden. Hier kann man in den nächsten Jahren die Aufdeckung vieler Zusammenhänge erwarten. 15- F_2 -IsoP und einige 15- E_2 -IsoP induzieren Gefäßverengungen in verschiedenen Gefäßsystemen und Spezies zu mindest teilweise über die Wechselwirkung mit dem TXA₂-Rezeptor. Die Frage, ob es spezifische IsoP-Rezeptoren gibt, wird kontrovers diskutiert.

Die vor kurzem erreichte Totalsynthese von Cyclopentenon-IsoP wie 15- A_2 -IsoP machte eine Reihe von Studien zur biologischen Aktivität dieser hoch elektrophilen Verbindungen möglich. Sie inhibieren nukleäre Faktoren (NF- κ B, PPAR γ) und Enzyme (COX-2 und iNOS), die eine wichtige Rolle bei der Pathogenese vieler Krankheiten spielen. In den kommenden Jahren muss auch die Biologie der NeuroP und IsoF detailliert untersucht werden.

Bisher erhaltene Daten zeigen, dass PhytoP in Hinsicht auf die Biosynthese von Phytoalexinen ähnliche biologische Eigenschaften wie OPDA und JA aufweisen. Cyclopentenon-PhytoP aktivieren die Mitogen-aktivierte Protein-Kinase (MAPK) schnell und lösen die Aktivierung von Genen aus, die am Primär- und Sekundärmetabolismus beteiligt sind. B₁-PhytoP leiten Verteidigungsreaktionen der Pflanze und Entgiftungsprozesse ein. Im Moment konzentriert sich die For-

schung zu PhytoP auf die Ermittlung ihrer biologischen Aktivität in Mensch und Tier.

Man kann mit Sicherheit vorhersagen, dass gegenwärtige und zukünftige Forschungsarbeiten wertvolles Wissen zur Bildung, dem Metabolismus und den Wirkungsweisen cyclischer PUFA-Metabolite hervorbringen werden, was aber stark von der Zugänglichkeit reinen synthetischen Materials abhängt. Zieht man allein die gegenwärtige Rolle von IsoP in der menschlichen Biologie in Betracht, kann man erwarten, dass die Bedeutung cyclischer PUFA-Metabolite zukünftig stark zunehmen wird.

Addendum

Vier Totalsynthesen von IsoP wurden während des Drucks dieses Aufsatzes veröffentlicht. Pandya und Snapper berichteten über die Totalsynthese aller 5- F_2 -IsoP-Stereoisomere (**5-2b**). Dazu nutzten sie ihre früher ausgearbeitete Metathese-Strategie (siehe Schemata 52 und 53).^[264a] Taber und Mitarbeiter synthetisierten *ent*-13-*epi*-13- F_4 -NeuroP (**13-2d**) ausgehend von 2-Cyclopenten-1,4-diol-Derivaten (siehe Abschnitt 7.1.3.1) mit einer thermischen En-Cyclisierung als Schlüsselschritt zum Aufbau des Cyclopentan-Gerüsts.^[264b] Durand et al. erreichten die Totalsynthese von E₁-PhytoP und 15-E₂-IsoP-Stereoisomeren (**45a** und **15-45b**) basierend auf Verbindung **309** (siehe Schema 79) durch Anwendung von HWE- und Wittig-Reaktionen zur Einführung der Seitenketten.^[264c] Helmchen et al. publizierten die Totalsynthese von *ent*-5- F_2 -IsoP ausgehend von Nortricyclanon, das in das all-*cis*-Diastereomer des Corey-Lactons (ähnlich zu **227** in Schema 64) umgewandelt und durch HWE- und Wittig-Reaktionen in den Naturstoff transformiert wurde.^[264d]

Abkürzungen

AA	Arachidonsäure
ABC	ATP-binding cassette
Ac	Acetyl
AD	Alzheimers Demenz
AD-mix	asymmetrischer Dihydroxylierungs-Mix
AIBN	Azobis(isobutyronitril)
apoB	Apolipoprotein B
9-BBN	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan
BHT	2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-methylphenol
Binal-H	Lithium(1,1'-binaphthyl-2,2'-dioxy)aluminiumpdihydrid
Bn	Benzyl
Bz	Benzoyl
CAL-B	<i>Candida-antarctica</i> -Lipase B
CBS	Corey-Bakshi-Shibata-Katalysator
Ch	Cholesteryl
COX	Cyclooxygenase
CSA	Camphersulfonsäure
CSF	cerebrospinale Flüssigkeit
DABCO	Diazabicyclo[2.2.2]octan
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCE	1,2-Dichloethan

DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon	NeuroP	Neuroprostan(e)
DHA	4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure	NF-κB	nukleärer Faktor-kappaB
DHP	Dihydropyran	NICI	Negativmodus chemischer Ionisierung
Dibal-H	Diiisobutylaluminiumhydrid	NMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid
DIP-Cl	Chlordinopinocampheylboran	NOS	Stickstoffmonoxid-System
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin	OA	Ovalbumin
DMF	Dimethylformamid	OAc	Acetat
DMI	<i>N,N'</i> -Dimethylimidazolidin-2-on	OPDA	12-Oxophytodiensäure
DMSO	Dimethylsulfoxid	PC	Phosphatidylcholin
dppp	1,3-Bis(diphenylphosphino)propan	PCC	Pyridiniumchlorchromat
ECE	endothelin conversion enzyme	PDC	Pyridiniumdichromat
EI	Elektronenionisierung	PECPC	Epoxcyclopentenon-Isoprostan-Phospholipide
EIA	Enzymimmunassay	PEIPC	Epoxyisoprostan-Phospholipide
ELISA	Enzym-gekoppelter Immunadsorptionsassay	PFB	Pentafluorbenzyl
EP-Rezeptor	Prostaglandin-E-Rezeptor	PG	Prostaglandin(e)
EPA	5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure	Pg	Schutzgruppe (nicht spezifiziert)
ET-1	Endothelin-1	15-PGDH	15-Prostaglandindehydrogenase
GC	Gaschromatographie	PhytoP	Phytoprostan(e)
Glc	Glucose	Piv	Pivaloyl
GSH	Glutathion	PLA ₂	Phospholipase A ₂
HEK-Zelle	humane embryonale Nierenzelle	PLC	Phospholipase C
HNE	4-Hydroxyneonal	PMB	<i>p</i> -Methoxybenzyl
HPETE	Hydroperoxyeicosatetraensäure	PPAR	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion	PPL	Schweinepankreas-Lipase
ICAM-1	interzelluläres Adhäsionsmolekül 1	PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
IL	Interleukin	PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäure(n)
iNOS	induzierbare NO-Synthase	py	Pyridin
IsoF	Isofuran(e)	RIA	Radioimmunassay
IsoK	Isoketal(e)	ROS	reaktive Sauerstoff-Spezies
IsoLG	Isolevuglandin(e)	SET	Einelektronentransfer
IsoP	Isoprostan(e)	SIM	Einzelionenmodus
IsoTx	Isothromboxan(e)	SPE	Festphasenextraktion
JA	Jasmonsäure	TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
KHMDS	Kaliumhexamethyldisilazid	TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
LA	α-Linolensäure	TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
LC	Flüssigkeitschromatographie	TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
LDA	Lithiumdiisopropylamid	TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidin- <i>N</i> -oxyl
LDL	Lipoprotein geringer Dichte	TES	Triethylsilyl
LDLR	low-density lipoprotein receptor	Tf	Triflyl, Triflat
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid	TFA	Trifluoressigsäure
LLE	Flüssig-flüssig-Extraktion	TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
12-LOX	12-Lipoxygenase	THP	Tetrahydropyran-2-yl
LPS	Lipopolsaccharid	TIPS	Triisopropylsilyl
L-Selectride	Lithiumtri- <i>sec</i> -butylborhydrid	TMS	Trimethylsilyl
Lyso-PC	Lyso-Phosphatidylcholin	TP-Rezeptor	Thromboxan-A2-Rezeptor
MCP	monocyte chemotactic protein	Ts	Tosyl
<i>m</i> CPBA	<i>m</i> -Chlorperbenzoësäure	<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
MDA	Malondialdehyd	Tx	Thromboxan(e)
Mes	Mesityl	ZNS	Zentralnervensystem
MIP	2-Methoxyprop-2-yl (2-Methoxyisopropyl)		
MPO	Myeloperoxidase		
MS	Massenspektrometrie		
Ms	Mesyl		
NaHMDS	Natriumhexamethyldisilazid		
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid		
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid		
NeuroK	Neuroketal(e)		

Wir danken unseren Mitarbeitern, die im Literaturverzeichnis zitiert sind, für ihre hervorragende Arbeit auf dem Gebiet cyclischer Lipide. Wir sind auch für ihre Kommentare während der Vorbereitung des Manuskripts sehr dankbar. U.J. dankt der Region Languedoc-Roussillon, der Université Montpellier I und Professor Jean-Claude Rossi für eine Gastprofessur an der

Faculté de Pharmacie der Université Montpellier I sowie Thierry Durand und seiner Gruppe für die stimulierende Atmosphäre, ihre Unterstützung und Gastfreundschaft während seines Aufenthaltes. Wir danken dem CNRS, dem Französischen Ministerium für Bildung und Forschung, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für die großzügige Finanzierung unserer Forschung auf diesem Gebiet. J.-M.G. und T.D. sind Professor Jean-Yves Lallemand und dem ICSN für großzügige finanzielle Unterstützung sehr dankbar.

