

**Untersuchungen zur Totalsynthese des triterpenoiden
Grundgerüsts anellierter Ringe nach dem Vorbild des
Antibiotikums Fusidinsäure**

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt dem Rat der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Diplomchemikerin Beatrice Liedtke

geboren am 22.12.72 in Erfurt

1	ALLGEMEINER TEIL	1
1.1	Vorwort	1
1.2	Zielstellung des DFG-Verbundprojektes	1
1.3	Einleitung.....	2
1.4	Aufgaben.....	7
1.5	Stand der Forschung.....	8
2	SPEZIELLER TEIL	13
2.1	Untersuchungen zur Inaktivierung von Fusidinsäure und Fusidinsäurederivaten durch Streptomyces-Stämme	13
2.2	Metabolite des Fusidinsäure- γ -lactons	16
2.2.1	Fermentation und Isolierung.....	17
2.2.2	Strukturaufklärung der Metabolite	18
2.3	Partial- und Totalsynthesen von Grundbausteinen für Triterpene mit fusidinsäure- ähnlichem Skeleton.....	22
2.3.1	Modelluntersuchungen zu Gerüstumlagerung von 14,15-Epoxy-13 β - methyl- gona-1,3,5(10)-trienen zu 14 β -Methyl- gona-1,3,5(10)-trien	23
2.3.1.1	Öffnung von 14,15-Epoxiden unter Nachbargruppenbeteiligung	26
2.3.1.2	Schlussfolgerung zu den Epoxidöffnungen.....	41

2.3.2	Totalsynthese von 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β - dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (55)	43
2.3.2.1	Synthesekonzept für (55)	44
2.3.2.2	Reaktionsführung.....	46
2.3.2.2.1	Alkylierungssynthese - Reaktionsschritte a), b) und c).....	46
2.3.2.2.2	Reaktion des Wiechert-Ketons mit dem Alkylierungssynthon – Stufe d)	47
2.3.2.2.3	Methylierung des Seco-gona-1,3,5(10),8(14)-tetraens – Stufe e)	55
2.3.2.2.4	Ringschlussreaktion – Stufe f)	59
2.3.2.2.5	Alternativer Weg zur Synthese von (55) ausgehend vom 8,13-Dimethyl-9-oxo-9,10-seco-gona-1,3,5(10),14-tetraen	62
2.3.2.2.6	Epoxidöffnung des Secoepoxids mit BF ₃ *Et ₂ O	67
2.3.3	Zusammenfassung der Ergebnisse der mikrobiellen Transformation und der Synthesechemie	69
3	EXPERIMENTELLER TEIL	73
3.1	Geräte und Materialien.....	73
3.1.1	NMR-Untersuchungen.....	73
3.1.2	IR-Untersuchungen.....	74
3.1.3	MS-Untersuchungen.....	74
3.1.4	Schmelzpunktbestimmung.....	74
3.1.5	HPLC-Untersuchungen.....	74

3.1.6	Dünnschichtchromatographie	74
3.1.7	Röntgenkristallstrukturanalyse	75
3.2	Lösungsmittel und Chemikalien	75
3.2.1	Trocknung der Lösungsmittel.....	75
3.2.2	Trocknung der Chemikalien	76
3.3	Physikochemische Eigenschaften der mikrobiellen Transformationsprodukte des Fusidinsäurelactons (2)	77
3.4	Vorschriften	79
3.4.1	17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen (6).....	79
3.4.2	Allgemeine Vorschrift zur Persäureepoxidation – 17 β -Hydroxy-3-methoxy- 13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (10) und 17 β -Hydroxy- 3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (9).....	79
3.4.3	17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α - epoxid (11) durch Sharpless-Epoxidierung	81
3.4.4	Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Acetylierung – 17 β -Acetoxy- 3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (17) und 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β - epoxid (18).....	82
3.4.5	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Öffnung der Epoxide (9 , 10 , 11 , 12 , 17 , 18) mit BF ₃ *Et ₂ O.....	83
3.4.5.1	17 β -Hydroxy- 3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien- (14 α ,15 α)-epoxid (9) mit BF ₃ *Et ₂ O – Produkte (25), (26), (27) und (28).....	83

3.4.5.2	17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (10) mit BF ₃ *Et ₂ O – Produkte (29) und (30).....	86
3.4.5.3	17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (11) mit BF ₃ *Et ₂ O – Produkte (22) und (24)	87
3.4.5.4	17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (12) mit BF ₃ *Et ₂ O – Produkt (57)	89
3.4.5.5	17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (17) mit BF ₃ *Et ₂ O – Produkte (19) und (20)	90
3.4.5.6	17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (18) mit BF ₃ *Et ₂ O – Produkt (21)	91
3.4.6	Öffnung des 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-14 α ,15 α -epoxids (11) mit p-Toluolsulfonsäure – Produkte (22), (23) und (24).....	92
3.4.7	2(3-Methoxy-phenyl)ethanol (32)	93
3.4.8	2(3-Methoxy-phenyl)-ethyl-tosylat (33).....	94
3.4.9	2(3-Methoxy-phenyl)-ethyl-bromid (33a).....	95
3.4.10	17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (35) durch Kombination von Wiechert-Keton und Tosylat (33).....	95
3.4.11	Methylierung des 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (35).....	97
3.4.12	Ringschlussreaktion des 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (36)	100

3.4.13	17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien (53) und 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien (54)	102
3.4.14	Öffnung des 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien (53) mit BF ₃ *Et ₂ O.....	105
4	LITERATURVERZEICHNIS	106
5	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	114
6	TABELLENVERZEICHNIS.....	117
7	SUBSTANZVERZEICHNIS.....	118

Abkürzungen

Spektroskopie und Chromatographie

δ	Verschiebung
1D	eindimensional
2D	zweidimensional
ACD	Advanced Chemical Development
ATR	Attenuated Total Reflectance
COSY	Correlated-Spectroscopy
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Doppeldublett
DEPT	distortionless enhanced by polarization transfer
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Coherence
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HOESY	Heteronuclear-Overhauser-Effect-Spectroscopy
HPLC	High Performance oder Pressure Liquid Chromatography = Hochleistungs- oder Hochdruck-Flüssigkeit chromatographie
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IR	Infrarot
m	Multipllett
MS	Massenspektrometrie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance = kernmagnetische Resonanz
NOESY	Nuclear-Overhauser-Effect-Spectroscopy
RP	Reversed Phase
s	Singulett
t	Tripllett
UV	Ultraviolett

Chemikalien und Lösungsmittel

$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	Bortrifluorid-Etherat
CDCl_3	Deuteriochloroform
DIBALH	Diisobutylaluminiumhydrid
DMF	Dimethylformamid

DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigester
EF-Tu/EF-G	Elongationsfaktor-Tu / Elongationsfaktor-G
FAD	Flavin- Adenin-Dinucleotid
GDP	Guanosindiphosphat
Glyme	Dimethoxyethan
GTP	Guanosintriphosphat
KtB	Kalium- tert.-Butylat
LDA	Lithiumdiisopropylamid
m	meta
MeI	Methyliodid
MeOH	Methanol
MRSA	Multiresistente <i>Staphylococcus aureus</i>
OAc	Acetyl- Rest
p	para
p-TsOH	p-Toluolsulfonsäure
R	Organischer Rest
T	Toluen
t-BuOH	tert.-Butanol
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
tRNA	Transfer-Ribonucleinsäure
WK	Wiechert-Keton

Einheiten und Formelzeichen

α	Drehwert
λ	Wellenlänge
°	Grad
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
F_p	Schmelzpunkt
g	Gramm
M	Molmasse

mg	Milligramm
ml	Milliliter
mol	Mol
ppm	part per million
R_f	Retentionsfaktor
R_t	Retentionszeit
RT	Raumtemperatur
z	Ladung

1 Allgemeiner Teil

1.1 Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen des DFG-Verbundprojektes „Mikrobielle Inaktivierung des Steroidantibiotikums Fusidinsäure“, welches aus einem biologischen und einem chemischen Teilprojekt (Schr 203/7-1 und Ka 1294/1-1) besteht.

Der biologische Teil berücksichtigt die molekularbiologischen und biochemischen Hintergründe, die zur Resistenzbildung bei Mikroorganismen durch Fusidinsäure führen. Gegenstand des chemischen Teils sind neue antibiotisch wirksame Verbindungen mit fusidinsäureähnlicher Grundstruktur, die gegen inaktivierende Enzyme beständig sind. Dabei sollten neue Wege zur Synthese alternativer terpenoide Grundbausteine gegangen werden. Dem Charakter eines Verbundprojektes entsprechend wurden spezifische Probleme in den jeweiligen Arbeitsgruppen (Jena/Osnabrück) sowie fachübergreifend gelöst.

1.2 Zielstellung des DFG-Verbundprojektes

Aus dem DFG-Teilprojekt Chemie (Ka 1294/1-1) ergaben sich nachfolgende Zielstellungen, die im Rahmen dieser Dissertation bearbeitet wurden. Die Arbeit wurde in einen chemisch-biologischen und einen chemischen-synthetischen Abschnitt untergliedert.

Im chemisch-biologischen Teil stehen Struktur-Wirkungs-Untersuchungen zur Spezifität und zum Wirkmechanismus der Esterase Fus H sowie zur allgemeinen antibakteriellen Aktivität von Fusidinsäurederivaten im Vordergrund. Aus ihnen sollte sich eine erste Arbeitshypothese und erste Ansatzpunkte zur Optimierung der Leitstruktur für terpenoide Bausteine mit fusidinsäureähnlicher Struktur ableiten lassen.

Inhalt des chemisch-synthetischen Teils ist der Aufbau eines triterpenoiden Grundgerüsts anellierter Ringe nach dem Vorbild des Antibiotikums Fusidinsäure.

1.3 Einleitung

Antibiotika [Gräfe, 1992; Rehm, 1997; Krohn, 1993] stellen eine der wichtigsten Wirkstoffgruppen in der Medizin dar. Sie haben entscheidend zur Erhöhung der Lebenserwartung und zur Verbesserung der Lebensqualität bei Menschen und Tieren beigetragen. Vor ihrer großtechnischen Gewinnung und ihrem flächendeckenden Einsatz war die Lebenserwartung in den industrialisierten Ländern um etliche Jahre geringer, weil durch bakterielle und virale Infektionen (z.B. Ruhr, Tuberkulose, Pest, Cholera, Pocken) viele Menschen starben.

Nach Waksman (1941) werden Antibiotika als niedermolekulare Sekundärmetabolite von Mikroorganismen definiert, die in geringen Konzentrationen das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmen oder sie abtöten. Der erweiterte Begriff der Antibiotika schließt heute chemisch oder biosynthetisch hergestellte Derivate sowie antibiotisch wirksame Substanzen aus Pflanzen mit ein. Antibiosen sind schon lange bekannt. Das wohl bekannteste Beispiel ist die 1929 von Sir Alexander Fleming erstmals bewusst als Antibiose wahrgenommene Wachstumshemmung bei Staphylococcen durch eine Kontamination mit dem Pilz *Penicillium notatum*. Der gesteigerte Bedarf von Therapeutika gegen Wundinfektionen während des 2. Weltkrieges führte zur Entwicklung industrieller Verfahren der Penicillingewinnung. Damit begann die eigentliche Antibiotikaforschung [Roempp].

Die intensive Suche nach Antiinfektiva in den Industrieländern führte schnell zu einer ständig steigenden Zahl an Antibiotika. Mehr als 20% (1600) der bekannten antibakteriellen Chemotherapeutika werden von Pilzen gebildet und davon werden nur 10 Substanzen kommerziell genutzt. Klinisch wichtig sind die Penicilline [Folwer, 2001], das Cephalosporin C [Shah, 2001], Griseofulvin [Bell-Syer, 2001] und die Fusidinsäure [Daehne, 1984; Reeves, 1987] [Roempp; Antibiotikafibel; Rote Liste; Gräfe, 1992].

Antibiotika hemmen reversibel das Wachstum von Mikroorganismen (bakteriostatische Wirkung) oder töten diese ab (bakteriozid wirksam). Die wichtigsten Angriffspunkte der therapeutisch eingesetzten Antibiotika in der Zelle sind die Zellwand und ihre Biosynthese (z. B. Penicilline), die Cytoplasmamembran (Valinomycin, Polyether), die Transkription (Actinomycine), die Translation (Tetracycline) und die Replikation (Novobiocin). Diese Wirkmechanismen bedingen neben dem therapeutischen Effekt Nebenwirkungen, weil nicht nur die durch Bakterien geschädigten, sondern auch die gesunde Zellen angegriffen werden können [Roempp; Antibiotikafibel; Rote Liste].

Um in Gegenwart von antibiotisch wirksamen Therapeutika überleben zu können, werden bei Mikroorganismen Schutzmechanismen induziert, die so genannten Resistenzen, die verschie-

dene biochemische Ursachen haben können. Resistenzen gegenüber Antibiotika werden von Mikroorganismen als Gegenmaßnahme (Abwehrreaktion) entwickelt, um ihr eigenes Überleben zu sichern.

Überdies ist die stete Zunahme der Resistenzentwicklung problematisch. Häufig treten Kreuzresistenzen auf, d.h. aus der Resistenzentwicklung gegen ein Antibiotikum folgt die gleichzeitige Resistenz gegen ein oder mehrere Antibiotika mit gleichem Wirkungsmechanismus oder Penetrationsweg, ohne dass der Erreger mit diesem Antibiotikum in Kontakt gekommen ist. Diese multiresistenten Keime („nosokomiale Keime“) sind vor allem in Krankenhäusern latent vorhanden (Hospitalismus) und stellen eine große Gefahr dar [Hryniewicz, 1999; Cunha, 1998; Eveillard, 2002; Whitby, 1999]. Eine Ursache für die rasche Resistenzzunahme, ist in der Praxis früherer Jahre zu sehen und dem daraus entstandenen Selektionsdruck, der durch die Anwesenheit von Antibiotika auf pathogene Keime ausgeübt wird. Damals wurden Antibiotika massiv bei Bagatellerkrankungen angewandt. Hinzu kam, dass gleiche oder ähnliche Antibiotika in geringen Konzentrationen und über lange Zeiträume in der Veterinärmedizin eingesetzt wurden (Mast). Damit wurde das Entstehen resistenter Keime begünstigt, die über die Nahrungskette auf den Menschen übertragen werden konnten [Roempp].

Das Antibiotikum Fusidinsäure {nach IUPAC-Nomenklatur 2-(16-Acetoxy-3,11-dihydroxy-4a,8,10,14-tetramethyl-hexa-decahydro-cyclo-penta[a]phenanthren-17yliden)-6-methyl-5-enon-säure in den weiteren Ausführungen Fusidinsäure genannt} ist seit 1962 bekannt [Godtfredsen, 1962; Antibiotikafibel], wird aber nicht routinemäßig sondern nur im Notfall eingesetzt, daher auch die Bezeichnung Reserveantibiotikum. Auf Grund ihrer spezifischen Wirkung wird Fusidinsäure bei schweren Infektionen durch grampositive Bakterien wie z.B. methicillinresistente *Staphylococcus aureus*-Stämme (MRSA) eingesetzt, wenn bereits andere Medikamente, wie z.B. moderne β -Lactame, Chinolone oder Methicillin versagen. Die Klassifizierung als Reserveantibiotikum beinhaltet die eingeschränkte Nutzung des Wirkstoffes, um der Resistenzbildung vorzubeugen.

Um resistente Keime auch in Zukunft bekämpfen zu können, wird die Forschung weiter an der Aufklärung von Resistenzmechanismen und der Entwicklung neuer Antibiotika arbeiten, die andere zelluläre Ziele (Targets) beeinflussen.

Fusidinsäure gehört zu den Antibiotika, die nicht, wie die am meisten verwendeten β -Lactame die Zellwandbiosynthese, sondern ein spezielles Target, die Proteinsynthese hemmen und somit über einen alternativen und sehr effektiven Wirkmechanismus verfügen [Antibiotikafibel; Henschler]. Fusidinsäure bindet an den prokaryontischen Elongationsfaktor

EF-G (Abb. 1) bzw. den eukaryontischen Elongationsfaktor EF-2 [Justice, 1998] und hemmt die Translokation (Abb. 2) bei der ribosomalen Proteinbiosynthese.