Eingegangen am 6. November 2007
Addendum am 27. Juni 2008

- [1] a) U. N. Das, *Biotechnol. J.* **2006**, *1*, 420–439; b) zum Kenntnisstand bezüglich Chemie und Biologie von Lipiden zur Zeit der Entdeckung der nicht-enzymatischen Bildung cyclischer PUFA-Metabolite: K. C. Nicolaou, J. Y. Ramphal, N. A. Petasis, C. N. Serhan, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1119–1136; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1100–1116.
- [2] a) *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* (Hrsg.: D. F. Horrobin, M. S. Manku, P. Sirois, P. Borgeat), Churchill Livingstone, Edinburgh, **2002**; b) F. Marks, G. Fürstenberger, *Prostaglandins, Leukotrienes, and Other Eicosanoids*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**; c) *CRC Handbook of Eicosanoids: Prostaglandins and Related Lipids*, Vol. 1 + 2 (Hrsg.: A. L. Willis), CRC, Boca Raton, FL, **1987**.
- [3] a) R. Kurzrock, C. C. Lieb, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1930**, *28*, 268–272; b) U. S. von Euler, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **1934**, *175*, 78–84.
- [4] a) S. Bergström, J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.* **1957**, *11*, 1086; b) S. Bergström, J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.* **1960**, *14*, 1693–1700; c) S. Bergström, J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.* **1960**, *14*, 1701–1705; d) S. Bergström, R. Ryhage, B. Samuelsson, J. Sjövall, *Acta Chem. Scand.* **1962**, *16*, 501–502; e) D. H. Nugteren, D. A. van Dorp, S. Bergström, M. Hamberg, B. Samuelsson, *Nature* **1966**, *212*, 38–39.
- [5] M. G. Malkowski, S. L. Ginell, W. L. Smith, R. M. Garavito, *Science* **2000**, *289*, 1933–1937.
- [6] a) F. Schaller, A. Schaller, A. Stintzi, *J. Plant Growth Regul.* **2005**, *23*, 179–199; b) *J. Plant Growth Regul.* **2005**, *23*(3).
- [7] D. H. Nugteren, H. Vonkeman, D. A. van Dorp, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1967**, *86*, 1237–1245.
- [8] a) J. D. Morrow, T. M. Harris, L. J. Roberts II, *Anal. Biochem.* **1990**, *184*, 1–10; b) J. D. Morrow, K. E. Hill, R. F. Burk, T. M. Nammour, K. F. Badr, L. J. Roberts II, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 9383–9387.
- [9] S. Parchmann, M. J. Mueller, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 32650–32655.
- [10] O. G. Mouritsen, *Life as a Matter of Fat. The Emerging Science of Lipidomics*, Springer, Berlin, **2005**.
- [11] a) K. Uchida, *Prog. Lipid Res.* **2003**, *42*, 318–343; b) M. Parola, G. Bellomo, G. Robino, G. Barrera, M. U. Dianzani, *Antioxid. Redox Signaling* **1999**, *1*, 255–284; c) H. Esterbauer, R. J. Schaur, H. Zollner, *Free Radical Biol. Med.* **1991**, *11*, 81–128.
- [12] A. N. Grechkin, *J. Lipid Mediators Cell Signalling* **1995**, *11*, 205–218.
- [13] O. Berdeaux, V. Fournier, P. Lambelet, F. Dionisi, J. L. Sebedio, F. Destaillats, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1138*, 216–224.
- [14] a) H. John, W. Schlegel, *Anal. Chim. Acta* **2002**, *465*, 441–450; b) H. John, K. Cammann, W. Schlegel, *Prostaglandins Other Lipid Mediators* **1998**, *56*, 53–76.
- [15] a) M. Adiyaman, J. A. Lawson, S.-W. Hwang, S. P. Khanapure, G. A. FitzGerald, J. Rokach, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4849–4852; b) J. Rokach, S. P. Khanapure, S. W. Hwang, M. Adiyaman, J. A. Lawson, G. A. FitzGerald, *Prostaglandins* **1997**, *54*, 853–873; c) J. Rokach, S. Kim, S. Bellone, J. A. Lawson, D. Praticó, W. S. Powell, G. A. FitzGerald, *Chem. Phys. Lipids* **2004**, *128*, 35–56.
- [16] a) D. F. Taber, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, *Prostaglandins* **1997**, *53*, 63–67; b) D. F. Taber, L. J. Roberts II, *Prostaglandins Other Lipid Mediators* **2005**, *78*, 14–18.
- [17] a) R. G. Salomon, G. Subbanagounder, U. Singh, J. O’Neil, H. F. Hoff, *Curr. Res. Toxicol.* **1997**, *10*, 750–759; b) R. G. Salomon, *Chem. Phys. Lipids* **2005**, *134*, 1–20.
- [18] N. Bernoud-Hubac, S. S. Davies, O. Boutaud, T. J. Montine, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 30964–30970.
- [19] D. F. Taber, J. P. Fessel, L. J. Roberts II, *Prostaglandins Other Lipid Mediators* **2004**, *73*, 47–50.
- [20] H. Yin, N. A. Porter, J. D. Morrow, *J. Chromatogr. B* **2005**, *827*, 157–164.
- [21] H. Yin, L. Gao, H.-H. Tai, L. J. Murphey, N. A. Porter, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **2006**, *282*, 329–336.
- [22] a) M. Hecker, V. Ullrich, D. Fischer, C. O. Meese, *Eur. J. Biochem.* **1987**, *169*, 113–123; b) D. Praticó, G. A. FitzGerald, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 8919–8924; c) D. Praticó, J. A. Lawson, G. A. FitzGerald, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 9800–9808; d) E. G. Daniels, W. C. Krueger, F. P. Kupiecki, J. E. Pike, W. P. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5894–5895; e) J. E. Pike, F. H. Lincoln, W. P. Schneider, *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 3552–3557.
- [23] J. D. Morrow, J. A. Awad, H. J. Boss, I. A. Blair, L. J. Roberts II, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 10721–10725.
- [24] H. Yin, C. M. Havrilla, J. D. Morrow, N. A. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7745–7754.
- [25] Übersicht: B. Halliwell, M. Whiteman, *Br. J. Pharmacol.* **2004**, *142*, 231–255.
- [26] Übersicht: Z. Cheng, Y. Li, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 748–766.
- [27] E. Poliakov, M.-L. Brennan, J. MacPherson, R. Zhang, W. Sha, L. Narine, R. G. Salomon, S. L. Hazen, *FASEB J.* **2003**, *17*, 2209–2220.
- [28] a) A. B. Ross, P. Neta, *Natl. Stand. Ref. Data Ser.* (U.S., Natl. Bur. Stand.) **1982**, 1–103; b) K. Hasegawa, L. K. Patterson, *Photochem. Photobiol.* **1978**, *28*, 817–823.
- [29] a) N. A. Porter, *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19*, 262–268; b) C. M. Havrilla, D. L. Hachey, N. A. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8042–8055; c) N. A. Porter, L. S. Lehman, B. A. Weber, K. J. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6447–6455; d) N. A. Porter, R. A. Wolf, E. M. Yarbro, H. Weenen, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1979**, *89*, 1058–1064.
- [30] J. R. Seal, N. A. Porter, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *378*, 1007–1013; *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *380*, 356.
- [31] L. Bedard, M. J. Young, D. Hall, T. Paul, K. U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12439–12448, zit. Lit.
- [32] H. Weenen, N. A. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5216–5221.
- [33] M. Alessi, T. Paul, J. C. Scaiano, K. U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6957–6965, zit. Lit.
- [34] T. A. Davis, L. Gao, H. Y. Yin, J. D. Morrow, N. A. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14897–14904.
- [35] a) B. Roschek, K. A. Tallman, C. L. Rector, J. G. Gillmore, D. A. Pratt, C. Punta, N. A. Porter, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3527–3532, zit. Lit.; b) K. A. Tallman, B. Roschek, N. A. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9240–9247, zit. Lit.
- [36] N. A. Porter, B. G. Wujek, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 2626–2629. Alle hier zitierten Geschwindigkeitskonstanten wurden für Linolsäuremethylester bestimmt, der nicht zu Cyclisierungen in der Lage ist. Die Geschwindigkeitskonstanten für alle anderen PUFA sollten jedoch sehr ähnlich sein.
- [37] Die ältere Literatur gibt 430 s^{-1} als Geschwindigkeitskonstante für die Fragmentierung an.^[36] Dieser Wert sollte auf 690 s^{-1} korrigiert werden.^[35a]

- [38] A. W. Longmire, L. L. Swift, L. J. Roberts II, J. A. Awad, R. F. Burk, J. D. Morrow, *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 47, 1173–1177.
- [39] a) N. A. Porter, M. O. Funk, *J. Org. Chem.* **1975**, 40, 3614–3615; b) W. A. Pryor, J. P. Stanley, *J. Org. Chem.* **1975**, 40, 3615–3617; c) W. A. Pryor, J. P. Stanley, E. Blair, *Lipids* **1976**, 11, 370–379.
- [40] Die Prostaglandin-Isomere, die in einer Lipoxygenase-initiierten Reaktion detektiert wurden, sollten eher als IsoP denn als PG betrachtet werden, da die Reaktion unter aeroben Bedingungen geführt wurde: G. S. Bild, S. G. Bhat, C. S. Ramadoss, B. Axelrod, *J. Biol. Chem.* **1978**, 253, 21–23.
- [41] a) D. E. O'Connor, E. D. Mihelich, M. C. Coleman, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 223–224; b) D. E. O'Connor, E. D. Mihelich, M. C. Coleman, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3577–3584.
- [42] T. J. Montine, K. S. Montine, E. E. Reich, E. S. Terry, N. A. Porter, J. D. Morrow, *Biochem. Pharmacol.* **2003**, 65, 611–617.
- [43] J. D. Morrow, L. J. Roberts, V. C. Daniel, J. A. Awad, O. Mirochnitchenko, L. L. Swift, R. F. Burk, *Arch. Biochem. Biophys.* **1998**, 353, 160–171.
- [44] N. A. Porter, P. J. Zuraw, J. A. Sullivan, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 807–810.
- [45] E. J. Corey, K. Shimoji, C. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 6425–6427.
- [46] E. J. Corey, C. Shih, N.-Y. Shih, K. Shimoji, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 5013–5016.
- [47] R. W. Hoffmann, *Chem. Rev.* **1989**, 89, 1841–1860.
- [48] E. J. Corey, Z. Wang, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 539–542.
- [49] a) J. A. Lawson, J. Rokach, G. A. FitzGerald, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 24441–24444; b) J. Rokach, S. P. Khanapure, S. W. Hwang, M. Adiyaman, J. A. Lawson, G. A. FitzGerald, *Prostaglandins* **1997**, 54, 823–851.
- [50] Daten zur Cyclisierung/Ringöffnung von Dioxetanylcarbonyl-Radikalen sind nicht verfügbar. Der Vergleich mit der gut bekannten 4-Pentenyl-Radikalcyclisierung/Cyclobutylcarbonyl-Radikalringöffnung lässt darauf schließen, dass 4-*exo*-Cyclisierungen hier nicht konkurrieren können: J. Fossey, D. Lefort, J. Sorba, *Free Radicals in Organic Chemistry*, Wiley, New York, **1995**, S. 158–160.
- [51] H. Yin, C. M. Havrilla, L. Gao, J. D. Morrow, N. A. Porter, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 16720–16725.
- [52] a) R. J. Waugh, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, R. C. Murphy, *Free Radical Biol. Med.* **1997**, 23, 943–954; b) R. J. Waugh, R. C. Murphy, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1996**, 7, 490–499.
- [53] H. Yin, J. D. Morrow, N. A. Porter, *J. Biol. Chem.* **2003**, 279, 3766–3776.
- [54] a) J. Nourooz-Zadeh, B. Halliwell, E. E. Anggard, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, 236, 467–472; b) L. Gao, H. Yin, G. L. Milne, N. A. Porter, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 14092–14099.
- [55] a) A. L. J. Beckwith, C. H. Schiesser, *Tetrahedron* **1985**, 41, 3925–3941; b) D. C. Spellmeyer, K. N. Houk, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 959–974.
- [56] D. P. Curran, N. A. Porter, B. Giese, *Stereochemistry of Radical Reactions*, VCH, Weinheim, **1996**, S. 67–68.
- [57] M. Hamberg, J. Svensson, T. Wakabayashi, B. Samuelsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, 71, 345–349.
- [58] a) A. Raz, R. Kenig-Wakshal, M. Schwartzman, *Biochim. Biophys. Acta Lipids Lipid Metab.* **1977**, 488, 322–329; b) D. H. Nugteren, E. Hazelhof, *Biochim. Biophys. Acta Lipids Lipid Metab.* **1973**, 326, 448–461.
- [59] In Mikrosomen sind die Struktur- und Polaritätsunterschiede weit geringer als in der der intakten Zelle. Dies kann dazu führen, dass die Säure-Base-Katalyse, die zu D₂/E₂-IsoP führt, gegenüber der Reduktion zu F₂-IsoP bevorzugt ist.
- [60] J. D. Morrow, T. A. Minton, C. R. Mukundan, M. D. Campbell, W. E. Zackert, V. C. Daniel, K. F. Badr, I. A. Blair, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 4317–4326.
- [61] M. Hamberg, B. Samuelsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1973**, 70, 899–903.
- [62] a) N. A. Porter, J. D. Byers, R. C. Mebane, D. W. Gilmore, J. R. Nixon, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 2088–2090; b) N. A. Porter, J. D. Byers, K. M. Holden, D. B. Menzel, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 4319–4322.
- [63] R. G. Salomon, D. B. Miller, M. G. Zagorski, D. J. Coughlin, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 6049–6060.
- [64] L. Gao, W. E. Zackert, J. J. Hasford, M. E. Danekis, G. L. Milne, C. Remmert, J. Reese, H. Yin, H.-H. Tai, S. K. Dey, N. A. Porter, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 28479–28489.
- [65] a) Y. Chen, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 10863–10868; b) Y. Chen, W. E. Zackert, L. J. Roberts II, J. D. Morrow, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **1999**, 1436, 550–556.
- [66] F. A. Fitzpatrick, M. A. Wynalda, *J. Biol. Chem.* **1983**, 258, 11713–11718.
- [67] E. S. Musiek, R. S. Breeding, G. L. Milne, G. Zanoni, J. D. Morrow, B. McLaughlin, *J. Neurochem.* **2006**, 97, 1301–1313.
- [68] G. L. Milne, L. Gao, A. Porta, G. Zanoni, G. Vidari, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 25178–25184.
- [69] a) L. J. Roberts II, T. J. Montine, W. R. Markesberry, A. R. Tapper, P. Hardy, S. Chemtob, W. D. Dettbarn, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 13605–13612; b) J. Nourooz-Zadeh, E. H. C. Liu, E. E. Anggard, B. Halliwell, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, 242, 338–344.
- [70] H. Yin, E. E. Musiek, L. Gao, N. A. Porter, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 26600–26611.
- [71] E. E. Reich, W. R. Zackert, C. J. Brame, Y. Chen, L. J. Roberts II, D. L. Hachey, T. J. Montine, J. D. Morrow, *Biochemistry* **2000**, 39, 2376–2383.
- [72] S. S. Fam, L. J. Murphey, E. S. Terry, W. E. Zackert, Y. Chen, L. Gao, S. Pandalai, G. L. Milne, L. J. Roberts, N. A. Porter, T. J. Montine, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 36076–36084.
- [73] Übersicht: M. Hamberg, H. W. Gardner, *Biochim. Biophys. Acta Lipids Lipid Metab.* **1992**, 1165, 1–18.
- [74] a) F. Bohlmann, R. K. Gupta, R. M. King, H. Robinson, *Phytochemistry* **1981**, 20, 1417–1418; b) F. Bohlmann, N. Borthakur, R. M. King, H. Robinson, *Phytochemistry* **1982**, 21, 125–127; c) F. Bohlmann, P. Singh, J. Jakupovic, R. M. King, H. Robinson, *Phytochemistry* **1982**, 21, 371–374.
- [75] Eine theoretische Untersuchung dieses Biosyntheseweges: C. S. Lopez, O. N. Faza, D. M. York, A. R. de Lera, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 3635–3644.
- [76] I. Thoma, C. Loeffler, A. K. Sinha, M. Gupta, M. Krischke, B. Steffan, T. Roitsch, M. J. Mueller, *Plant J.* **2003**, 34, 363–375. Mueller und Mitarbeiter unterscheiden die Orientierung der Carbonylgruppen relativ zur α -Seitenkette in den regiospezifischen 9- und 16-Serien der A₁-, B₁-, D₁-, E₁- und J₁-PhytoP in dieser und allen späteren Publikationen zu diesem Thema nicht korrekt. Das führt zu einem klaren Konflikt zwischen der Struktur und der akzeptierten PG-Ringnomenklatur für PhytoP (siehe Schema 3). Eine korrekte Darstellung findet sich in Schema 26.
- [77] R. Imbusch, M. J. Mueller, *Free Radical Biol. Med.* **2000**, 28, 720–726.
- [78] R. Imbusch, M. J. Mueller, *Plant Physiol.* **2000**, 124, 1293–1303.
- [79] M. Krischke, C. Loeffler, M. J. Mueller, *Phytochemistry* **2003**, 62, 351–358.
- [80] M. Hecker, V. Ullrich, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 141–150.
- [81] J. D. Morrow, J. A. Awad, A. Wu, W. E. Zackert, V. C. Daniel, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 23185–23190.
- [82] Präzedenz für eine Endoperoxid-Öffnung mit anschließender polarer 1,2-Umlagerung, in der Eisen(II) als Lewis-Säure