Während der ribosomalen Polypeptidsynthese werden Aminosäure-Reste von der beladenen tRNA an das C-terminale Ende der wachsenden Peptidkette übertragen. Das Ribosom verfügt über 3 tRNA-Bindungsstellen: an die A-Bindungsstelle koppelt die Aminoacyl-tRNA, die P-Bindungsstelle bindet die Polypeptidkette, und die E-Bindungsstelle bindet vorübergehend die austretende tRNA. Während der Peptidbiosynthese wird die Aminoacyl-tRNA mit dem wachsenden Polypeptid übertragen. Dabei wird die nascente Polypeptidkette in einem dreiteiligen Reaktionszyklus, der Elongation, um einen Rest verlängert, d.h. durch Aminoacyl-tRNA-Bindung, Transpeptidierung und Translokation. An diesem durch GTP-Hydrolyse betriebenen Prozess sind Elongationsfaktoren wie EF-Tu und EF-G beteiligt. Bei der Startreaktion des Elongationsschrittes entsteht ein Komplex aus GTP und EF-Tu, der mit der eintretenden Aminoacyl-tRNA assoziiert ist. Die Peptidbindung wird während der zweiten Stufe des Elongationszykluses gebildet. Die wachsende Polypeptidkette wird um eine Aminosäure verlängert und auf die tRNA der A-Bindungsstelle übertragen (Transpeptidierung). Im letzten Schritt der Kettenverlängerung wird die unbeladene tRNA zur Austrittsstelle E transferiert und die Peptidyl-tRNA aus der Bindungsstelle A zusammen mit der gebundenen mRNA zur P-Bindungsstelle befördert (Translokation). Für die Translokation sind der Elongationsfaktor EF-G und GTP notwendig, die an das Ribosom binden. Erst durch die GTP-Hydrolyse wird EF-G freigesetzt und somit die Voraussetzung für einen neuen Elongationszyklus geschaffen, denn die ribosomale Bindung von EF-G und EF-Tu schließen sich aus [Voet, 1994].

Die Fusidinsäure bindet an den Komplex aus Ribosom, EF-G und GDP und verhindert somit dessen Dissoziation (Abb. 1). Damit wird die Einleitung eines erneuten Translationszyklus (Elongation) unterbunden. Neben Kirromycin und Puromycin gehört Fusidinsäure (**1**) zu den wenigen bekannten Antibiotika, die die bakterielle Proteinsynthese auf der Ebene der Elongationsfaktoren (EF-Tu bzw. EF-G) inhibieren. [Gräfe, 1992; Voet, 1994]

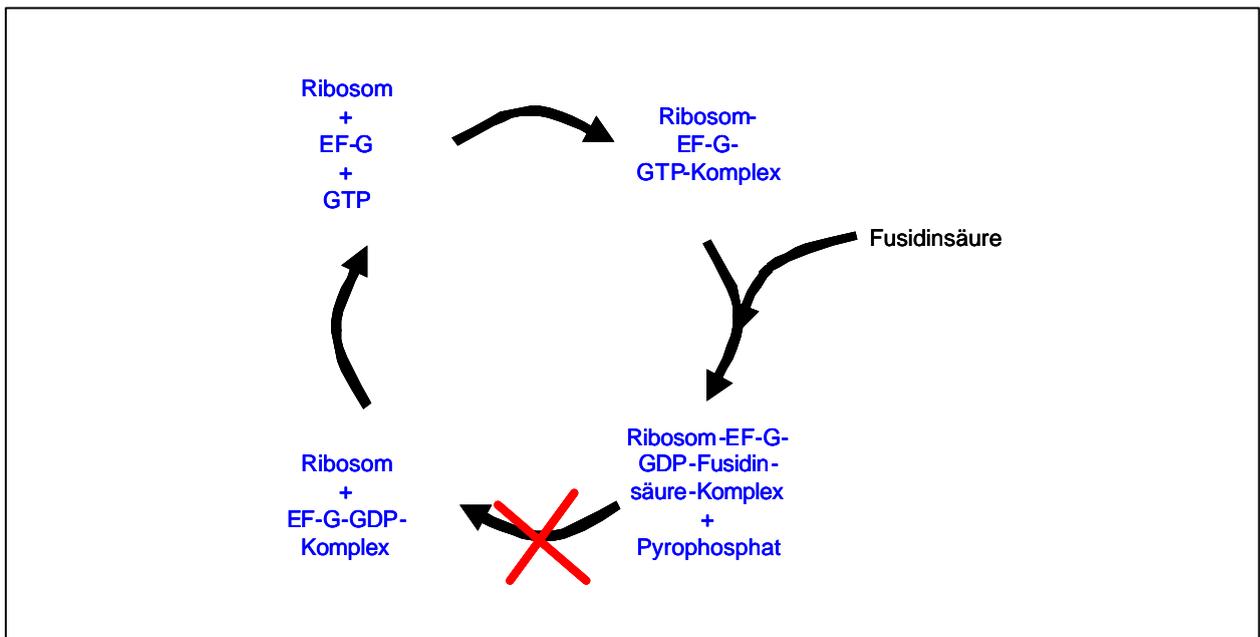


Abb. 1: Wirkmechanismus der Fusidinsäure (schematisch)

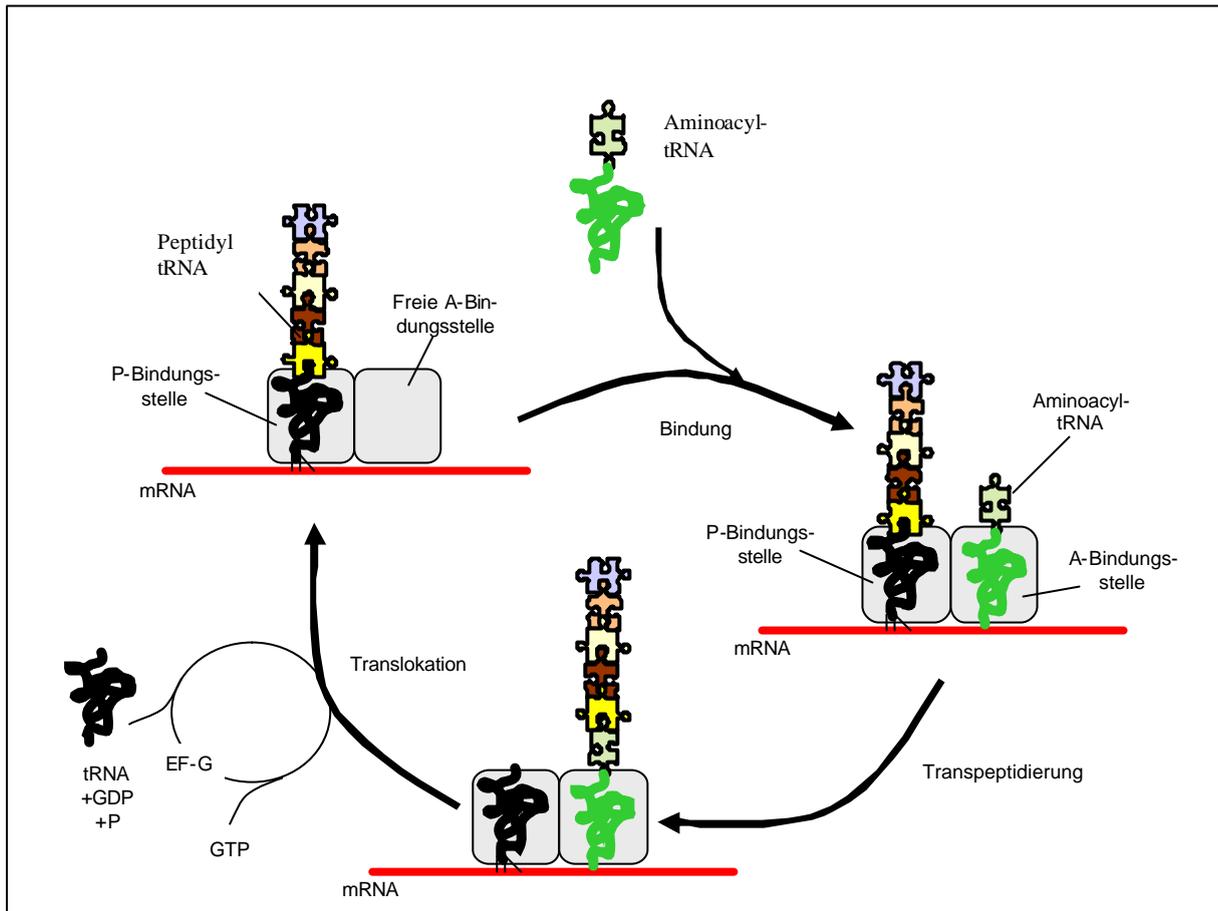


Abb. 2: Der translationale Elongationszyklus

Fusidinsäure wirkt bakteriostatisch gegen eine Vielzahl grampositiver Bakterien (Staphylococcen, Streptococcen, Neisserien, Corynebakterien, Clostridien und *Mycobacterium tuberculosis*). Sie ist biologisch inaktiv gegenüber allen gramnegativen Bakterien, was auf eine mangelnde Penetration durch die Poren der äußeren Membran zurückzuführen ist [Antibiotikafibel; Rote Liste]. Darüber hinaus hat sie sich bezüglich Verträglichkeit und Wirkung als Antibiotikum bewährt. Sie wird in Form von Natrium- und Ammonium-Salzen systemisch und lokal, allein oder in Kombination mit anderen Antibiotika verabreicht [Antibiotikafibel; Rote Liste]. Neben den spezifischen antiinfektiven Eigenschaften wurde in jüngster Zeit auch über den Einsatz bei Hauterkrankungen (Neurodermitis, Verbrennungen, Verätzungen) und über antivirale [Czajkowski, 1989] und immunmodulatorische Eigenschaften berichtet [Christiansen, 1999].

Um diese besonderen Eigenschaften und den Einsatz als Reserveantibiotikum auch weiterhin zu bewahren, sollte die systemische Langzeitbehandlung nur im Notfall erfolgen. Grund hierfür sind auftretende Resistenzen bei Dauerbehandlung. Ein Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, mögliche Resistenzen mit ihren Ursachen frühzeitig aufzuklären und Wege zu deren Überwindung in Form neuer vergleichbarer Präparate dieses Typs aufzuzeigen.

1.4 Aufgaben

Im Rahmen dieser Dissertation sollten Untersuchungen zur Struktur und Wirkung sowie zur Spezifität der Esterase Fus H durchgeführt werden. Mit der Isolierung, Identifizierung und Charakterisierung von Metaboliten der Fusidinsäuretransformation, war ein Beitrag zur Aufklärung des Mechanismus der Fusidinsäuredeaktivierung zu liefern. Nach Metabolisierungsprodukten sollten dabei nicht nur bei *Streptomyces lividans*, sondern auch bei anderen Streptomyceten gesucht werden.

Mit dem Schwerpunkt, durch Partial- und Totalsynthese neue Bausteine mit fusidinsäureähnlicher Grundstruktur und somit Voraussetzungen für neue antibakterielle Wirkstoffe herzustellen, sollte ein Beitrag zur Überwindung dieser speziellen Resistenz geleistet werden.

Daraus ergaben sich folgende detaillierte Aufgabenstellungen:

- In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. H. Schrempf sollten orientierende Struktur-Wirkungs-Analysen bezüglich der Spezifität der Esterase Fus H durchgeführt werden
- Mit der Aufklärung von Hauptmetaboliten der Fusidinsäuretransformation in Streptomyceten sollte ein Beitrag zur Aufklärung der Fusidinsäureresistenz unter dem Einfluss von Fus H und anderen Enzymen erbracht werden
- Das Ziel der synthetischen Arbeiten bestand in der Partial- und Totalsynthese des 19-Nor-Fusidgrundgerüsts in Form von 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (**55**) (Abb. 3). Dieser neue Grundbaustein sollte zur Synthese bislang unbekannter Fusidinsäureanaloge vom 19-Nor-Fusidantyp genutzt werden.
- Für die Einführung der 8 α - und 14 β -Methylgruppe in das Gonangrundgerüst sollten geeignete Ausgangsmaterialien und Methoden erprobt bzw. zu entwickelt werden.
- Mit Hilfe von Modellreaktionen an 17-Keto- oder 17 β -Hydroxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trienderivaten war die Methylgruppenwanderung von 13 β nach 14 β zu untersuchen.
- Ausgehend vom Wiechert-Keton [Hajos, 1974; Hajos, 1967; Eder, 1971; Eder, 1978; Eder, Patent; Cai, 1985; Eder, 1976; Golinski, 1993], sollte die Retrosynthese

se des Grundbausteins (**55**) mit den für 19-Nor-Fusidane charakteristischen Merkmalen realisiert werden (Abb. 3).

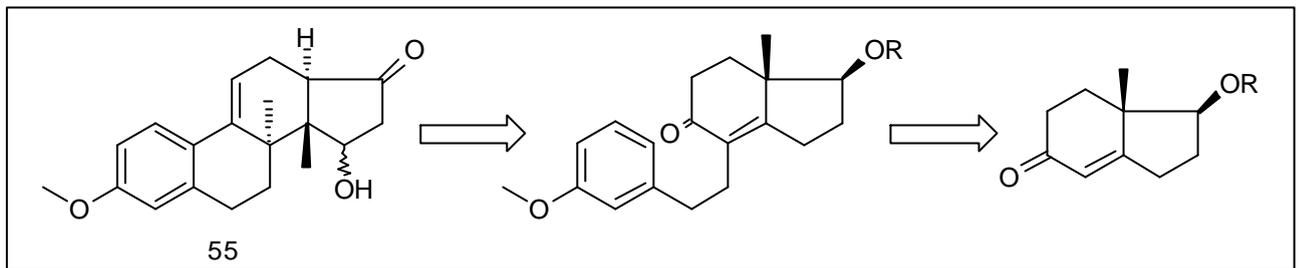


Abb. 3: Retrosynthese des totalsynthetischen Zielmoleküls

1.5 Stand der Forschung

Fusidinsäure besitzt eine triterpenoide Struktur, deren antibiotische Wirkung, ohne gleichzeitige hormonelle Wirksamkeit ein Novum für Triterpenoide darstellt. Dieses Phänomen wird durch die von den Steroiden abweichende Struktur hervorgerufen, die wiederum mit der unterschiedliche Biosynthese der Fusidinsäure im Vergleich zu den Steroiden erklärt werden kann.

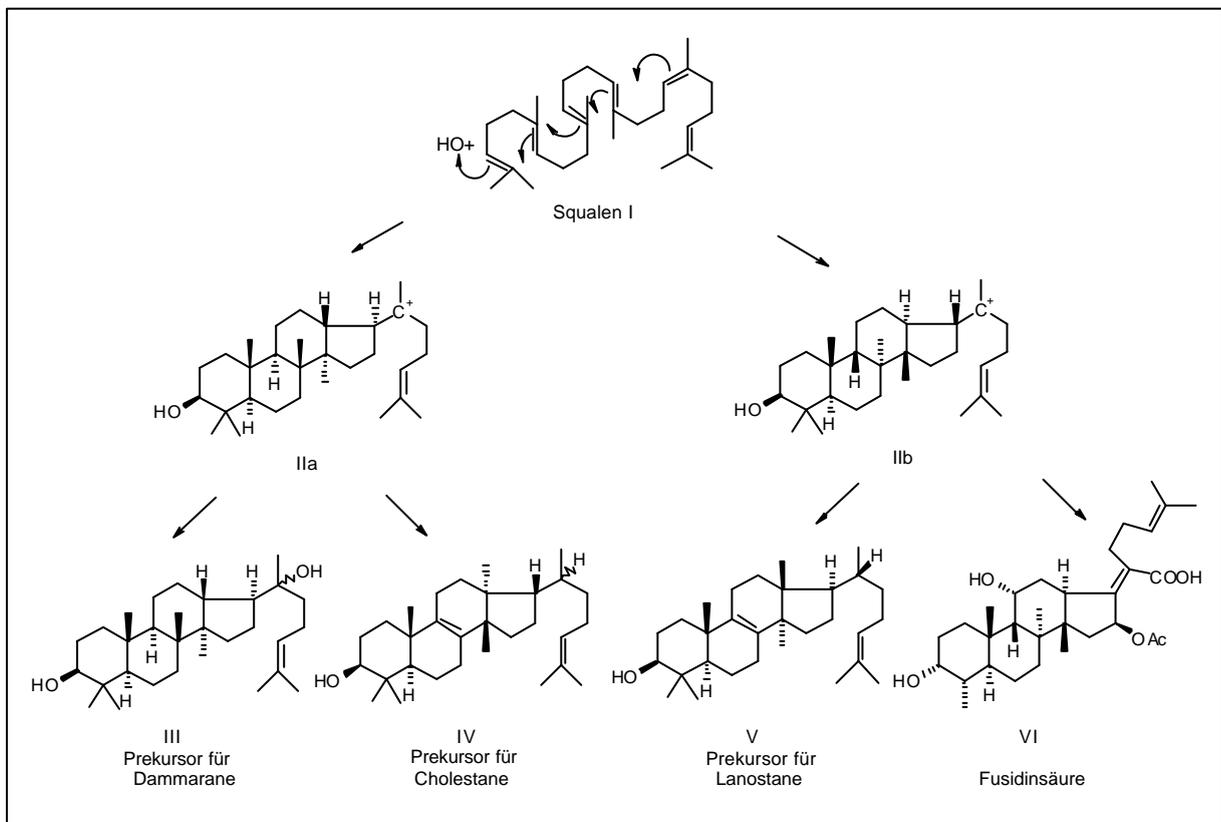


Abb. 4: Biosynthese der Fusidinsäure im Vergleich zu den Steroiden

Die voneinander abweichenden Biosynthesewege von Fusidinsäure und Steroiden sind in Abb. 4 dargestellt. Ausgehend vom Squalen (**I**), dem gemeinsamen Prekursor für Cholesterin, Dammarane, Lanosterin und Fusidinsäure gibt es mehrere Möglichkeiten des Ringschlusses. Der eine Weg führt über das Kation (**IIa**) entweder durch Gerüstumlagerung zum zentralen Produkt (**IV**), aus dem das Cholesterin und im weiteren Biosyntheseweg die Steroide hervorgeht oder über den Alkohol (**III**) zu den Damaranen. Eine andere Ringknüpfung des all-trans-Squalens (**I**) führt zum Ion (**IIb**), dem Epimer zu (**IIa**) und Prekursor für das Lanosterin (**V**). Die Fusidinsäure (**VI**) entsteht aus dem Kation (**IIb**) durch Transformation der Seitenkette unter Erhalt des Grundgerüsts. Dieser Biosyntheseschritt ist noch nicht völlig geklärt [Antibiotics II].

Für die von den Steroidhormonen abweichende Wirksamkeit ist die unterschiedliche räumliche Anordnung, das heißt die Konformation und Konfiguration der anellierten Ringe bzw. der Substituenten am Terpen (8α - und 14β -Methylgruppen) verantwortlich. Auffällig ist die trans-cis-trans-Verknüpfung der Ringe und die daraus resultierende Krümmung des Moleküls bedingt durch die Wannenkonformation des B-Ringes (Abb. 5).

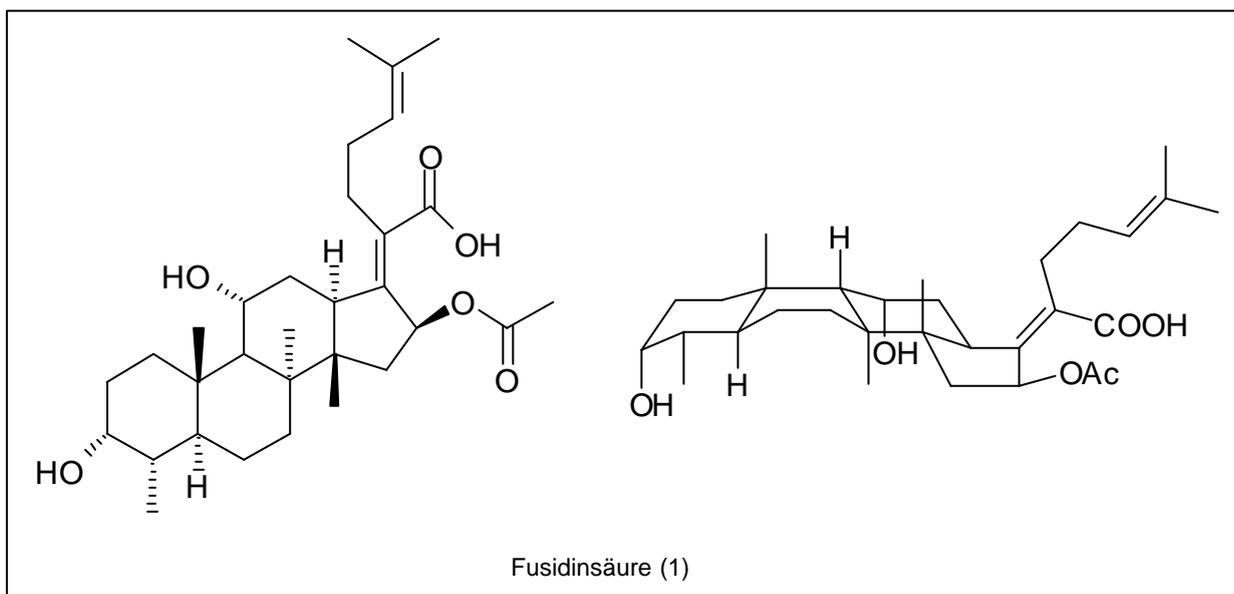


Abb. 5: Struktur der Fusidinsäure

Aus Struktur-Wirkungsbeziehungen [Godtfredsen, 1962; von Daehne, 1979] geht hervor, dass neben der Wannenkonformation des B-Ringes die 17,20-Doppelbindung bzw. 17S,20S-Konfiguration des entsprechenden Dihydroproduktes [Duvold, 2001] und die unmittelbare Nachbarschaft der C-20-Carboxyl- und der 16β -Acetoxygruppe für die antibakterielle Wirkung essentiell sind.

Ein spezielles Problem bei der Verwendung von Fusidinsäure in der Therapie bakterieller Infektionen ist das relativ zeitige Entstehen resistenter Keime.

Folgende Resistenzursachen wurden beobachtet [Henschler]

- Mutationen innerhalb des EF-G-Gens, die zu einer veränderten Proteinstruktur führen
- verstärkter Efflux, d.h. Ausschleusen des Wirkstoffes bei resistenten Staphylokokken
- Metabolisierung, d.h. Inaktivierung der Fusidinsäure.

Bei Bakterien, Streptomyceten wurde unter dem Einfluss von Fusidinsäure ein besonderer Resistenzmechanismus von Schrempf et al. beobachtet [von der Haar, 1991, 1995, 1997], der auf eine Metabolisierung des Antibiotikums zurückzuführen ist. Die spezifische Esterase Fus H, deren Biosynthese (Genexpression) durch die Anwesenheit von Fusidinsäure in resistenten Bakterien induziert wird, hydrolysiert die 16-Acetoxyfunktion unter Bildung der 16 β -Hydroxyfusidinsäure, die im Nährmedium spontan in das stabile inaktive Fusidinsäurelacton (**2**) (1,4a,10a,10b-Tetra-methyl-7-(4-methyl-pent-3-enyl)-2,3,4,4a,4b,5,6,6a,8,9a,10,10a,10b,11,12,12a-hexadecahydro-1H-9-oxa-penta-leno[2,1-a]phenanthren-2,5diol) (**2**) umgewandelt wird (Abb. 6).

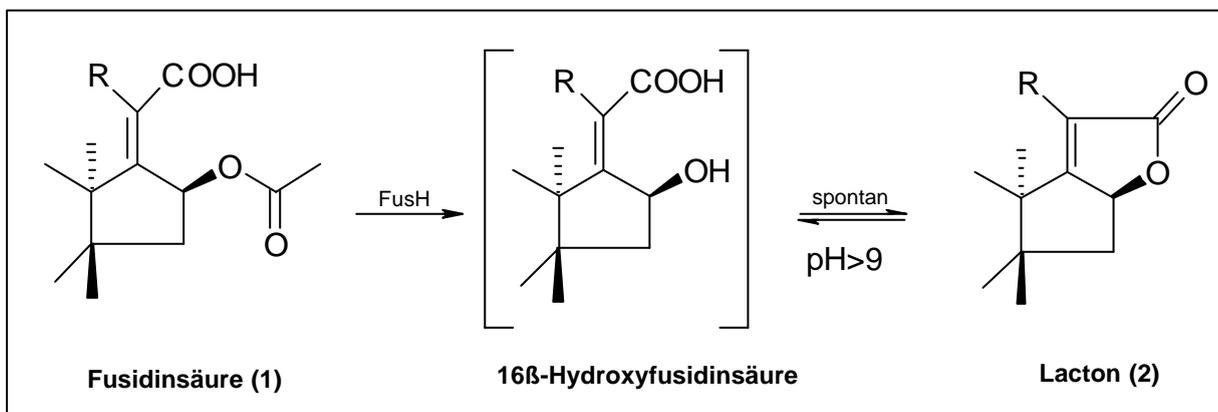


Abb. 6: Inaktivierung der Fusidinsäure durch Fus H

Aufgrund der klinischen Bedeutung von Fusidinsäure ist es sinnvoll, synthetische Wege zur Gewinnung von strukturell modifizierter Fusidinsäure zu suchen, die nicht inaktiviert werden. Neben der partialsynthetischen Abwandlung von biotechnisch hergestellter Fusidinsäure (**1**) erscheint eine Totalsynthese von (**1**) und deren Derivaten als technisch durchführbar und ökonomisch vertretbar. Die Totalsynthese eröffnet vielfältige Möglichkeiten für strukturelle Vari-

anten, die ansonsten über den partialsynthetischen Weg ausgehend von der mikrobiologisch gewonnenen Fusidinsäure, nur schwer zugänglich wären.

Totalsynthetische Wege für die Gewinnung des tetracyclischen Ringsystems der Fusidinsäure wurden bereits von Dauben et al. [Dauben, 1972] und Barriault et al. [Barriault, 1997] beschrieben.

Ausgehend vom Wiechert-Keton wurde nach Dauben in einer mehrstufigen Synthese unter anderem durch Epoxidöffnungen unter Wagner-Meerwein-Umlagerungsbedingungen der Fusidinsäuregrundkörper aufgebaut (Abb. 7).

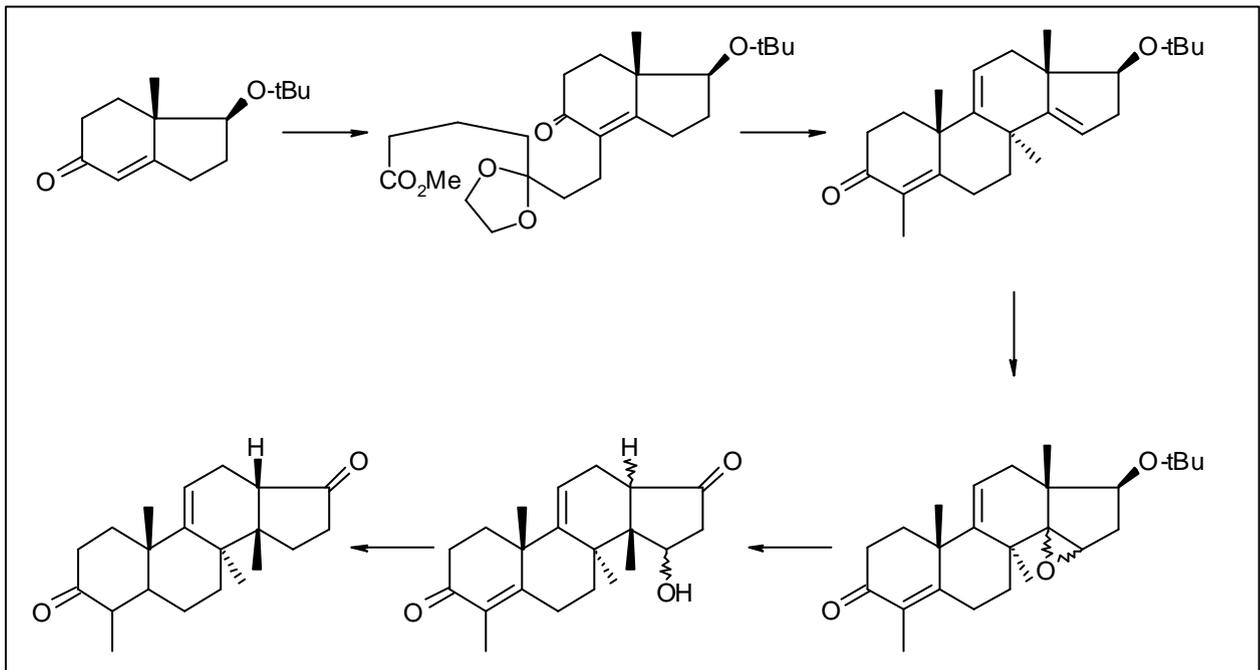


Abb. 7: Totalsynthese nach Dauben

Barriault et al. verfolgten eine andere Strategie, um zum Zielmolekül, dem Grundgerüst der Fusidinsäure zu gelangen. Den Schwerpunkt stellte zunächst die Konstruktion eines Macrozykluses via transannularer Diels-Alder-Reaktion und Aldolreaktionen dar. Der entscheidende Schritt, durch intramolekulare Aldolkondensation den D-Ring aufzubauen, gelang leider nicht (Abb. 8).

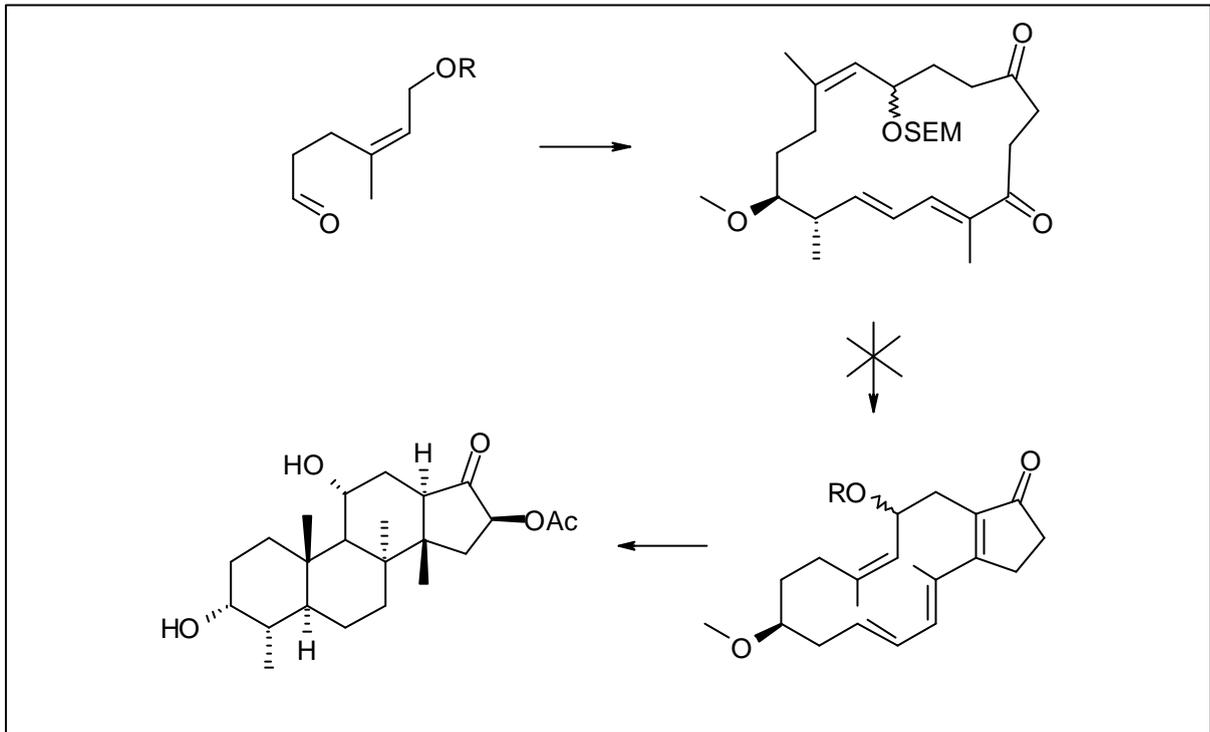


Abb. 8: Totalsynthesevorschlag nach Barriault

Diese neueren Untersuchungen verdeutlichen einerseits die Schwierigkeiten aber auch das Interesse am Aufbau des anellierten Ringsystems nach dem Muster der Fusidinsäure.

2 Spezieller Teil

2.1 Untersuchungen zur Inaktivierung von Fusidinsäure und Fusidinsäurederivaten durch Streptomyces-Stämme

Wie aus dem Arbeitskreis von Schrempf et al. berichtet wurde, wird Fusidinsäure in *Streptomyces lividans* durch die Esterase Fus H inaktiviert [von der Haar, 1991, 1997]. Mit der Abspaltung des Acetylrestes und der intramolekularen Lactonisierung ist ein totaler Aktivitätsverlust verbunden [von der Haar, 1995] (Abb. 9). Esterspaltungen von typischen Steroidestern aus der Estran-, Androstan- und Cholestanreihe, die strukturell erheblich von der Fusidinsäure abweichen, ergaben mit Fus H keine Reaktion, d.h. bei Fus H sollte es sich um eine spezifische Esterase handeln, die nur Verbindungen mit fusidinsäureähnlicher Struktur hydrolysieren kann.