- agiert: M. Kamata, M. Ohta, K. Komatsu, H. S. Kim, Y. Wataya, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 2063–2067.
- [83] a) R. G. Salomon, *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18, 294–301; b) O. Boutaud, C. J. Brame, P. Chaurand, J. Li, S. W. Rowlinson, B. C. Crews, C. Ji, L. J. Marnett, R. M. Caprioli, L. J. Roberts II, J. A. Oates, *Biochemistry* **2001**, 40, 6948–6955.
- [84] M. G. Zagorski, R. G. Salomon, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 3498–3503.
- [85] N. Bernoud-Hubac, L. B. Fay, V. Armarnath, M. Guichardant, S. Bacot, S. S. Davies, L. J. Roberts II, M. Lagarde, *Free Radical Biol. Med.* **2004**, 37, 1604–1611.
- [86] R. G. Salomon, W. Sha, C. Brame, K. Kaur, G. Subbanagounder, J. O'Neil, H. F. Hoff, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 20271–20280.
- [87] a) C. J. Brame, O. Boutaud, S. S. Davies, T. Yang, J. A. Oates, D. Roden, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 13447–13451; b) C. J. Brame, R. G. Salomon, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 13139–13146.
- [88] E. Poliakov, S. G. Meer, S. C. Roy, C. Mesaros, R. G. Salomon, *Curr. Res. Toxicol.* **2004**, 17, 613–622.
- [89] S. S. Davies, V. Amarnath, K. S. Montine, N. Bernoud-Houbac, O. Boutaud, T. J. Montine, L. J. Roberts II, *FASEB J.* **2002**, 16, 715–717.
- [90] R. S. Iyer, D. B. Miller, R. G. Salomon, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 3175–3180.
- [91] N. Bernoud-Hubac, L. J. Roberts II, *Biochemistry* **2002**, 41, 11466–11471.
- [92] A. D. Watson, G. Subbanagounder, D. S. Welsbie, K. F. Faull, M. Navab, M. E. Jung, A. M. Fogelman, J. A. Berliner, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 24787–24798.
- [93] G. Subbanagounder, J. W. Wong, H. Lee, K. F. Faull, E. Miller, J. L. Witztum, J. A. Berliner, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 7271–7281.
- [94] a) R. K. Haynes, S. C. Vonwiller, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1102–1104; b) E. N. Frankel, W. E. Neff, K. Miyashita, *Lipids* **1990**, 25, 40–47; c) W. E. Neff, E. N. Frankel, D. Weisleder, *Lipids* **1981**, 16, 439–448; d) I. Toyoda, J. Terao, S. Matsubashita, *Lipids* **1982**, 17, 84–90.
- [95] a) H. W.-S. Chan, J. A. Mathew, D. T. Coxon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 235–236; b) D. T. Coxon, K. R. Price, H. W.-S. Chan, *Chem. Phys. Lipids* **1981**, 28, 365–378; c) M. Roza, A. Francke, *Biochim. Biophys. Acta Lipids Lipid Metab.* **1978**, 528, 119–126.
- [96] J. A. Khan, N. A. Porter, *Angew. Chem.* **1982**, 94, 220–221; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 217–218.
- [97] W. E. Neff, E. N. Frankel, D. Weisleder, *Lipids* **1982**, 17, 780–790.
- [98] a) C. Pace-Asciak, L. S. Wolfe, *Chem. Commun.* **1970**, 1235–1236; b) C. Pace-Asciak, *Biochemistry* **1971**, 10, 3664–3669.
- [99] M. F. Moghaddam, K. Motoba, B. Borhan, F. Pinot, B. D. Hammock, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **1996**, 1290, 327–339.
- [100] a) J. P. Fessel, N. A. Porter, K. P. Moore, J. R. Sheller, L. J. Roberts II, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 16713–16718; b) W.-L. Song, J. A. Lawson, D. Reilly, J. Rokach, C.-T. Chang, B. Giasson, G. A. FitzGerald, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 6–16.
- [101] a) N. A. Porter, J. R. Nixon, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 7116–7117; b) A. J. Bloodworth, J. L. Courtneidge, A. G. Davies, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1984**, 523–527.
- [102] J. R. Nixon, M. A. Cudd, N. A. Porter, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 4048–4052.
- [103] W. Sametz, K. Hummer, M. Butter, R. Wintersteiger, H. Juan, *Br. J. Pharmacol.* **2000**, 131, 145–151.
- [104] D. M. Stafforini, J. R. Sheller, T. S. Blackwell, A. Sapirstein, F. E. Yull, T. M. McIntyre, J. V. Bonventre, S. M. Prescott, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **2005**, 281, 4616–4623.
- [105] a) L. J. Roberts II, K. P. Moore, W. E. Zackert, J. A. Oates, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 20617–20620; b) C. Chiabrando, A. Valagussa, C. Rivalta, T. Durand, A. Guy, E. Zuccato, P. Villa, J.-C. Rossi, R. Fanelli, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 1313–1319, zit. Lit.; c) S. Kim, W. S. Powell, J. A. Lawson, S. H. Jacobo, D. Praticó, G. A. FitzGerald, K. Maxey, J. Rokach, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 1613–1617.
- [106] J. A. Awad, J. D. Morrow, K. Takahashi, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 4161–4169.
- [107] a) S. Basu, *FEBS Lett.* **1998**, 428, 32–36; b) S. Basu, *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids* **1998**, 58, 319–325.
- [108] C. Chiabrando, C. Rivalta, R. Bagnati, A. Valagussa, T. Durand, A. Guy, P. Villa, J.-C. Rossi, R. Fanelli, *J. Lipid Res.* **2002**, 43, 495–509.
- [109] J. A. Lawson, S. Kim, W. S. Powell, G. A. FitzGerald, J. Rokach, *J. Lipid Res.* **2006**, 47, 2515–2524.
- [110] a) R. J. P. Williams, *Dalton Trans.* **2007**, 991–1001; b) R. J. P. Williams, J. J. R. Frausto da Silva, *The Chemistry of Evolution. The Development of our Ecosystem*, Elsevier, Amsterdam, 2006.
- [111] M. J. Mueller, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2004**, 7, 441–448.
- [112] a) L. J. Roberts II, J. D. Morrow, *Free Radical Biol. Med.* **2000**, 28, 505–513; b) M. B. Kadiiska, B. C. Gladen, D. D. Baird, D. Germolec, L. B. Graham, C. E. Parker, A. Nyska, J. T. Wachsmann, B. N. Ames, S. Basu, N. Brot, G. A. FitzGerald, R. A. Floyd, M. George, J. W. Heinecke, G. E. Hatch, K. Hensley, J. A. Lawson, L. J. Marnett, J. D. Morrow, D. M. Murray, J. Plastaras, L. J. Roberts II, J. Rokach, M. K. Shigenaga, R. S. Sohal, J. Sun, R. R. Tice, D. H. Van Thiel, D. Wellner, P. B. Walter, K. B. Tomer, R. P. Mason, J. C. Barrett, *Free Radical Biol. Med.* **2005**, 38, 698–710.
- [113] a) O. Berdeaux, O. Scruel, J.-L. Cracowski, T. Durand, *Curr. Pharm. Anal.* **2006**, 2, 69–78; b) D. Tsikas, *J. Chromatogr. B* **1998**, 717, 201–245.
- [114] a) J. D. Morrow, L. J. Roberts II, *Methods Enzymol.* **1999**, 300, 3–12; b) M. F. Walter, J. B. Blumberg, G. G. Dolnikowski, G. J. Handelman, *Anal. Biochem.* **2000**, 280, 73–79; c) J. Nourooz-Zadeh, E. H. Liu, B. Yhlen, E. E. Anggard, B. Halliwell, *J. Neurochem.* **1999**, 72, 734–740.
- [115] a) T. A. Mori, K. D. Croft, I. B. Puddey, L. J. Beilin, *Anal. Biochem.* **1999**, 268, 117–125; b) M. Richelle, M. E. Turini, R. Guidoux, I. Tavazzi, S. Météairon, L. B. Fay, *Eur. J. Mass Spectrom.* **2001**, 7, 427–432.
- [116] J. D. Morrow, L. J. Roberts II, *Methods Enzymol.* **1994**, 233, 163–174.
- [117] a) J. Nourooz-Zadeh, N. K. Gopaul, S. Barrow, A. I. Mallet, E. E. Anggard, *J. Chromatogr. B* **1995**, 667, 199–208; b) N. K. Gopaul, E. E. Anggard, A. I. Mallet, D. J. Betteridge, S. P. Wolff, J. Nourooz-Zadeh, *FEBS Lett.* **1995**, 368, 225–229.
- [118] a) Z. Zhao, N. M. Hjelm, C. W. Lam, C. S. Ho, *Clin. Chem.* **2001**, 47, 1306–1308; b) C. Y. Lee, A. M. Jenner, B. Halliwell, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, 320, 696–702.
- [119] A. Bachi, E. Zuccato, M. Baraldi, R. Fanelli, C. Chiabrando, *Free Radical Biol. Med.* **1996**, 20, 619–624.
- [120] a) Y. Liang, P. Wei, R. W. Duke, P. D. Reaven, S. M. Harman, R. G. Cutler, C. B. Heward, *Free Radical Biol. Med.* **2003**, 34, 409–418; b) Y. Murai, T. Hishinuma, N. Suzuki, J. Satoh, T. Toyota, M. Mizugaki, *Prostaglandins Other Lipid Mediators* **2000**, 62, 173–181; c) H. Li, J. A. Lawson, M. Reilly, M. Adiyaman, S.-W. Hwang, J. Rokach, G. A. FitzGerald, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 13381–13386; d) J. A. Lawson, H. Li, J. Rokach, M. Adiyaman, S. W. Hwang, S. P. Khanapure, G. A. FitzGerald, *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 29295–29301; e) N. Ohashi, M. Yoshikawa, *J. Chromatogr. B* **2000**, 746, 17–24; f) K. C. Bohnstedt, B. Karlberg, L.-O. Wahlund, M. E. Jonhagen, H. Basun, S. Schmidt, *J. Chromatogr. B* **2003**, 796, 11–19.