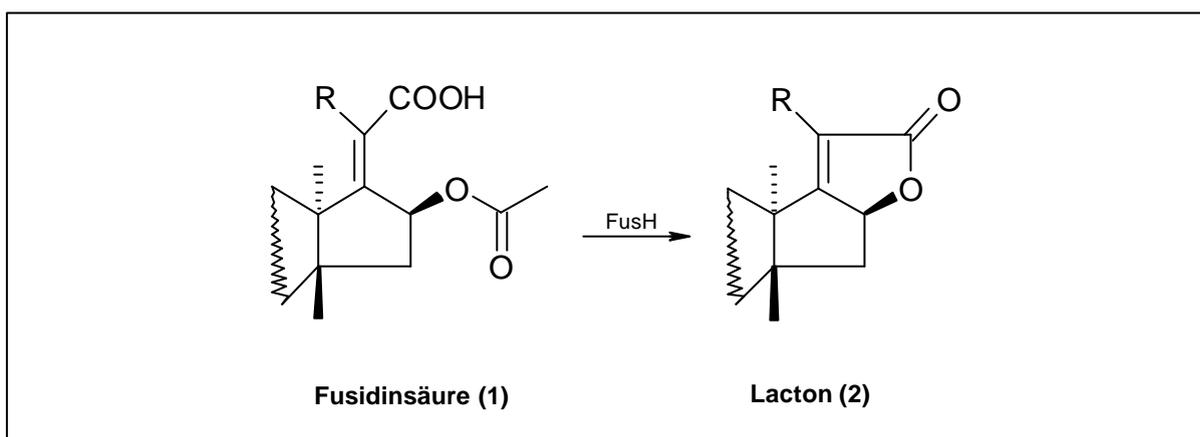


Abb. 9: Inaktivierung durch Fus H

Um festzustellen, ob derartige bei *S. lividans* beobachteten Metabolisierungen auch bei anderen Stämmen auftreten und es sich somit um einen verallgemeinerungsfähigen Prozess handelt, wurden in die Untersuchungen andere Streptomyceten (*S. griseous*, *S. vinaceus*, *S. tendea*, *S. reticuli*) einbezogen [von der Haar, 1991, 1995, 1997]. In allen Fällen wurde die Fusidinsäure (1) durch Enzyme verändert. Der Weg der Metabolisierung ließ sich qualitativ mittels DC von Kulturextrakten an Kieselgel sowie durch HPLC verfolgen. Unter dem Einfluss des exprimierten Fus H-Proteins wurde die Estergruppierung in Analogie zur chemischen Verseifung mit methanolischer HCl gespalten (Abb. 9).

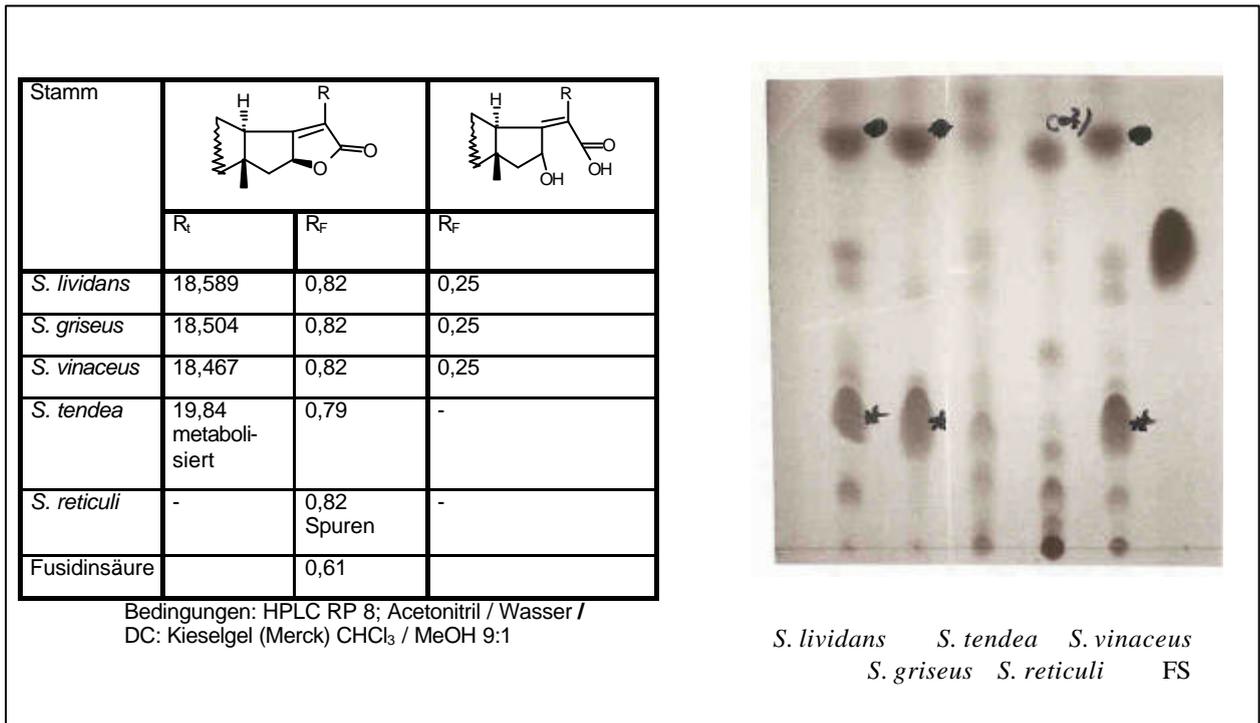


Abb. 10: Untersuchung von Metaboliten der Fusidinsäure

Mittels DC konnte nachgewiesen werden, dass primär die 16 β -Hydroxyfusidinsäure entsteht, die im Nährmedium unter nahezu neutralen Bedingungen durch intramolekularen Ringschluss zum stabilen γ -Lacton (**2**) reagiert (Abb. 6, 9). Dieses Lacton ist biologisch inaktiv und wird durch Fus H nicht weiter angegriffen. Auch dies ist eine Bestätigung für die Selektivität der Esterase, die offenbar nicht in der Lage ist, den inneren Ester zu spalten.

Vor allem bei der Hydrolyse von (**1**) mit *S. griseus* und *S. vinaceus* wurde die Bildung des γ -Lactons (**2**) als Hauptprodukt beobachtet. Dies kann als indirekter Nachweis für Fus H gewertet werden (Abb. 10).

Vorstellbar wäre neben dem oben gezeigten Inaktivierungsmechanismus auch eine intramolekulare Umesterung durch Fus H (Abb. 11).

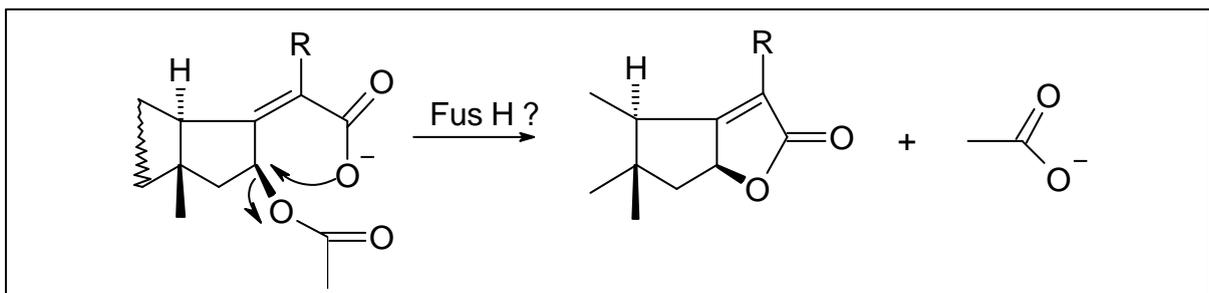


Abb. 11: Intramolekulare Umesterung

Deutliche Veränderungen (Bildung von polaren Metaboliten), waren im Produktmuster bei der Umsetzung von Fusidinsäure mit *S. tendea* und *S. reticuli* zu erkennen. Dies kann als ein Indiz für weitere Enzymaktivitäten gewertet werden. In wie weit die antibiotische Wirkung dadurch verändert wird, wurde nicht untersucht (Abb. 10).

Für die Untersuchungen der Substratspezifität der Esterase Fus H [von der Haar, 1997] und der Ableitung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen wurden neben der Fusidinsäure weitere 16-substituierte Verbindungen verwendet, die freundlicherweise von Dr. Daehne (Leo Pharmaceutical Produkts, Denmark) zur Verfügung gestellt wurden (Tabelle 1).

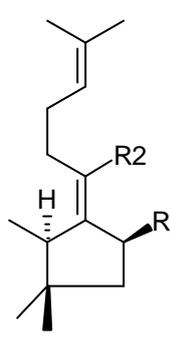
	R1	R2	Hydrolyse mit Fus H [%]
		β -O-CO-CH ₃	COOH
	β -O-CHO	COOH	64
	β -O-CO-CH ₂ -CH ₃	COOH	31
	β -S-CO-CH ₃	COOH	90
	β -O-CO-CH ₃	CO-NH-CH ₂ -COOH	81
	α -O-CO-CH ₃	COOH	9
	Tetrahydrofusidinsäure		84

Tabelle 1: Substituentenvariation in Position 16

Die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen interpretieren:

- unabhängig davon, ob eine 16 β -Sauerstoff- oder eine 16 β -Schwefelgruppierung vorliegt, ist Fus H aktiv,
- mit Erhöhung der Kettenlänge ist ein Abfall der Fus H-Aktivität zu verzeichnen und
- die 16 α -substituierte Verbindung weist nur eine geringe Spaltungstendenz auf.

Danach könnte es sich um eine spezielle Esterase handeln, die nach den bisherigen Untersuchungen nur mit bestimmten fusidinsäureähnlichen Verbindungen reagiert [Kasch/Schrempf, persönliche Kommunikation]. Einfache, durch andere Esterasen (z.B. Cholinesterase) leicht verseifbare Ester werden nicht angegriffen. Die Wirksamkeit der Esterase wird offenbar durch die sterische Anordnung sowie die Größe der pharmakophoren Gruppierungen am D-Ring des Substrates beeinflusst. Das wird unter anderem durch die abnehmende Enzymaktivität, d.h. Esterspaltungstendenz, beim Übergang von Acetyl- zur Propionylgruppe deutlich und bestätigt die oben aufgeführten Arbeitshypothesen.

Die Sonderstellung von Fus H kommt auch darin zum Ausdruck, dass nicht nur Ester sondern auch die analogen Thioverbindungen gespalten werden. Diese Ergebnisse machen weiterführende Untersuchungen notwendig.

Die Aktivität typischer Zn^{2+} -enthaltender Esterase [Zheng, 1992] auf Fusidinsäure wurde noch nicht untersucht. Diese Esterasen sollten sich anders verhalten als Fus H, weil allein die entsprechenden Schwefelverbindungen das Zink komplexieren und somit die Zn-Esterasen inaktivieren können.

2.2 Metabolite des Fusidinsäure- γ -lactons

Im obigen Abschnitt stand die Metabolisierung der Fusidinsäure durch die Serinesterase Fus H im Vordergrund. Unter dem Einfluss von Fusidinsäure werden in Streptomyceten neben FuS H auch noch andere Reduktions-Oxidations-Enzyme aktiviert, die zu einer metabolischen Veränderung des Substrats führen können [von Daehne, Konferenz 1995]. Aus den oben dargestellten Untersuchungen geht hervor, dass neben der Lactonisierung auch andere Veränderungen wie Hydroxylierungen und Dehydrierungen auftreten.

Um die Metabolite bestimmten Enzymen zuordnen zu können, waren unter anderem deren Strukturen aufzuklären. Aus diesem Grund wurde das bekannte γ -Lacton (**2**) mittels präparativer DC isoliert und die Struktur durch NMR (1D- und 2D-Experimente) bestimmt. Das Ziel dieser Messung war, die durch Schrepf et al. [von der Haar, 1991] gefundenen Daten zu bestätigen und mittels moderner 2D-Messungen zusätzliche Informationen bezüglich der Konfiguration von Substituenten und der Konformation der Ringe zu erhalten. Ein weiterer Gesichtspunkt war eine schnellere Aufklärung neuer Metabolite durch Vergleich der Datensätze.

Zum besseren Verständnis werden in den Ausführungen folgende Nummerierungen der Atome für das γ -Lacton (**2**) und die nachfolgenden Substanzen, einschließlich der synthetischen Produkte zugrunde gelegt (Abb. 12) [Hill, 1991; Fresenius, 1998].

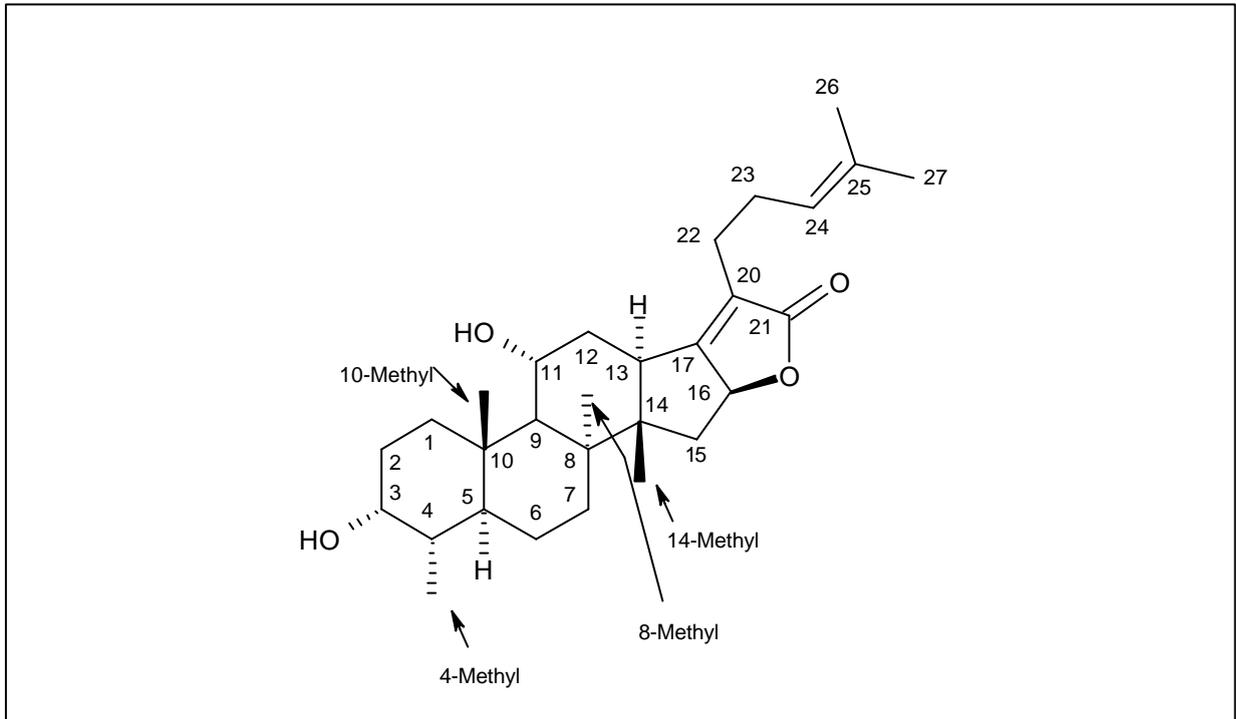


Abb. 12: Bezifferung der Atome im Molekül

2.2.1 Fermentation und Isolierung

Um weitere Metabolite der Fusidinsäuretransformation nachzuweisen, wurde das γ -Lacton (**2**) zusammen mit FAD als Cofaktor dem Nährmedium von Streptomyceten, z.B. *S. lividans* zugesetzt. Die Fermentation an der Universität Osnabrück (G. Biucovic, H. Schrepf) lieferte nach extraktiver Aufarbeitung und Chromatographie an Kieselgel ein Rohprodukt, das in Jena in Kooperation von G. Biucovic mittels präparativer HPLC aufgetrennt wurde. Es wurden verschiedene Säulen und Lösungsmittelkombinationen (RP₁₈-Lichrospher, RP₁₈-Lichrospher Select B; Methanol/Wasser, Acetonitril/Wasser, Acetonitril/Wasser/Diisopropylamin) erprobt. Als für die Trennung besonders geeignet, erwies sich eine semipräparative RP₁₈-Säule 250x10 mm (5 μ m Partikelgröße, Fa. Jasco) mit Acetonitril/Wasser 65 : 35 als Eluent. Die Isolierung wurde durch die Instabilität der Produkte erschwert. Manche Lösungsmittel, unter anderem auch DMSO, sowie Temperaturen >35°C, die beim Einengen der Eluate verwendet wurden, führten zur Zersetzung bzw. Umwandlung der polaren Verbindung (**4**), dem Hydroperoxo-Derivat des Fusidinsäurelactons {7-(4-Hydroperoxy-4-methyl-pent-2-enyl)-

1,4a,10a,10b-tetramethyl)-2,3,4,4a,4b,5,6,6a,8,9a,10,10a, 10b,11,12,12a-hexadecahydro-1H-9-oxa-pentaleno-[2,1-a]phenanthren-2,5-diol}. Im HPLC-Chromatogramm (Abb. 13) waren neben Hauptprodukten **(3)** und **(4)** noch Minorkomponenten nachweisbar, die aber nicht isoliert den beiden wurden ($UV_{\max} 229\text{nm}$).

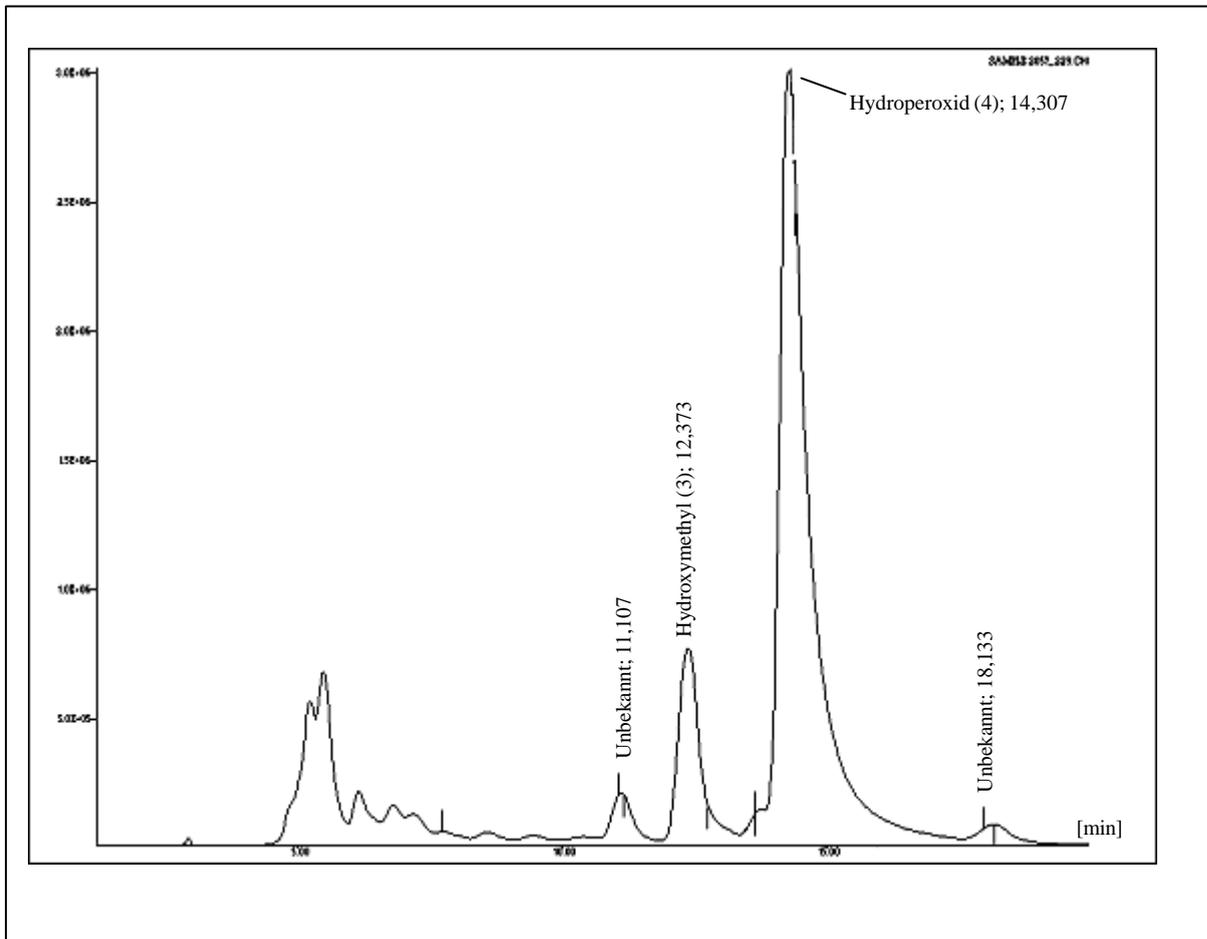


Abb. 13: HPLC-Chromatogramm der Metabolite des g-Lacton

2.2.2 Strukturaufklärung der Metabolite

Die beiden Hauptprodukte, 2,5 mg des unpolaren **(3)** (1-Hydroxymethyl-4a,10a,10b-trimethyl-7-(4-methyl-pent-3-enyl)-2,3,4,4a,4b,5,6,6a,8,9a,10,10a,10b,11,12,12a-hexadecahydro-1H-9-oxa-pentaleno[2,1-a]phenanthren-2,5-diol) ($R_t=12,37\text{ min}$; $R_f=0,57$) sowie 1,7 mg des geringfügig polaren relativ instabilen Produktes **(4)** ($R_t=14,30\text{ min}$; $R_f=0,51$) wurden als farblose Substanzen isoliert. Die Strukturen beider Verbindungen wurden mittels Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie charakterisiert.

Die Kombination verschiedener massenspektrometrischer Methoden (hochauflösende MS und ESI) für die Ermittlung der Molmasse bzw. Summenformel erwies sich insbesondere für das Hydroperoxid (**4**) als sehr vorteilhaft.

Wichtige Informationen lieferten die Protonen-breitband-entkoppelten ^{13}C -NMR-Spektren. Für die stabile Substanz (**3**) wurden 28 C-Atome, davon 13xCH₃/CH (2D-NMR-Spektren: 5CH₃ und 8 CH), 9 CH₂, und 6 quarternäre Atome mittels 135-Dept Spektrum registriert. Ebenfalls 28 C-Atome zeigte die geringfügig polarere Substanz (**4**), wobei hier 14xCH₃/CH (2D-NMR-Spektren: 6CH₃ und 8 CH), 7 CH₂, und 7 quaternäre C-Atome gefunden wurden. Da das Lacton (Edukt) ebenso 28 C-Atome (6 CH₃, 8 CH₂, 8 CH und 6 tertiäre C-Atome) enthält, konnte gefolgert werden, dass das Kohlenstoffgerüst als solches noch erhalten war und die strukturellen Veränderungen die Substituenten betrafen. Wo und wie die Metabolisierung von (**2**) stattfand, konnte aus den ^1H -NMR und 2D-NMR-Spektren zweifelsfrei abgeleitet werden.

So war im ^1H -NMR-Spektrum der Substanz (**3**) ist eine zusätzliche Hydroxygruppe zu sehen. Anstelle der 4 α -Methylgruppe (^1H : $\delta = 0,91$ ppm; ^{13}C : $\delta = 15,93$ ppm) in der Ausgangsverbindung, dem γ -Lacton (**2**), konnte eine 4 α -Hydroxymethylgruppe (^1H : $\delta = 3,85$ ppm; ^{13}C : $\delta = 64,5$ ppm) nachgewiesen werden. Die Struktur von (**3**) einschließlich der Konfiguration der Substituenten wurde durch die 2D-Spektren (COSY, HSQC, HMBC, und NOESY) bestätigt.

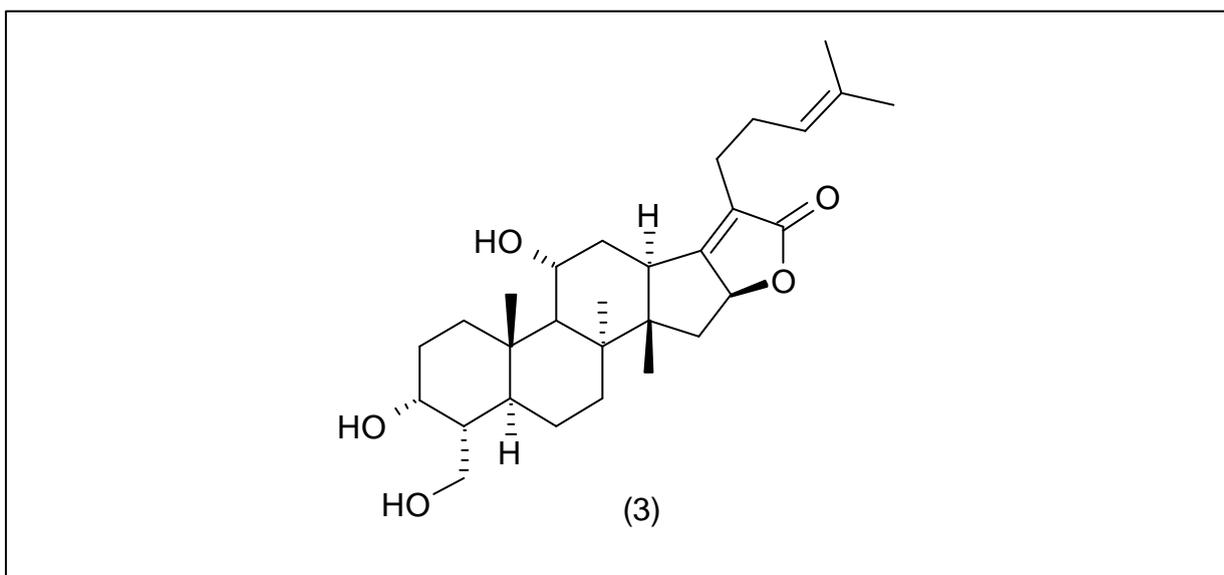


Abb. 14: stabiles Metabolisierungsprodukt (**3**) des Fusidinsäurelactons (**2**)

Die Struktur wurde ferner durch Massenspektrometrie mittels ESI-MS (m/z 495 $[M+Na]^+$; m/z 511 $[M+K]^+$), durch IR-Spektroskopie (Film (ATR): 3411 cm^{-1} (OH); 1752 , 1740 , 1691 cm^{-1} (ungesättigtes Lacton)) und UV-Spektroskopie (λ_{max} 480 nm) bestätigt.

Diese Art der Veränderung einer Substanz (Methylhydroxylierung von **(2)** zu **(3)**) in Mikroorganismen ist nicht ungewöhnlich [von Daehne, Konferenz 1995]. Schwieriger war die Strukturaufklärung der etwas polarerer Substanz **(4)**. Die Ergebnisse der Massenspektrometrie waren zunächst für eine eindeutige Molmassenbestimmung nicht ausreichend und die Instabilität der Substanz bei erhöhter Temperatur erschwerte die Untersuchungen.

Mittels 1D- und 2D-NMR-Spektroskopie konnte jedoch nachgewiesen werden, dass das Grundgerüst des triterpenen Steranbausteins im Vergleich zum Lacton **(2)** unverändert und der Lactonring ebenfalls intakt geblieben waren. Die im NMR feststellbaren Veränderungen betrafen die Seitenkette. Die in **(2)** vorhandene $\Delta^{24(25)}$ -Doppelbindung wurde nach $\Delta^{23(24)}$ verschoben.

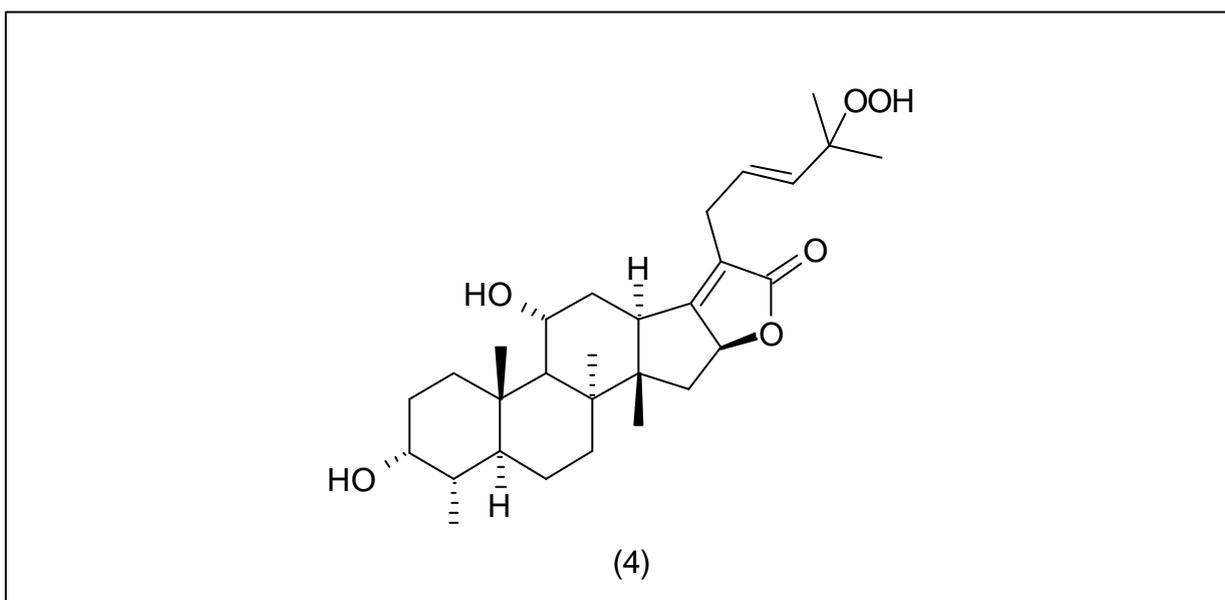


Abb. 15: instabiles Metabolisierungsprodukt (4)

Aus dem ^{13}C - und dem HSQC-Spektrum konnte aufgrund der charakteristischen chemischen Verschiebung des C-25-Signals von ursprünglich $\delta = 132,8\text{ ppm}$ auf $\delta = 81,85\text{ ppm}$ auf ein tertiäres C-Atom mit einem Sauerstoffsubstituent geschlossen werden. Wahrscheinlich handelt es sich um ein Hydroperoxid, weil im C,H long-range gekoppelten NMR-Spektrum (HMBC in CDCl_3) eine $^3J_{\text{C,H}}$ -Kopplung, charakteristisch für Alkohole, nicht beobachtet wurde (Abb. 16).

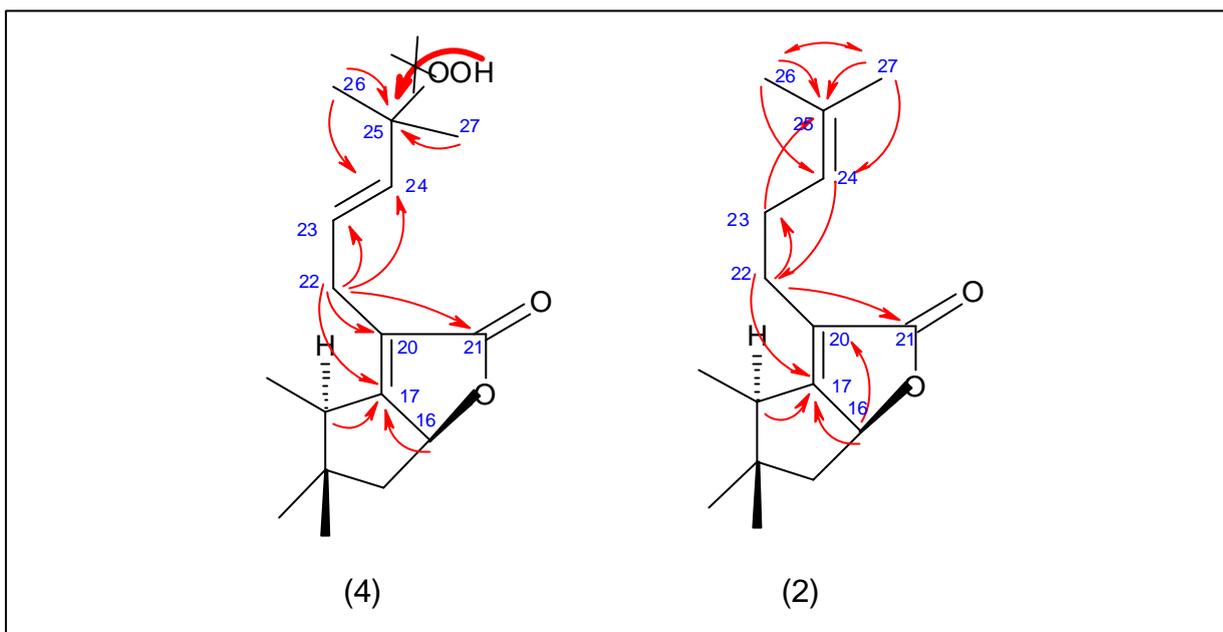


Abb. 16: Instruktive C,H-Kopplung im HMBC-Spektrum von (4) und (2)

Atomnummer	Hydroperoxid (4)		g-Lacton (2)	
	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H
16	82,06	5,00	81,8	4,92
17	171,27	-	169,86	-
20	121,5	-	123,4	-
21	176,35	-	176,55	-
22	26,84	3,04	24,04	2,19/2,31
23	127,37	5,68	27,12	2,19
24	134,74	5,68	123,3	5,10
25	81,85	-	132,8	-
26	24,06	1,31	17,79	1,57
27	23,97	1,31	25,60	1,66

Tabelle 2: NMR-Daten in CDCl₃ des Transformationsprodukt (4) und Lacton (2);
chemische Verschiebung d in ppm

Wie zu erwarten, war bei der hochauflösenden Massenspektrometrie auf Grund der thermischen Belastung bei Vorhandensein des postulierten Hydroperoxids kein entsprechender Molpeak nachweisbar. Im Gegensatz dazu konnte im ESI⁺-MS ein entsprechender m/z 511 ([M+Na]⁺) und der m/z 999 ([2M+Na]⁺⁺) mit jeweils hoher Intensität beobachtet werden. Dies unterstützt die vorgeschlagene Struktur mit einer Hydroperoxidgruppierung. Dass es sich um echte Molpeaks handelte, wurde durch den Austausch des Na⁺ gegen NH₄⁺ bei der Zugabe von Ammoniumacetat bestätigt. Dabei traten m/z 506 ([M+NH₄]⁺) und m/z 994 ([2M+NH₄]⁺) auf.