- [121] Z. Wang, G. Ciabattoni, C. Creminon, J. Lawson, G. A. Fitzgerald, C. Patrono, J. Maclouf, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1995**, *251*, 94–100.
- [122] a) J. D. Morrow, W. E. Zackert, J. P. Yang, E. H. Kurkts, D. Callewaert, R. Dworski, K. Kanai, D. Taber, K. Moore, J. A. Oates, L. J. Roberts, *Anal. Biochem.* **1999**, *269*, 326–331; b) J. Nourooz-Zadeh, *Methods Enzymol.* **1999**, *300*, 13–17.
- [123] a) J. Nourooz-Zadeh, P. Pereira, *Ophthalmic Res.* **2000**, *32*, 133–137; b) I. N. Guha, K. Moore, *Prostaglandins Other Lipid Mediators* **2003**, *72*, 73–84.
- [124] a) D. Tsikas, E. Schwerdheim, J. Fauler, F. M. Gutzki, E. Matyatepek, J. C. Frolich, *J. Chromatogr. B* **1998**, *716*, 7–17; b) H. Schweer, B. Watzer, H. W. Seyberth, R. M. Nüsing, *J. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 1362–1370.
- [125] C. Signorini, M. Comporti, G. Giorgi, *J. Mass Spectrom.* **2003**, *38*, 1067–1074.
- [126] a) J. Bessard, J.-L. Cracowski, F. Stanke-Labesque, G. Bessard, *J. Chromatogr. B* **2001**, *754*, 333–343; b) T. Obata, K. Tomaru, T. Nagakura, Y. Izumi, T. Kawamoto, *J. Chromatogr. B* **2000**, *746*, 11–15.
- [127] T. Obata, Y. Sakurai, Y. Kase, Y. Tanifuji, T. Horiguchi, *J. Chromatogr. B* **2003**, *792*, 131–140.
- [128] a) D. Il'yasova, J. D. Morrow, A. Ivanova, L. E. Wagenknecht, *Ann. Epidemiol.* **2004**, *14*, 793–797; b) J. Proudfoot, A. Barden, T. A. Mori, V. Burke, K. D. Croft, L. J. Beilin, I. B. Pudsey, *Anal. Biochem.* **1999**, *272*, 209–215; c) T. P. Stein, M. J. Leskiw, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2000**, *278*, 375–382.
- [129] a) J. D. Morrow, L. J. Roberts II, *Prog. Lipid Res.* **1997**, *36*, 1–21; b) D. Pratico, J. A. Lawson, J. Rokach, G. A. Fitzgerald, *Trends Endocrinol. Metab.* **2001**, *12*, 243–247; c) P. Montuschi, P. J. Barnes, L. J. Roberts II, *FASEB J.* **2004**, *18*, 1791–1800; d) G. L. Milne, E. S. Musiek, J. D. Morrow, *Biomarkers* **2005**, *10 Suppl. 1*, 10–23.
- [130] S. Basu, J. Helmersson, *Antioxid. Redox Signaling* **2005**, *7*, 221–235.
- [131] G. Kennedy, V. A. Spence, M. McLaren, A. Hill, C. Underwood, J. J. F. Belch, *Free Radical Biol. Med.* **2005**, *39*, 584–589.
- [132] D. Pratico, L. Iuliano, A. Mauriello, L. Spagnoli, J. A. Lawson, J. Rokach, J. Maclouf, F. Violi, G. A. Fitzgerald, *J. Clin. Invest.* **1997**, *100*, 2028–2034.
- [133] C. Vassalle, N. Botto, M. G. Andreassi, S. Berti, A. Biagini, *Coron. Artery Dis.* **2003**, *14*, 213–218.
- [134] a) M. Nonaka-Sarukawa, K. Yamamoto, H. Aoki, H. Takano, T. Katsuki, U. Ikeda, K. Shimada, *Heart* **2003**, *89*, 871–874; b) Z. Mallat, I. Philip, M. Lebret, D. Chatel, J. Maclouf, A. Tedgui, *Circulation* **1998**, *97*, 1536–1539.
- [135] a) N. Delanty, M. P. Reilly, D. Pratico, J. A. Lawson, J. F. McCarthy, A. E. Wood, S. T. Ohnishi, D. J. Fitzgerald, G. A. Fitzgerald, *Circulation* **1997**, *95*, 2492–2499; b) M. P. Reilly, N. Delanty, L. Roy, J. Rokach, P. O. Callaghan, P. Crean, J. A. Lawson, G. A. Fitzgerald, *Circulation* **1997**, *96*, 3314–3320.
- [136] P. Minuz, P. Patrignani, S. Gaino, M. Degan, L. Menapace, R. Tommasoli, F. Seta, M. L. Capone, S. Tacconelli, S. Palatresi, C. Bencini, C. Del Vecchio, G. Mansueto, E. Arosio, C. L. Santonastaso, A. Lechi, A. Morganti, C. Patrono, *Circulation* **2002**, *106*, 2800–2805.
- [137] G. Davi, G. Ciabattoni, A. Consoli, A. Mezzetti, A. Falco, S. Santarone, E. Pennese, E. Vitacolonna, T. Bucciarelli, F. Costantini, F. Capani, C. Patrono, *Circulation* **1999**, *99*, 224–229.
- [138] G. Davi, S. Basili, M. Vieri, F. Cipollone, S. Santarone, C. Alessandri, P. Gazzaniga, C. Cordova, F. Violi, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1997**, *156*, 1794–1799.
- [139] a) G. Davi, G. Di Minno, A. Coppola, G. Andria, A. M. Cerbone, P. Madonna, A. Tufano, A. Falco, P. Marchesani, G. Ciabattoni, C. Patrono, *Circulation* **2001**, *104*, 1124–1128; b) S. Voutilainen, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, G. Alfthan, H. Alho, K. Nyysönen, J. T. Salonen, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **1999**, *19*, 1263–1266.
- [140] T. Ide, H. Tsutsui, N. Ohashi, S. Hayashidani, N. Suematsu, M. Tsuchihashi, H. Tamai, A. Takeshita, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2002**, *22*, 438–442.
- [141] J. F. Keaney Jr., M. G. Larson, R. S. Vasan, P. W. Wilson, I. Lipinska, D. Corey, J. M. Massaro, P. Sutherland, J. A. Vita, E. J. Benjamin, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2003**, *23*, 434–439.
- [142] a) M. Reilly, N. Delanty, J. A. Lawson, G. A. Fitzgerald, *Circulation* **1996**, *94*, 19–25; b) J. D. Morrow, B. Frei, A. W. Longmire, J. M. Gaziano, S. M. Lynch, Y. Shyr, W. E. Strauss, J. A. Oates, L. J. Roberts II, *N. Engl. J. Med.* **1995**, *332*, 1198–1203.
- [143] a) T. A. Ikitzler, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, J. A. Evanson, B. Becker, R. M. Hakim, Y. Shyr, J. Himmelfarb, *Clin. Nephrol.* **2002**, *58*, 190–197; b) M. A. Spittle, N. A. Hoenich, G. J. Handelman, R. Adhikarla, P. Homel, N. W. Levin, *Am. J. Kidney Dis.* **2001**, *38*, 1408–1413.
- [144] J. D. Morrow, K. P. Moore, J. A. Awad, M. D. Ravenscroft, G. Marini, K. F. Badr, R. Williams, L. J. Roberts II, *J. Lipid Mediators* **1993**, *6*, 417–420.
- [145] a) S. Holt, B. Reeder, M. Wilson, S. Harvey, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, K. Moore, *Lancet* **1999**, *353*, 1241; b) K. P. Moore, S. G. Holt, R. P. Patel, D. A. Svistunenko, W. Zackert, D. Goodier, B. J. Reeder, M. Clozel, R. Anand, C. E. Cooper, J. D. Morrow, M. T. Wilson, V. Darley-Usmar, L. J. Roberts II, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 31731–31737.
- [146] a) P. Montuschi, M. Corradi, G. Ciabattoni, J. Nightingale, S. A. Kharitonov, P. J. Barnes, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1999**, *160*, 216–220; b) R. Dworski, J. J. Murray, L. J. Roberts II, J. A. Oates, J. D. Morrow, L. Fisher, J. R. Sheller, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1999**, *160*, 1947–1951.
- [147] a) P. Montuschi, J. V. Collins, G. Ciabattoni, N. Lazzeri, M. Corradi, S. A. Kharitonov, P. J. Barnes, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *162*, 1175–1177; b) D. Pratico, S. Basili, M. Vieri, C. Cordova, F. Violi, G. A. Fitzgerald, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1998**, *158*, 1709–1714.
- [148] a) P. Montuschi, S. A. Kharitonov, G. Ciabattoni, M. Corradi, L. van Rensen, D. M. Geddes, M. E. Hodson, P. J. Barnes, *Thorax* **2000**, *55*, 205–209; b) G. Ciabattoni, G. Davi, M. Collura, L. Iapichino, F. Pardo, A. Ganci, R. Romagnoli, J. Maclouf, C. Patrono, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *162*, 1195–1201.
- [149] P. Montuschi, G. Ciabattoni, P. Paredi, P. Pantelidis, R. M. du Bois, S. A. Kharitonov, P. J. Barnes, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1998**, *158*, 1524–1527.
- [150] C. T. Carpenter, P. V. Price, B. W. Christman, *Chest* **1998**, *114*, 1653–1659.
- [151] E. S. Klings, B. W. Christman, J. McClung, A. F. Stucchi, L. McMahon, M. Brauer, H. W. Farber, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2001**, *164*, 1248–1252.
- [152] a) E. A. Meagher, O. P. Barry, A. Burke, M. R. Lucey, J. A. Lawson, J. Rokach, G. A. Fitzgerald, *J. Clin. Invest.* **1999**, *104*, 805–813; b) S. I. Aleynik, M. A. Leo, M. K. Aleynik, C. S. Lieber, *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **1998**, *22*, 192–196; c) D. Pratico, L. Iuliano, S. Basili, D. Ferro, C. Camasta, C. Cordova, G. A. Fitzgerald, F. Violi, *J. Invest. Med.* **1998**, *46*, 51–57.
- [153] M. A. Leo, S. I. Aleynik, J. H. Siegel, F. E. Kasmin, M. K. Aleynik, C. S. Lieber, *Am. J. Gastroenterol.* **1997**, *92*, 2069–2072.
- [154] A. Burke, G. A. Fitzgerald, M. R. Lucey, *Transplantation* **2002**, *74*, 217–221.
- [155] A. Aboutwerat, P. W. Pemberton, A. Smith, P. C. Burrows, R. F. McMahon, S. K. Jain, T. W. Warnes, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* **2003**, *1637*, 142–150.
- [156] a) T. J. Montine, M. D. Neely, J. F. Quinn, M. F. Beal, W. R. Markesberry, L. J. Roberts II, J. D. Morrow, *Free Radical Biol. Med.*