Daraus kann gefolgert werden, dass bei der bakteriellen Transformation der Fusidinsäure neben der Inaktivierung durch Lactonisierung zum Fusidinsäurelacton (**2**) mittels des Enzyms Fus H weitere metabolische Veränderungen erfolgen. Molekulargenetische Untersuchungen ließen die Existenz eines weiteren Enzyms Fus G vermuten [Schrempf, Biucovic persönliche Kommunikation], das in Gegenwart von FAD das γ -Lacton (**2**) in den Hydroxymethylalkohol (**3**) und das Hydroperoxid (**4**) überführt.

Da bei den Metabolisierungsversuchen lediglich Fusidinsäurelacton (**2**) nicht aber Fusidinsäure (**1**) als solche im Nährmedium vorhanden war, bleibt die Frage, ob (**1**) selbst ebenfalls auf diese Art und Weise transformiert wird. Literaturzitate weisen auf ein solches Verhalten hin [von Daehne, Konferenz 1995].

2.3 Partial- und Totalsynthesen von Grundbausteinen für Triterpene mit fusidinsäureähnlichem Skeleton

Untersuchungen zur Esteraseaktivität von Fusidinsäurederivaten [Antibiotikafibel; von Daehne, 1979] und neuere Erkenntnisse zu der antibiotischen Wirkung [Duvold, 2001] heben die Bedeutung der C-17-Seitenkette, der Carboxylgruppe einschließlich der 16β -Acetoxygruppe sowie der Sessel-Boot-Sessel-Konformation als essentielle pharmakophore Merkmale des Triterpenoids hervor. Dagegen sind die Hydroxylgruppen in 3α - und 11α -Stellung durch andere Gruppen austauschbar.

Ziel der synthetischen Arbeiten war es, nach dem Vorbild der Fusidinsäure, ein vergleichbares terpenoides Grundgerüst anellierter Ringe aufzubauen. Der Grundkörper sollte aber noch flexibler gestaltet werden, um damit neue antibiotisch wirksame Produkte herstellen zu können, die ein von der Fusidinsäure abweichendes Resistenzverhalten aufweisen. Den Schwerpunkt bildeten partial- und totalsynthetischen Verfahren zur Herstellung von Schlüsselprodukten, aus denen Derivate oder Verbindungen mit charakteristischen Merkmalen der Fusidinsäure hergestellt werden können.

2.3.1 Modelluntersuchungen zu Gerüstumlagerung von 14,15-Epoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trienen zu 14 β -Methyl-gona-1,3,5(10)-trien

Bei der Entwicklung des Synthesekonzepts, das ausführlich unter 2.3.2 erläutert wird, wurde frühzeitig auf eine Totalsynthese orientiert. Ausgehend von einem chiralen Baustein, dem Wiechert-Keton, sollte ein neuer Grundkörper das 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (**55**) (Abb. 3) hergestellt werden.

Aus einer Reihe von Synthesevarianten zur Darstellung des Fusidinsäuregrundkörpers (Abb. 3) [Ruhland, 1995; Corey, 1991; Bischofberger, 1985; Bull, 1983; Paryzek, 1995; Dauben, 1972; Barriault, 1997] wurde die Synthese von Dauben gewählt, die sich von der hier vorgeschlagenen darin unterscheidet, dass ein anderes Synthon zur Bildung der Ringe A und B verwendet wird. Anstelle des Methyl-7-bromo-5-ethylendioxyheptanoat wurde das 2(3-Methoxy-phenyl)-ethyltosylat eingesetzt.

Dieser Syntheseweg ermöglicht eine flexiblere Vorgehensweise, wobei Optionen zur Herstellung von Fusidinsäurederivaten mit 10 β -Methylgruppe ebenso offen gehalten werden, wie die Darstellung von 19-Nor-Verbindungen.

Als entscheidendes Problem, bei der Übertragung der Synthese nach Dauben auf die hier vorliegenden Verhältnisse, ist die im ausschlaggebenden letzten Schritt vollzogene Gerüstumlagerung, der Transfer der 13 β -Methylgruppe nach 14 β ausgehend von einem 14,15-Epoxid, zu sehen. Obwohl nach Dauben [Dauben, 1972] diese Umlagerung mit guten Ausbeuten erfolgte, waren Zweifel angebracht, ob sich dieser Schritt auch in dem hier vorliegenden Konzept realisieren ließ.

Um sicher zu gehen, ob ein Methylgruppentransfer via Wagner-Meerwein-Umlagerung (Abb. 17) möglich ist, wurde das Öffnungsverhalten von 14,15-Epoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trienen unter sauren Bedingungen in aprotischen Lösungsmitteln untersucht. Für einen Methylgruppentransfer durch eine saure Öffnung von 14,15-Epoxysteroiden sollten bei Postulierung eines intermediären Carboniumions am C-14 gute Voraussetzungen bestehen. Untersuchungen zur sauren Öffnung von Epoxiden wurden von Schubert und Ponsold bereits durchgeführt, dabei aber keine Gerüstumlagerungen nach Wagner-Meerwein beobachtet [Schubert, 1979].

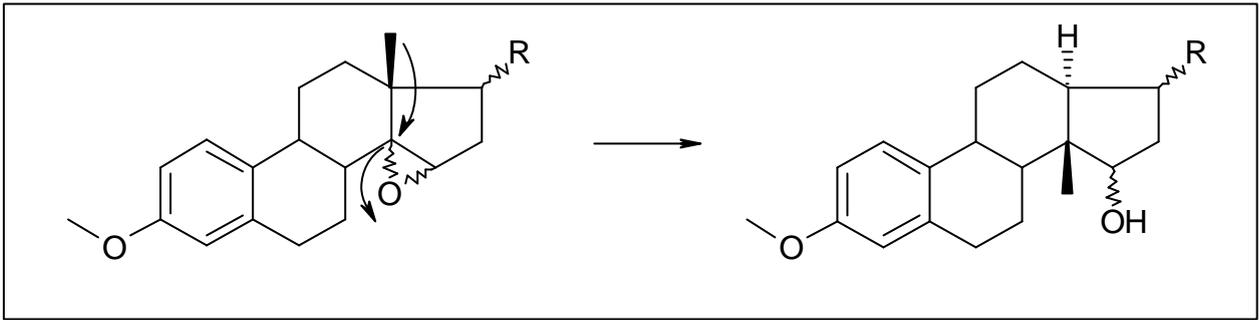


Abb. 17: Methylgruppentransfer von C-13 nach C-14 (Wagner-Meerwein-Umlagerung)

Synthese der 14,15-Epoxide

Die entsprechenden Epoxide (**9-12**) [Kasch, 1996; Ponsold, 1981; Schubert, 1979] wurden aus den 17-Hydroxy- bzw. 17-Ketoverbindungen (**5-8**) [Kasch, Bertram, Patent; Bull, 1991; Künzer, 1985; Kametani, 1979] synthetisiert (Abb. 18).

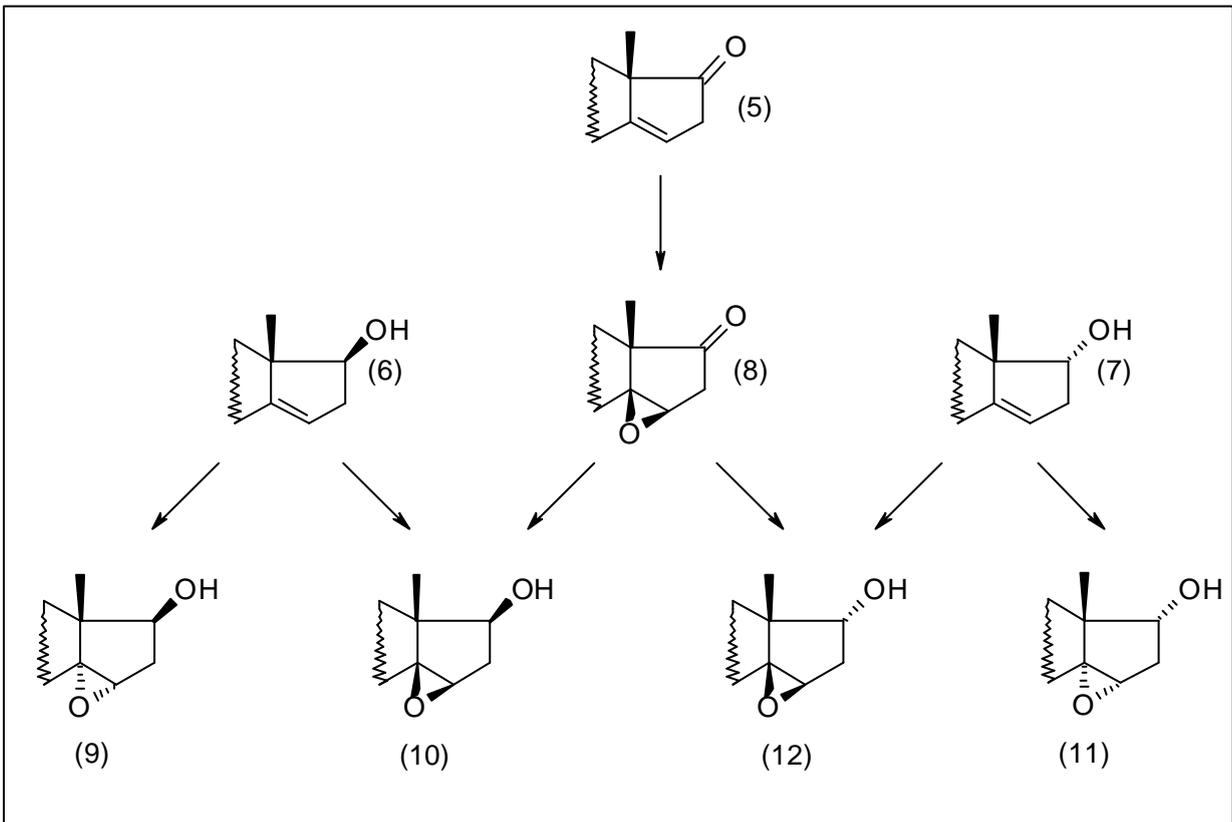


Abb. 18: Synthesewege der 17-Hydroxy-14,15-epoxide

Das 17 β -Hydroxy- Δ^{14} -estratrien (**6**) lässt sich durch Reduktion mit Natriumborhydrid nach Schubert und Ponsold darstellen und anschließend mit *m*-Chlorperbenzoesäure zu einem α/β -Epoxidgemisch umsetzen und mittels Säulenchromatographie trennen. Dabei war der Anteil an β -Epoxid (**10**) höher als der des α -Epoxids (**9**) [Schubert, 1979].

Die Synthese des 17α -Hydroxy- Δ^{14} -estratriens (**7**) ist mit konventionellen Reduktionsmethoden wie Natriumborhydrid, DIBAH oder Catecholboran nur mit geringen Ausbeuten von ca. 15 % möglich. Deshalb wurde der Versuch unternommen, durch Inversion der Hydroxylgruppe an C-17 aus dem 17β -Alkohol (**6**) den 17α -Alkohol (**7**) herzustellen. Dies gelingt normalerweise nach Mitsunobu [Tapolcsanyi, 1997; Bittner, 1974] mit Triphenylphosphin, Diazoessigester in Gegenwart einer aliphatischen Carbonsäure in siedendem Benzen (Abbildung 19). Eine verbesserte Variante wurde von Schneider et al. durch die Verwendung von p-Nitrobenzoesäure in Chlorbenzen entwickelt [Schneider, Konferenz 1995].

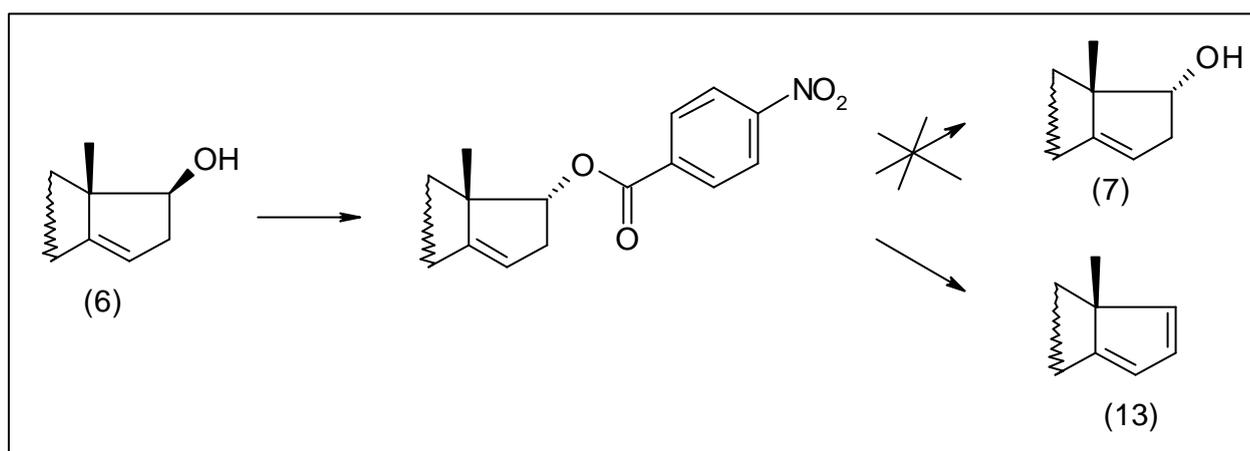


Abb. 19: Mitsunobu-Reaktion

Während die eigentliche Mitsunobu-Reaktion zum Nitrobenzoesäureester noch relativ glatt verlief, bereitete dessen Verseifung Probleme. Begünstigt durch die benachbarte $\Delta^{14,15}$ -Doppelbindung erfolgte eine Eliminierung der Estergruppierung und das unerwünschte Bis-Olefin (**13**) entstand. Ohne die olefinische Doppelbindung in Homoallylstellung gelingt jedoch die Inversion problemlos.

Die isomerenreine Darstellung der Alkohole war deshalb ein wichtiges Ziel dieser Arbeit, weil die Hydroxylgruppe über Nachbargruppeneffekte sowie Wasserstoffbrückenbindungen wesentlich zur Selektivität bei Reaktionen wie z.B. Epoxidierungen, Cyclopropanierungen und der Epoxidöffnung beiträgt [Ponsold, 1981; Ruhland, 1995; Bull, 1981]. Eine alternative Methode zur Herstellung der thermodynamisch wenig begünstigten 17α -Alkohole ist die Reduktion von 17-Ketosteroiden nach Schwarz et al. mit diversen Boranen unter Zusatz optisch aktiver Amine [Wagner, 1980; Reiners, 1996; Reiners, 1995; Wallbaum, 1991; Behnen, 1992].

Das 17α -Hydroxy- Δ^{14} -estratriens (**7**) wurde durch Reduktion mit NaBH_4 in geringen Ausbeuten erhalten.

Für die Synthese des 17α -Hydroxy- $14\alpha,15\alpha$ -epoxid (**11**) wurde das 17α -Hydroxy-3-methoxy- 13β -methyl- $1,3,5(10),14(15)$ -gonatetraen (**7**) nach Sharpless mit tert.-Butylhydroperoxid und Vanadylacetylacetonat als Katalysator selektiv umgesetzt [Künzer, 1995].

17α -Hydroxy- $14\beta,15\beta$ -epoxy-3-methoxy- 13β -methyl- $1,3,5(10),14(15)$ -gonatetraen (**12**) kann aus dem Epoxyketon (**8**) durch Reduktion mit Diboran erhalten werden. Bei der Reduktion des Ketons dominierte die 17α - gegenüber der 17β -Hydroxyverbindung. Ähnliche Beobachtungen hatten Künzer et al. bei der Reduktion des Epoxyketons mit DIBAH gemacht [Künzer, 1995]. Da die Epoxidierung des Ketons (**5**) zu (**8**) nicht sehr einheitlich verlief, es entstanden neben dem α -Epoxid auch Öffnungsprodukte, wurde eine alternative Variante erarbeitet. Als günstig erwies sich die Oxidation des 17β -Hydroxy- $14\beta,15\beta$ -epoxids mit Jones-Reagenz und die Reduktion des auf diese Weise erhaltenen Ketons (**8**) mit Diboran in THF.

2.3.1.1 Öffnung von 14,15-Epoxiden unter Nachbargruppenbeteiligung

Epoxide, die in Nachbarstellung zum Oxiranring einen Alkylrest, z.B. eine 13-Methylgruppe wie bei den 14,15-Epoxysteroiden enthalten, erfüllen die Voraussetzungen für eine Umlagerung nach Wagner-Meerwein, auch Westphalen-Gerüstumlagerung genannt [Paryzek, 1997; Dauben, 1972], sowie für Eliminierungen.

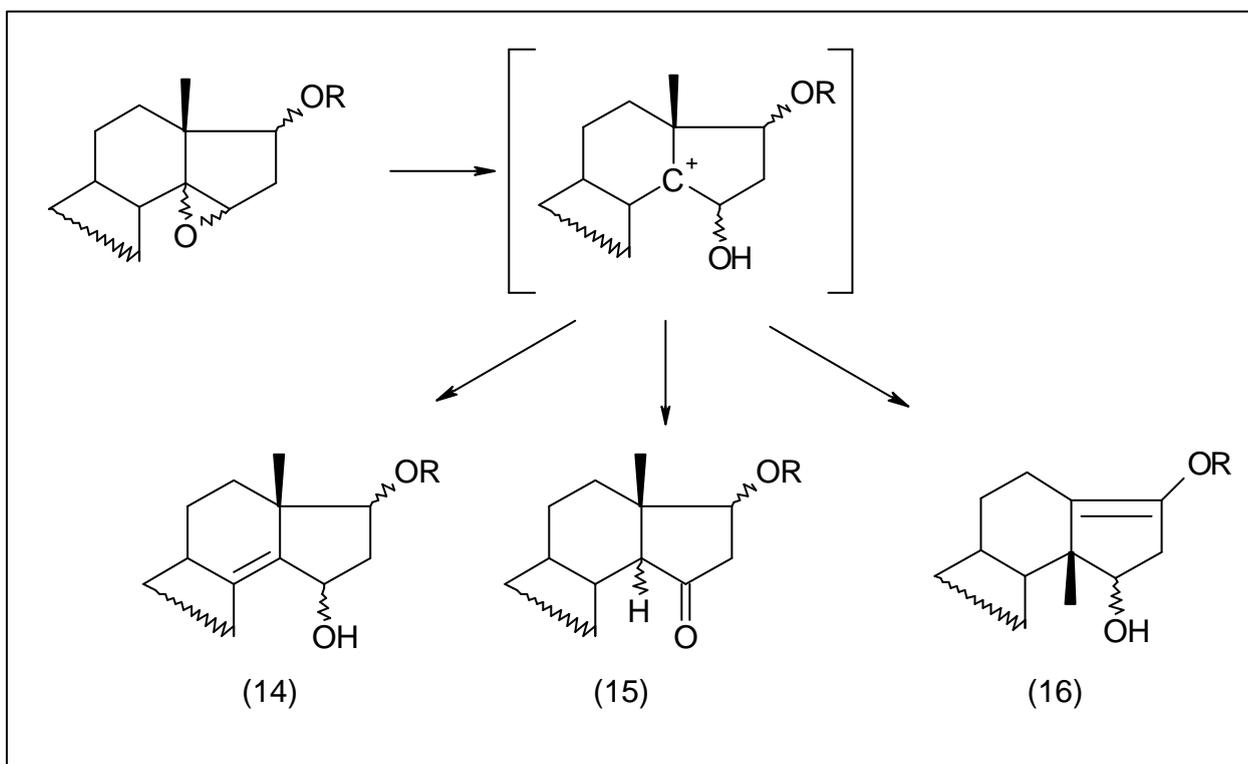


Abb. 20: Mögliche Produkte der Epoxidöffnung

Die Wanderung der Alkylreste sollte dabei stereochemisch kontrolliert verlaufen, d.h. die zu transferierende nachbarständige Methylgruppe sollte nicht invertieren, sondern auf der gleichen Seite des Moleküls verbleiben. Neben dieser Umlagerung (**16**) kann sich das Carbeniumion auch durch Deprotonierung am C-15 oder C-8 stabilisieren, was zu Ketonen (**15**) bzw. Olefinen (**14**) als Reaktionsprodukte führt (Abb. 20) [Schubert, 1982]. Bei 13 β -Methyl-gona-1,3,5(10)-trienen ist eine Doppelbindungsisomerisierung in Richtung Δ -Aromat zum stabileren 8(9)-Olefin in Übereinstimmung mit der Literatur [Schubert, 1982] beobachtet worden.

Epoxidöffnung von 17-Acetat

Bei der Funktionalisierung der Δ^{14} -Doppelbindung von Steroiden, z.B. bei der Simmon-Smith-Reaktion, der Hydrierung, Hydroborierung und insbesondere bei der Epoxidierung spielen Nachbargruppen in Homoallylstellung als Ankergruppen, Linker und als abschirmende voluminöse Reste eine wichtige Rolle. Im Rahmen der Untersuchungen zur sauren Öffnung von 14,15-Steroidepoxiden unter S_N1 - oder E_1 -Bedingungen interessiert die Frage, ob eine direkte Beteiligung der 17-Sauerstofffunktion erforderlich ist [Caspi, 1985].

Aus diesem Grund wurde das Reaktionsverhalten von 17-Acetoxy- und 17-Hydroxy-14,15-epoxiden in Gegenwart von organischen Säuren oder Lewisäuren untersucht und miteinander verglichen.

Die Darstellung der entsprechenden Epoxide mit der 17-Acetoxygruppe (**17**, **18**) erfolgte durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin. Die Epoxidspaltungen wurden mit wasserfreier *p*-TsOH und Bortrifluoridetherat ($BF_3 \cdot Et_2O$) in aprotischen Lösungsmitteln wie Toluol oder Ether bei Raumtemperatur durchgeführt.

Nach erfolgter Umsetzung wurde sofort aufgearbeitet, ohne die Gleichgewichtseinstellung abzuwarten. Bei den Epoxyacetaten wurden keine Umlagerungsreaktionen oder außergewöhnliche Reaktionen beobachtet (Abb. 21).

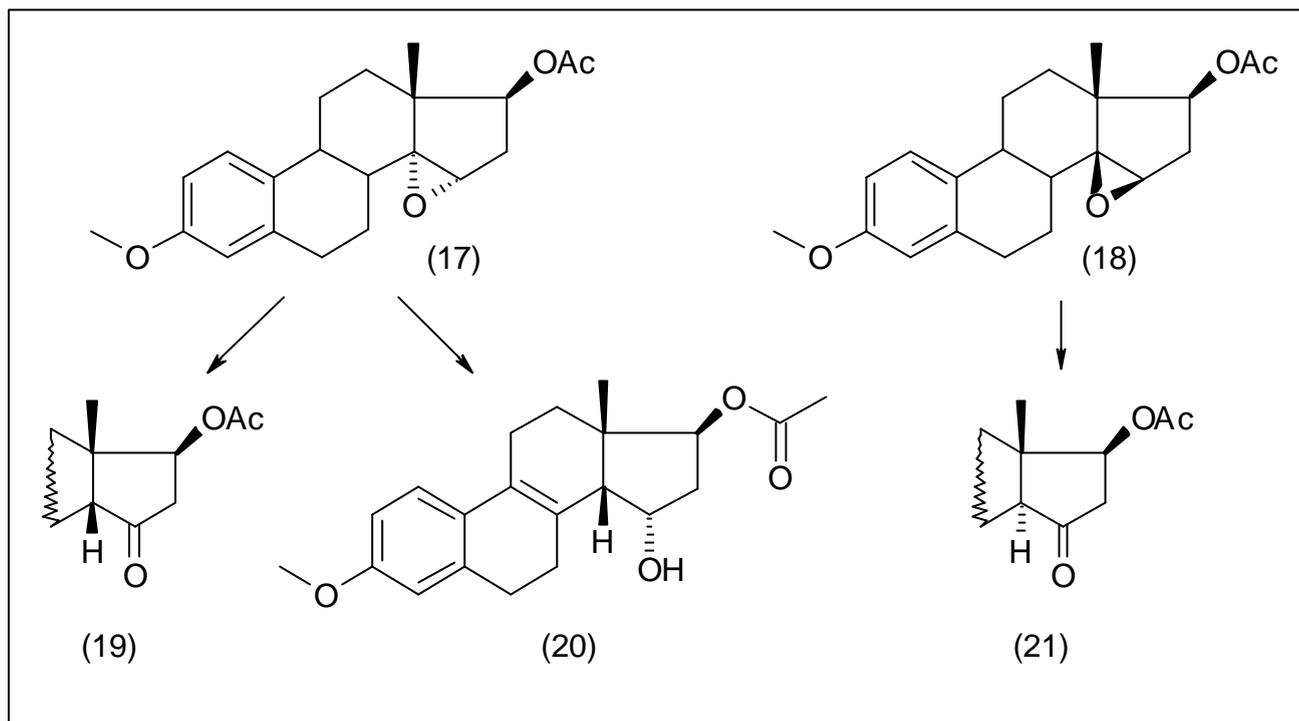


Abb. 21: Öffnung der Epoxyacetate (17) und (18)

Die Öffnung der Epoxyacetate (17, 18) in Gegenwart von $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ verlief nach einem einheitlichen Eliminierungsmechanismus. Beim β -Epoxid (18) wurde in Übereinstimmung mit der Literatur [Schubert, 1982] eine trans-Eliminierung (15 α -H, 14 β -O-Abgangsgruppe) beobachtet. Das thermodynamisch stabilere 14 β -H-15-Ketosteroid wurde dabei nicht gebildet, sondern ausschließlich das 14 α -H-Produkt (21). Die Öffnung des α -Epoxids (17) führte zu einem Gemisch aus 14 β -H-8(9)-Olefin (20) und 14 β -H-15-Keton (19). Ersteres entstand aus dem primär gebildeten 8(14)-Olefin, das unter Säurekatalyse zum 8(9)-Olefin (20) isomerisierte. Die Bildung des 9(11)-Olefins konnte ausgeschlossen werden (Ausbeuten: Tabelle 3, Experimenteller Teil).

Da nach der Maskierung der 17 β -Alkoholfunktion als Acetate keine Gerüstumlagerungsprodukte auftraten, wurde auf die Reaktion der entsprechenden 17 α -Derivate verzichtet und für die weiteren Umsetzungen die 17-Alkohole eingesetzt.

Öffnung von 17-Hydroxyepoxiden unter Nachbargruppenbeteiligung

Die isomeren 17-Hydroxy-14,15-epoxysteroiden wurden in Toluol in Gegenwart von wasserfreier p -TsOH bzw. $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ bei verschiedenen Temperaturen (zwischen -20 und 65°C) zur Umsetzung gebracht. Das Produktspektrum wird wesentlich durch den Zugabemodus, die Säuremenge, Säurestärke, die Reaktionsdauer und die Temperatur beeinflusst. Bei den weite-

ren Untersuchungen lag das Hauptaugenmerk auf Gerüstumlagerungsprodukten sowie neuen unerwarteten Produkten.

Die Umsetzung des 17 α -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxids (**11**) mit p-TsOH führte bei Raumtemperatur in Toluol zu vergleichbaren Produkten, z.B. (**24**), wie sie bereits bei den Umsetzungen der Acetoxyepoxide nachgewiesen wurden.

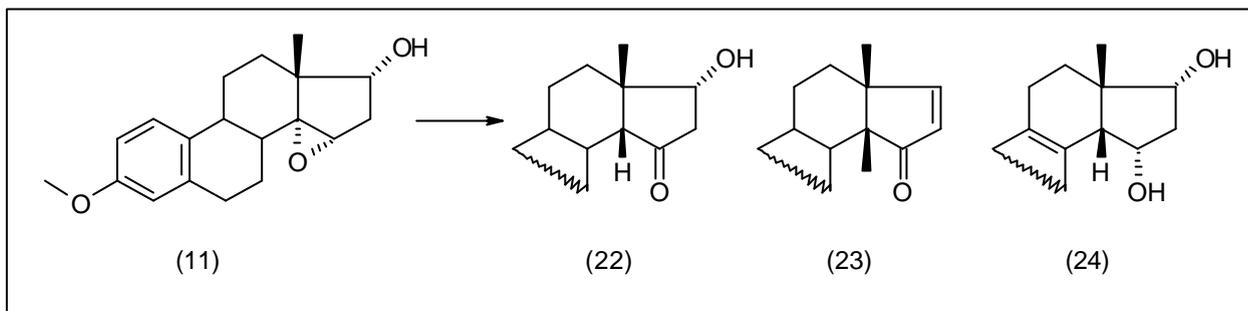


Abb. 22: Öffnung des 17 α -OH-14 α ,15 α -Epoxids (11**)**

Eine Ausnahme bildete das Δ^{16} -15-Keton (**23**), das in einer Sekundärreaktion aus dem Keton (**22**) durch Wasserabspaltung entstand.

In der nachfolgenden Tabelle 3 sind die Ausbeuten und die Produkte der Epoxidöffnungen mit p-TsOH und BF₃*Et₂O zusammengestellt.

Epoxyverbindungen	Reaktionsprodukte [%]						
	14 β -H-15-Keto	14 α -H-15-Keto	Δ^{16} -15-Keto	15-OH- $\Delta^{8(9)}$	14 β -Fluor	14 β -Methyl	Spiropentan
17 α -OH,14 α ,15 α (11)?	38 14		18	17 76			
17 α -OH,14 β ,15 β (12)		Spuren		Spuren			80
17 β -OH,14 β ,15 β (10)		54			25		
17 β -OH,14 α ,15 α (9)?	39 (RT) 59 (-20°C)		70 (65°C)	21 (RT)		23 (65°C)	

Tabelle 3: Öffnung mit p-Toluolsulfonsäure / Öffnung mit BF₃*Et₂O in Toluol

Da unter dem Einfluss von p-TsOH nur die typischen bekannten Eliminierungsprodukte entstanden, wurde bei den weiteren Umsetzungen Wert auf extreme Wasserfreiheit und Ausschluss protischer Zusätze gelegt. Ein totaler Ausschluss von Wasser war mit p-TsOH nicht zu erreichen, deshalb wurde die Lewisäure $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ verwendet. Schubert und Schneider erhielten bei Öffnungen von 14,15-Epoxiden mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in Acetonitril neben nucleophilen Öffnungsprodukten vergleichbare Produkte, z.B. 15-Ketoverbindungen [Schubert, 1982]. Eine Ausnahme bildete das 8(9)-Olefin, das unter Ritterbedingungen nicht entstand [Schubert, 1982].

Die Reaktionen der isomerenreinen 17-Hydroxy-14,15-epoxide mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in Toluol verliefen etwas differenzierter als die der 17-Acetate. Die Produktzusammensetzung änderte sich in Abhängigkeit von Reaktionsdauer und Temperatur. Die geringsten Abweichungen im Vergleich zu den Umsetzungen mit p-TsOH traten beim 17 α -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxid (**11**) auf. Lediglich das Produktverhältnis zwischen Keton (**22**) und 8(9)-Olefin (**24**) war stark zu Letzterem verschoben (siehe Tabelle 3).

Wagner-Meerwein-Umlagerung

Eine Umlagerung nach Wagner-Meerwein wurde nur bei der Öffnung des 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxids (**9**) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ beobachtet, jedoch erst oberhalb der Raumtemperatur mit einem Optimum von 65°C. Daneben entstanden auch das 8(9)-Olefin (**27**), das 14 β -H-15-Keton (**25**) und das 14 β -H- Δ^{16} -Keton (**26**) in beträchtlichen Mengen. Das Verhältnis von gesättigten Keton (**25**) zu ungesättigten Keton (**26**) veränderte sich zugunsten von (**26**) mit Erhöhung der Temperatur (Abb. 23).