- Med.* **2002**, *33*, 620–626; b) D. Praticó, C. M. Clark, V. M.-Y. Lee, J. Q. Trojanowski, J. Rokach, G. A. FitzGerald, *Ann. Neurol.* **2000**, *48*, 809–812; c) T. J. Montine, M. F. Beal, M. E. Cudkowicz, H. O'Donnell, R. A. Margolin, L. McFarland, A. F. Bachrach, W. E. Zackert, L. J. Roberts II, J. D. Morrow, *Neurology* **1999**, *52*, 562–565; d) T. J. Montine, W. R. Markesberry, W. Zackert, S. C. Sanchez, L. J. Roberts II, J. D. Morrow, *Am. J. Pathol.* **1999**, *155*, 863–868; e) D. Praticó, V. M.-Y. Lee, J. Q. Trojanowski, J. Rokach, G. A. FitzGerald, *FASEB J.* **1998**, *12*, 1777–1783.
- [157] A. Greco, L. Minghetti, G. Levi, *Neurochem. Res.* **2000**, *25*, 1357–1364.
- [158] A. Greco, L. Minghetti, *Curr. Neurovasc. Res.* **2004**, *1*, 341–354.
- [159] a) J. L. Cracowski, C. Marpeau, P. H. Carpentier, B. Imbert, M. Hunt, F. Stanke-Labesque, G. Bessard, *Arthritis Rheum.* **2001**, *44*, 1143–1148; b) C. M. Stein, S. B. Tanner, J. A. Awad, L. J. Roberts II, J. D. Morrow, *Arthritis Rheum.* **1996**, *39*, 1146–1150.
- [160] a) J. L. Cracowski, B. Bonaz, G. Bessard, J. Bessard, C. Anglade, J. Fournet, *Am. J. Gastroenterol.* **2002**, *97*, 99–103; b) B. E. Wendland, E. Aghdassi, C. Tam, J. Carrier, A. H. Steinhart, S. L. Wolman, D. Baron, J. P. Allard, *Am. J. Clin. Nutr.* **2001**, *74*, 259–264.
- [161] S. Basu, K. Michaelsson, H. Olofsson, S. Johansson, H. Melhus, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *288*, 275–279.
- [162] X. Ming, T. P. Stein, M. Brimacombe, W. G. Johnson, G. H. Lambert, G. C. Wagner, *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids* **2005**, *73*, 379–384.
- [163] S. Basu, M. Whiteman, D. L. Matthey, B. Halliwell, *Ann. Rheum. Dis.* **2001**, *60*, 627–631.
- [164] H. Sinzinger, G. Lupattelli, F. Chehne, A. Oguogho, C. D. Furberg, *J. Clin. Pharm. Ther.* **2001**, *26*, 303–310.
- [165] K. Minoguchi, T. Yokoe, A. Tanaka, S. Ohta, T. Hirano, G. Yoshino, C. P. O'Donnell, M. Adachi, *Eur. Respir. J.* **2006**, *28*, 378–385.
- [166] J. L. Cracowski, T. Durand, *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2006**, *20*, 417–427.
- [167] J. L. Cracowski, C. Cracowski, G. Bessard, J. L. Pepin, J. Bessard, C. Schwebel, F. Stanke-Labesque, C. Pison, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2001**, *164*, 1038–1042.
- [168] E. Schwerdheim, A. Bartling, H. Lenzen, D. Tsikas, R. Maas, J. Brummer, F. M. Gutzki, J. Berger, J. C. Frolich, R. H. Boger, *Circulation* **2004**, *109*, 843–848.
- [169] M. Gross, M. Steffes, D. R. Jacobs Jr., X. Yu, L. Lewis, C. E. Lewis, C. M. Loria, *Clin. Chem.* **2004**, *51*, 125–131.
- [170] a) B. Halliwell, *Cardiovasc. Res.* **2000**, *47*, 410–418; b) L. J. Roberts II, J. D. Morrow, *Cell. Mol. Life Sci.* **2002**, *59*, 808–820.
- [171] L. Kritharides, R. Stocker, *Atherosclerosis* **2002**, *164*, 211–219.
- [172] J. Helmersson, S. Basu, *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids* **1999**, *61*, 203–205.
- [173] E. E. Reich, K. S. Montine, M. D. Gross, L. J. Roberts II, L. L. Swift, J. D. Morrow, T. J. Montine, *J. Neurosci.* **2001**, *21*, 5993–5999.
- [174] G. L. Milne, E. S. Musiek, J. D. Morrow, *Antioxid. Redox Signaling* **2005**, *7*, 210–220.
- [175] E. S. Musiek, J. K. Cha, H. Yin, W. E. Zackert, E. S. Terry, N. A. Porter, T. J. Montine, J. D. Morrow, *J. Chromatogr. B* **2004**, *799*, 95–102.
- [176] E. E. Reich, W. R. Markesberry, L. J. Roberts II, L. L. Swift, J. D. Morrow, T. J. Montine, *Am. J. Pathol.* **2001**, *158*, 293–297.
- [177] J. P. Fessel, C. Hulette, S. Powell, L. J. Roberts II, J. Zhang, *J. Neurochem.* **2003**, *85*, 645–650.
- [178] R. G. Salomon, G. Subbanagounder, J. O'Neil, K. Kaur, M. A. Smith, H. F. Hoff, G. Perry, V. M. Monnier, *Chem. Res. Toxicol.* **1997**, *10*, 536–545.
- [179] S. Parchmann, H. Gundlach, M. J. Mueller, *Plant Physiol.* **1997**, *115*, 1057–1064.
- [180] K. Karg, V. M. Dirsch, A. M. Vollmar, J. L. Cracowski, F. Laporte, M. J. Mueller, *Free Radical Res.* **2006**, *41*, 25–37.
- [181] a) E. S. Musiek, H. Yin, G. L. Milne, J. D. Morrow, *Lipids* **2005**, *40*, 987–994; b) J. D. Morrow, *Curr. Pharm. Des.* **2006**, *12*, 895–902.
- [182] J. L. Cracowski, P. Devillier, T. Durand, F. Stanke-Labesque, G. Bessard, *J. Vasc. Res.* **2001**, *38*, 93–103.
- [183] L. J. Janssen, *Chem. Phys. Lipids* **2004**, *128*, 101–116.
- [184] P. McNamara, J. A. Lawson, J. Rokach, G. A. FitzGerald, *Adv. Exp. Med. Biol.* **2002**, *507*, 351–355.
- [185] Zur Vertiefung: a) J. M. Dogne, J. Hanson, D. Praticó, *Trends Pharmacol. Sci.* **2005**, *26*, 639–644; b) G. Davì, A. Falco, *Lupus* **2005**, *14*, 760–764; c) C. Patrono, G. A. FitzGerald, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **1997**, *17*, 2309–2315.
- [186] X. Hou, F. Gobeil Jr., K. Peri, G. Speranza, A. M. Marrache, P. Lachapelle, J. Roberts II, D. R. Varma, S. Chemtob, *Stroke* **2000**, *31*, 516–525.
- [187] K. Takahashi, T. M. Nammour, M. Fukunaga, J. Ebert, J. D. Morrow, L. J. Roberts II, R. L. Hoover, K. F. Badr, *J. Clin. Invest.* **1992**, *90*, 136–141.
- [188] P. Kunapuli, J. A. Lawson, J. Rokach, G. A. FitzGerald, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27147–27154.
- [189] T. Yura, M. Fukunaga, R. Khan, G. N. Nassar, K. F. Badr, A. Montero, *Kidney Int.* **1999**, *56*, 471–478.
- [190] T. Ishizuka, K. Suzuki, M. Kawakami, T. Hidaka, Y. Matsuki, H. Nakamura, *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *312*, 367–377.
- [191] P. J. Spagnuolo, J. J. Ellner, A. Hassid, M. J. Dunn, *Inflammation* **1988**, *12*, 1–9.
- [192] I. Tzoulaki, G. D. Murray, A. J. Lee, A. Rumley, G. D. Lowe, F. G. Fowkes, *Circulation* **2005**, *112*, 976–983.
- [193] L. Lind, *Atherosclerosis* **2003**, *169*, 203–214.
- [194] M. Tang, T. Cyrus, Y. Yao, L. Vocun, D. Praticó, *Circulation* **2005**, *112*, 2867–2874.
- [195] a) L. J. Janssen, A. Catalli, P. Helli, *Antioxid. Redox Signaling* **2005**, *7*, 244–255; b) L. J. Janssen, T. Tazzeo, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, *301*, 1060–1066; c) J.-L. Cracowski, P. Devillier, O. Chavanon, F.-A. Sietchiping-Nzepa, F. Stanke-Labesque, G. Bessard, *Life Sci.* **2001**, *68*, 2405–2413.
- [196] A. E. Catalli, L. J. Janssen, *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **2004**, *287*, L1035–1041.
- [197] S. Marliere, J. L. Cracowski, T. Durand, O. Chavanon, J. Bessard, A. Guy, F. Stanke-Labesque, J. C. Rossi, G. Bessard, *Br. J. Pharmacol.* **2002**, *135*, 1276–1280.
- [198] X. Hou, L. J. Roberts II, F. Gobeil Jr., D. F. Taber, K. Kanai, D. Abran, S. Brault, D. Checchin, F. Sennlaub, P. Lachapelle, D. R. Varma, S. Chemtob, *Free Radical Biol. Med.* **2004**, *36*, 163–172.
- [199] X. Hou, L. J. Roberts II, D. F. Taber, J. D. Morrow, K. Kanai, F. Gobeil Jr., M. H. Beauchamp, S. G. Bernier, G. Lepage, D. R. Varma, S. Chemtob, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2001**, *281*, 391–400.
- [200] J.-L. Cracowski, L. Camus, T. Durand, P. Devillier, A. Guy, G. Hardy, F. Stanke-Labesque, J.-C. Rossi, G. Bessard, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2002**, *39*, 396–403.
- [201] C. Liu, T. Tazzeo, A. Guy, T. Durand, L. J. Janssen, *Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids* **2007**, *76*, 57–64.
- [202] a) G. Zanoni, A. Porta, G. Vidari, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4346–4351; b) G. Zanoni, A. Porta, F. Castronovo, G. Vidari, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6005–6010.
- [203] a) A. L. Levonen, A. Landar, A. Ramachandran, E. K. Ceaser, D. A. Dickinson, G. Zanoni, J. D. Morrow, V. M. Darley-Usman, *Biochem. J.* **2004**, *378*, 373–382; b) A. L. Levonen, D. A. Dickinson, D. R. Moellering, R. T. Mulcahy, H. J. Forman, V. M. Darley-Usman, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2001**, *21*, 1846–1851.
- [204] E. S. Musiek, L. Gao, G. L. Milne, W. Han, M. B. Everhart, D. Wang, M. G. Backlund, R. N. DuBois, G. Zanoni, G. Vidari,

- T. S. Blackwell, J. D. Morrow, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 35562–35570.
- [205] E. S. Musiek, G. L. Milne, B. McLaughlin, J. D. Morrow, *Brain Pathol.* **2005**, *15*, 149–158.
- [206] K. K. Murthi, R. G. Salomon, H. Sternlicht, *Prostaglandins* **1990**, *39*, 611–622.
- [207] K. K. Murthi, L. R. Friedman, N. L. Oleinick, R. G. Salomon, *Biochemistry* **1993**, *32*, 4090–4097.
- [208] a) I. Thoma, M. Krischke, C. Loeffler, M. J. Mueller, *Chem. Phys. Lipids* **2004**, *128*, 135–148; b) M. Iqbal, P. Evans, A. Lledo, X. Verdaguer, M. A. Pericas, A. Riera, C. Loeffler, A. K. Sinha, M. J. Mueller, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 276–280.
- [209] C. Loeffler, S. Berger, A. Guy, T. Durand, G. Bringmann, M. Dreyer, U. von Rad, J. Durner, M. J. Mueller, *Plant Physiol.* **2005**, *137*, 328–340.
- [210] C. Grun, S. Berger, D. Matthes, M. J. Mueller, *Funct. Plant Biol.* **2007**, *34*, 65–71.
- [211] C. Traidl-Hoffmann, V. Mariani, H. Hochrein, K. Karg, H. Wagner, J. Ring, M. J. Mueller, T. Jakob, H. Behrendt, *J. Exp. Med.* **2005**, *201*, 627–636.
- [212] a) A. Guy, T. Durand, J.-P. Vidal, J.-C. Rossi, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1543–1546; b) T. Durand, A. Guy, J.-P. Vidal, J.-C. Rossi, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3615–3624.
- [213] G. Just, C. Luthe, *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 1799–1805.
- [214] D. F. Taber, R. S. Hoerrner, R. J. Herr, D. M. Gleave, K. Kanai, R. Pina, Q. Jiang, M. Xu, *Chem. Phys. Lipids* **2004**, *128*, 57–67.
- [215] In sehr frühen präparativen Untersuchungen auf dem PG-Gebiet wurden verwandte C20-Derivate mit Oxobicyclo-[3.1.0]hexylcarbinol-Struktur zu 15-E₁-IsoP und 15-F₁-IsoP solvolytiert. Die Ausbeuten betrugen jedoch weniger als 10%; siehe: a) W. P. Schneider, U. Axen, F. H. Lincoln, J. E. Pike, J. L. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5895–5896; b) G. Just, C. Simonovitch, F. H. Lincoln, W. P. Schneider, U. Axen, G. B. Spero, J. E. Pike, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5364–5371; c) W. P. Schneider, U. Axen, F. H. Lincoln, J. E. Pike, J. L. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5372–5378.
- [216] a) D. F. Taber, R. J. Herr, D. M. Gleave, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 194–198; b) D. F. Taber, K. Kanai, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 11767–11782.
- [217] a) D. F. Taber, K. Kanai, R. Pina, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7773–7777; b) D. F. Taber, Q. Jiang, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1876–1884; c) D. F. Taber, M. Xu, J. C. Hartnett, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13121–13126; Korrektur: D. F. Taber, M. Xu, J. C. Hartnett, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15400; d) D. F. Taber, R. S. Hoerrner, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 441–447; e) D. F. Taber, K. Kanai, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7983–7987; f) D. F. Taber, D. Teng, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1607–1612.
- [218] D. F. Taber, Q. Jiang, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5991–5994.
- [219] D. F. Taber, K. Kanai, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6607–6609.
- [220] R. C. Larock, N. H. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7815–7816.
- [221] a) L. G. Quan, J. K. Cha, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12424–12425; b) L. G. Quan, J. K. Cha, *Chem. Phys. Lipids* **2004**, *128*, 3–14.
- [222] Z. Pudukulathan, S. Manna, S.-W. Hwang, S. P. Khanapure, J. A. Lawson, G. A. FitzGerald, J. Rokach, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11953–11961.
- [223] S. H. Jacobo, C.-T. Chang, G.-J. Lee, J. A. Lawson, W. S. Powell, D. Praticó, G. A. FitzGerald, J. Rokach, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1370–1379.
- [224] a) T. O. Schrader, M. L. Snapper, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9685–9689; b) T. O. Schrader, M. L. Snapper, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10998–11000; c) M. Shizuka, M. L. Snapper, *Synthesis* **2007**, 2397–2403; d) M. Shizuka, T. O. Schrader, M. L. Snapper, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1330–1334.
- [225] a) H. P. Acharya, Y. Kobayashi, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3547–3550; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3481–3484; b) H. P. Acharya, Y. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8435–8438; c) H. P. Acharya, K. Miyoshi, Y. Kobayashi, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3535–3538.
- [226] In einer früheren Untersuchung von Jung und Mitarbeitern wurde die relative Konfiguration der Epoxy-Gruppe und von C12 falsch zugeordnet; siehe: M. E. Jung, A. Kers, G. Subba-Nagounder, J. A. Berliner, *Chem. Commun.* **2003**, 196–197.
- [227] M. E. Jung, J. A. Berliner, D. Angst, D. Yue, L. Koroniak, A. D. Watson, R. Li, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3933–3935.
- [228] A. Schmidt, W. Boland, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1699–1706.
- [229] G. Helmchen, M. Ernst, G. Paradies, *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 495–506.
- [230] a) F. Van Hulle, V. Sipido, M. Vandewalle, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 2213–2216; b) P. De Clercq, M. De Smet, K. Legein, F. Vanhulle, M. Vandewalle, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1976**, *85*, 503–522.
- [231] N. Nakamura, K. Sakai, *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 1549–1552.
- [232] a) K. Weinges, G. Braun, B. Oster, *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 2197–2214; b) K. Weinges, W. Huber, U. Huber-Patz, H. Irngartinger, M. Nixdorf, H. Rodewald, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 761–772.
- [233] R. Bernini, E. Davini, C. Iavarone, C. Trogolo, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4600–4603.
- [234] a) M. Naruto, K. Ohno, N. Naruse, H. Takeuchi, *Chem. Lett.* **1978**, 1423–1424; b) K. Ohno, M. Naruto, *Chem. Lett.* **1979**, 1015–1016; c) K. Ohno, M. Naruto, *Chem. Lett.* **1980**, 175–176.
- [235] a) W. F. Berkowitz, I. Sasson, P. S. Sampathkumar, J. Hrabie, S. Choudhry, D. Pierce, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 1641–1644; b) C. Bonini, C. Iavarone, C. Trogolo, R. Di Fabio, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 958–961; c) K. Weinges, D. Brunner, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 54–68.
- [236] S. Lai, D. Lee, J. S. U, J. K. Cha, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7213–7217.
- [237] a) G. Zanoni, A. Porta, A. Meriggi, M. Franzini, G. Vidari, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6064–6069; b) G. Zanoni, E. M. Brunoldi, A. Porta, G. Vidari, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9698–9703.
- [238] B. Rondot, T. Durand, J. P. Girard, J. C. Rossi, L. Schio, S. P. Khanapure, J. Rokach, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8245–8248.
- [239] B. Rondot, T. Durand, J.-C. Rossi, P. Rollin, *Carbohydr. Res.* **1994**, *261*, 149–156.
- [240] a) B. Rondot, T. Durand, J.-P. Vidal, J.-P. Girard, J.-C. Rossi, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1995**, 1589–1594; b) A. Roland, T. Durand, D. Egron, J.-P. Vidal, J.-C. Rossi, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 245–251.
- [241] A. Roland, T. Durand, B. Rondot, J.-P. Vidal, J.-C. Rossi, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1996**, *133*, 1149–1154.
- [242] J.-P. Vionnet, P. Renaud, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1781–1790.
- [243] a) T. Durand, A. Guy, O. Henry, A. Roland, S. Bernad, S. El Fangour, J.-P. Vidal, J.-C. Rossi, *Chem. Phys. Lipids* **2004**, *128*, 15–33; b) S. El Fangour, A. Guy, V. Despres, J.-P. Vidal, J.-C. Rossi, T. Durand, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2498–2503.
- [244] a) S. W. Hwang, M. Adiyaman, S. Khanapure, L. Schio, J. Rokach, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10829–10830; b) J. Rokach, S. P. Khanapure, S. W. Hwang, M. Adiyaman, L. Schio, G. A. FitzGerald, *Synthesis* **1998**, 569–580.
- [245] E. J. Corey, N. M. Weinshenker, T. K. Schaaf, W. Huber, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5675–5677.
- [246] a) U. Jahn, E. Dinca, unveröffentlichte Ergebnisse. Modelluntersuchungen: b) U. Jahn, P. Hartmann, I. Dix, P. G. Jones, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 718–735.
- [247] G. A. Tolstikov, F. A. Valeev, I. P. Ibragimova, I. N. Gaisina, L. V. Spirikhin, M. S. Miftakhov, *Zh. Org. Khim.* **1992**, *28*, 1875–1882.
- [248] a) J. Mulzer, M. Czybowski, J. W. Bats, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2961–2964; b) J. Mulzer, A. K. Kermanchahi, J. Buschmann, P. Luger, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 531–539.

- [249] D. P. Curran, N. A. Porter, B. Giese, *Stereochemistry of Radical Reactions*, VCH, Weinheim, **1996**, S. 59–61.
- [250] F. Belval, A. Fruchier, C. Chavis, J.-L. Montero, M. Lucas, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 697–704.
- [251] H. Suemune, T. Kawahara, K. Sakai, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, 34, 550–557.
- [252] a) M. Iqbal, P. Evans, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 5741–5745; b) M. Iqbal, Y. Li, P. Evans, *Tetrahedron* **2004**, 60, 2531–2538.
- [253] D. F. Taber, J. H. Green, W. Zhang, R. Song, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5436–5439.
- [254] a) C. J. Sih, P. Price, R. Sood, R. G. Salomon, G. Peruzzotti, M. Casey, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 3643–3644; b) F. S. Alvarez, D. Wren, A. Prince, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 7823–7827; c) A. F. Kluge, K. G. Untch, J. H. Fried, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 7827–7832.
- [255] Übersicht zu gerichteten Protonierungen von Enolaten: N. Krause, S. Ebert, A. Haubrich, *Liebigs Ann.* **1997**, 2409–2418.
- [256] a) A. R. Rodríguez, B. W. Spur, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 7411–7415; b) A. R. Rodríguez, B. W. Spur, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 9249–9253; c) A. R. Rodríguez, B. W. Spur, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 4575–4579.
- [257] E. Loza, D. Lola, J. Freimanis, I. Turovskis, M. Gavars, A. Liepīpa, *Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis Kim. Ser.* **1985**, 4, 465–472.
- [258] S. El Fangour, A. Guy, J.-P. Vidal, J.-C. Rossi, T. Durand, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 989–997.
- [259] E. Pinot, A. Guy, A.-L. Guyon, J.-C. Rossi, T. Durand, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, 16, 1893–1895.
- [260] a) D. B. Miller, S. R. Raychaudhuri, K. Avasthi, K. Lal, B. Lelivison, R. G. Salomon, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 3164–3175; b) G. Subbanagounder, R. G. Salomon, K. K. Murthi, C. Brame, L. J. Roberts II, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7658–7666; c) S. C. Roy, L. Nagarajan, R. G. Salomon, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 1218–1224; d) W. Sha, R. G. Salomon, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5315–5326.
- [261] V. Amarnath, K. Amarnath, T. Masterson, S. Davies, L. J. Roberts II, *Synth. Commun.* **2005**, 35, 397–408.
- [262] D. F. Taber, Y. Pan, X. Zhao, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7234–7240.
- [263] D. F. Taber, Z. Zhang, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 926–933.
- [264] a) B. A. Pandya, M. L. Snapper, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3754–3758; b) D. F. Taber, P. G. Reddy, K. O. Arneson, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3467–3474; c) E. Pinot, A. Guy, A. Fournial, L. Balas, J.-C. Rossi, T. Durand, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3063–3069; d) P. Elsner, P. Jetter, K. Brodner, G. Helmchen, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2551–2563.