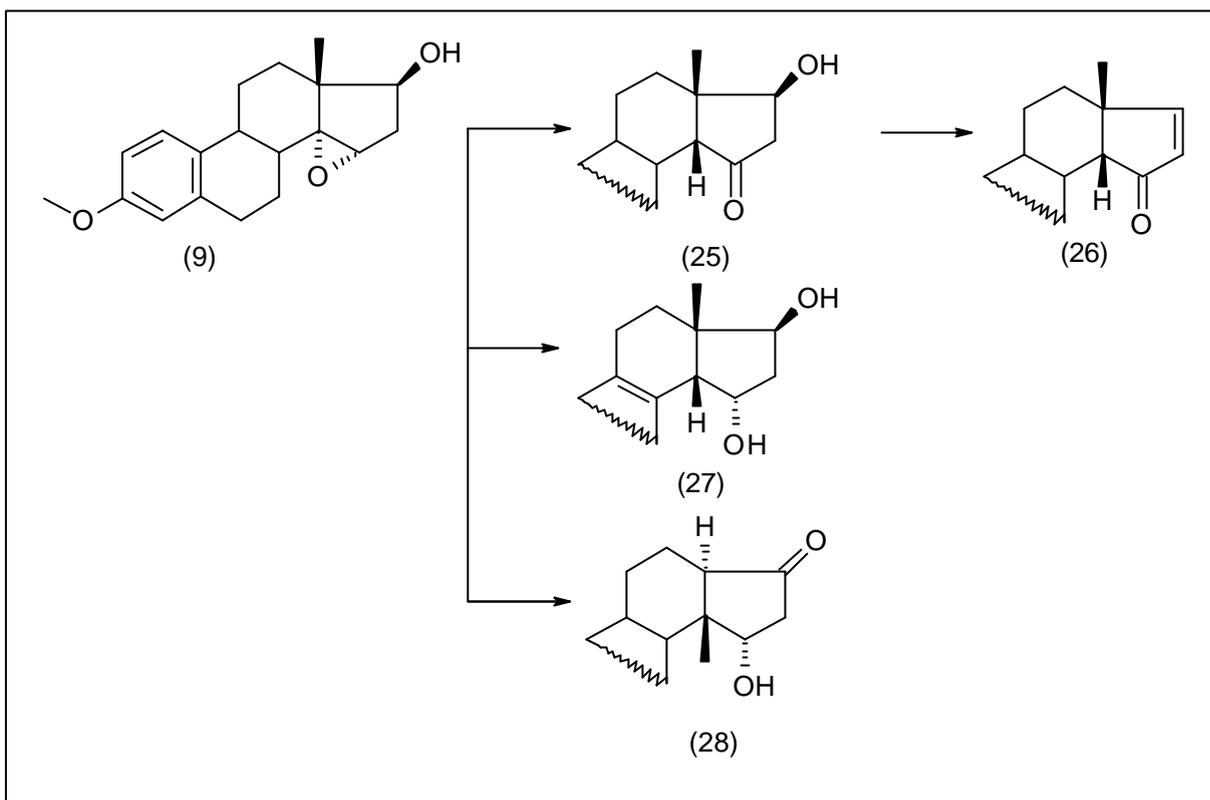


Abb. 23: Öffnung des 17b-OH-14a,15a-Epoxids (9)

In Abbildung 23 ist die Bildung des erwünschten Wagner-Meerwein-Produktes (**28**) skizziert. Die Einheitlichkeit der Wagner-Meerwein-Umlagerung lässt auf einen Synchronmechanismus schließen. Mit ca. 23 % wurden befriedigende Ausbeuten an Umlagerungsprodukt erzielt.

Die Konfiguration von H-13 konnte mittels NOE-Spektroskopie ermittelt werden. Eindeutige Beweise für die α -Konfiguration sind die Kopplungen zwischen dem H-13 α ($\delta = 2,00$ ppm) und dem H-11 α ($\delta = 2,54$ ppm) bzw. dem H-16 α ($\delta = 2,75$ ppm). Das ausbleibende NOE-Signal zwischen dem H-15 β und dem H-13 α bestätigt diese Konfiguration. Die stereochemische Einheitlichkeit bezüglich des H-13 α des Wagner-Meerwein-Produktes (**28**) unterstreicht die Überlegungen, dass es sich um einen Synchronmechanismus handelt. Bei einer Umlagerungsreaktion, die ein Enol als Intermediat aufweist, und unter Gleichgewichtsbedingungen, müssten die entsprechenden H-13 α - und H-13 β -Produkte identifiziert werden.

Die Optimierung dieser Reaktion hängt entscheidend davon ab, in welchem Maß die Eliminierungen unter Bildung des 8(9)-Olefins (**27**) und der 15-Ketoverbindung (**25**) zurückgedrängt werden können. Mit der Isolierung von (**28**) eröffnet sich die Möglichkeit, diese neue Verbindung als Modellsubstanz für die Funktionalisierung des D-Ringes in Richtung fusidinsäureähnlicher Strukturen einzusetzen (Abb. 24). Das Wagner-Meerwein-Produkt ist aber

nicht nur im Hinblick auf die Synthese von Fusidinsäureanaloga sondern auch für andere biologische Mediatoren von Interesse.

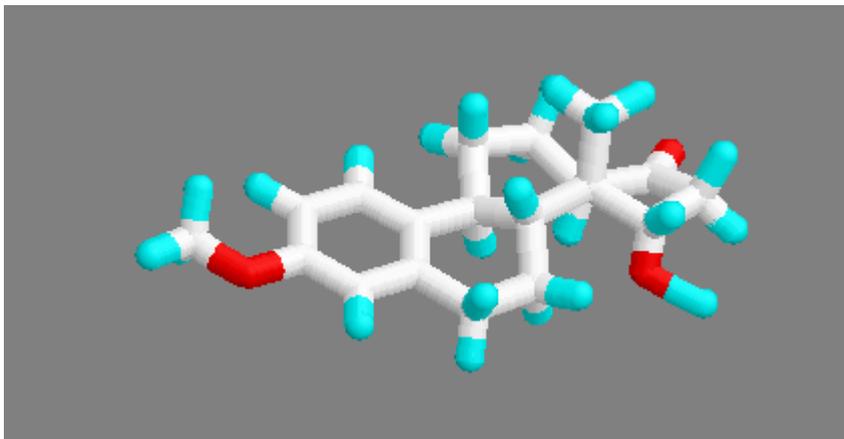


Abb. 24: Energieoptimierte Struktur des Wagner-Meerweinproduktes (28)
(Alchemy 2000)

In Abbildung 25 wird die Einheitlichkeit der Methylgruppenwanderung nachgewiesen. Im dargestellten HMBC-Spektrum sind die Kopplungen der 14-Methylgruppe mit den benachbarten C-Atomen (C-8: 47,3 ppm; C-13: 55,4 ppm; C-14: 44,7 ppm; C-15: 76,3 ppm) zu sehen. Die $^3J_{C,H}$ -Kopplungen zwischen der Methylgruppe und dem C-8 sowie dem C-15 weisen darauf hin, dass die Methylgruppe tatsächlich im Sinne einer Wagner-Meerwein-Umlagerung gewandert ist.

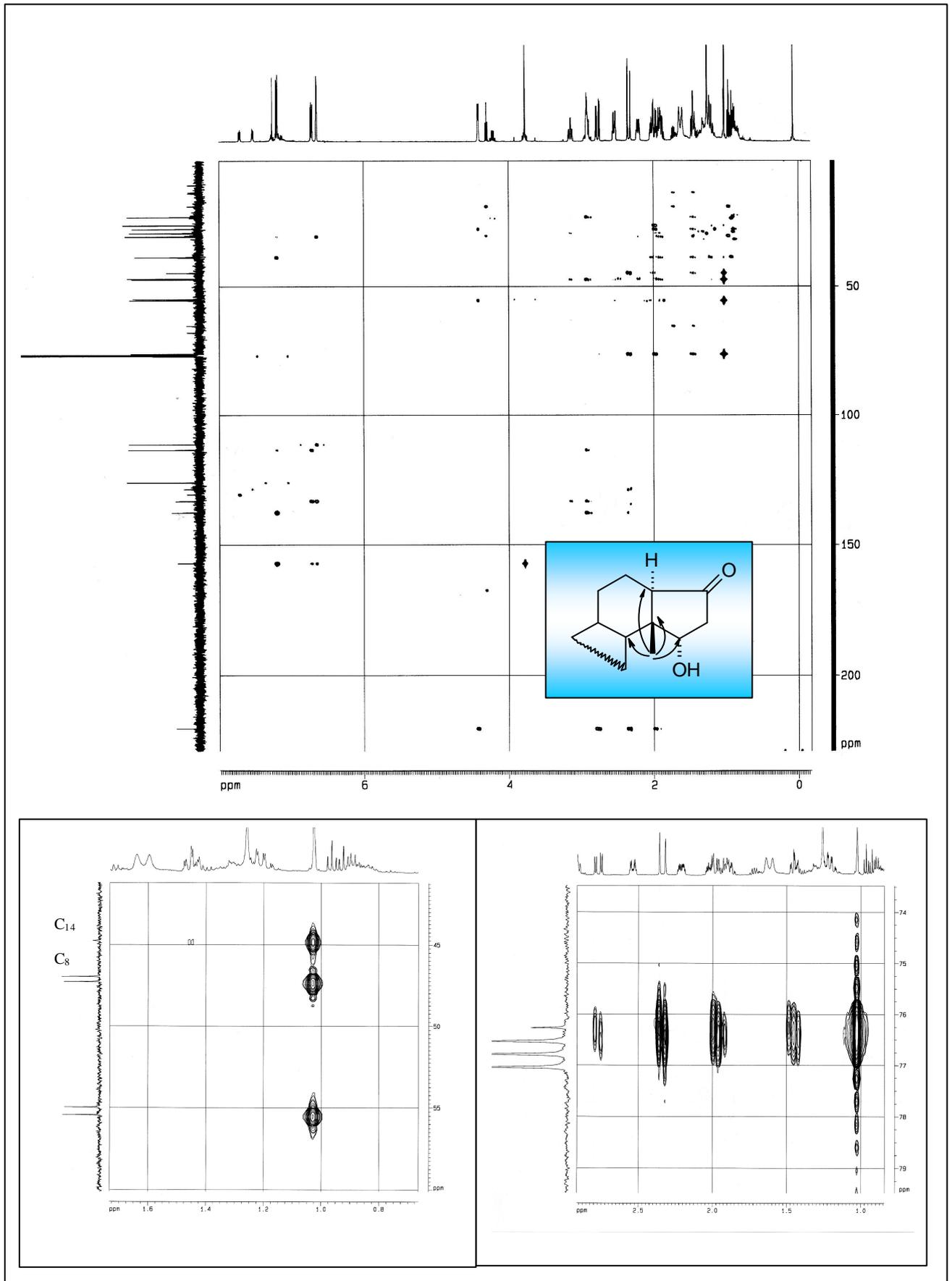


Abb. 25: Diagnostische Kopplungen im HMBC-Spektrum von (28) als Strukturbeweis

Öffnung des 17 β -OH-14 β ,15 β -Epoxyds mit BF₃*Et₂O

Fluorierte Produkte fallen bei Umsetzungen mit BF₃*Et₂O selten auf [Duhamel, 1993; 1994] und sind bei Steroiden in der zugrunde liegenden Literatur-Recherche nicht gefunden worden. 14 β -Fluor-17 α -hydroxy-Analoga des Testosterons, Estrons und Estradiol können durch Fluorierung mit Perchlorylfluorid aus den entsprechenden ungesättigten 17-Ketonen gewonnen werden [Pataki, 1972]. Um so erstaunlicher war es, dass bei der Öffnung des 17 β -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxyds (**10**) ein neues, auf diesem Weg noch nicht dargestelltes Epoxidöffnungsprodukt, das 15 β ,17 β -Dihydroxy-14 β -fluor-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien (**30**) gebildet wurde. Das wirft die Frage auf, warum dieses Produkt ausgerechnet bei der Umsetzung des 17 β -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxyds auftritt. Mechanistisch betrachtet, ist anzunehmen, dass sich BF₃*Et₂O an den Epoxidsauerstoff anlagert bzw. sich dort ein Ligandenaustausch vollzieht, an dem gegebenenfalls auch die sekundäre 17-OH-Funktion beteiligt ist (Abb. 27). Bei der elektrophilen Epoxidöffnung wird in einer konzertierten Reaktion ein Fluoratom auf das positivierte C-14 übertragen und gleichzeitig eine Bor-Sauerstoff-Bindung geknüpft. Da der BF₃-Komplex nur β -seitig gebildet werden kann, sollte das resultierende 14-Fluorsteroid (**30**) β -Konfiguration aufweisen.

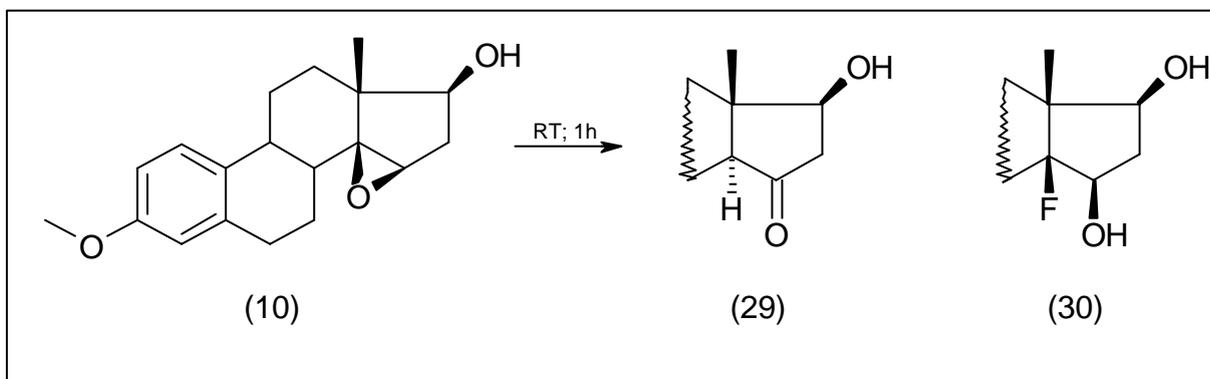


Abb. 26: Öffnung des 17 β -OH-14 β ,15 β -Epoxyds (10**) unter Bildung des 14 β -Fluorproduktes (**30**)**

Dass (**30**) lediglich beim Umsatz des 17 β -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxydes auftrat, ist als ein Indiz für die notwendige Assistenz der 17 β -ständigen OH-Gruppe zu werten. Das Epoxid allein ist für eine Koordination im Sinne einer Fluorierung nicht ausreichend, sonst wäre eine entsprechende Fluorverbindung auch bei anderen β -Epoxyden beobachtet worden. Sehr wahrscheinlich ist eine primäre Komplexbildung des BF₃ mit dem 17 β -Alkohol, in deren Folge eine Aktivierung des Epoxids und Übertragung von Fluorid β -seitig auf das Steroid erfolgt.

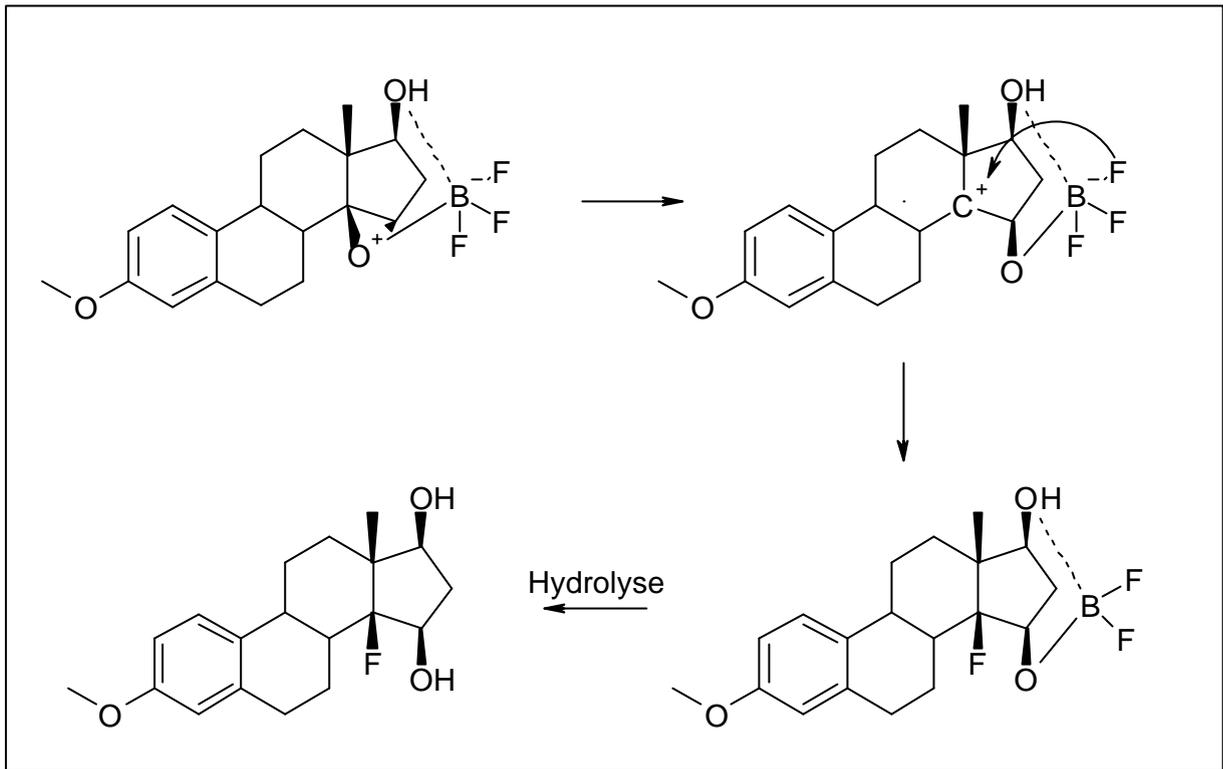
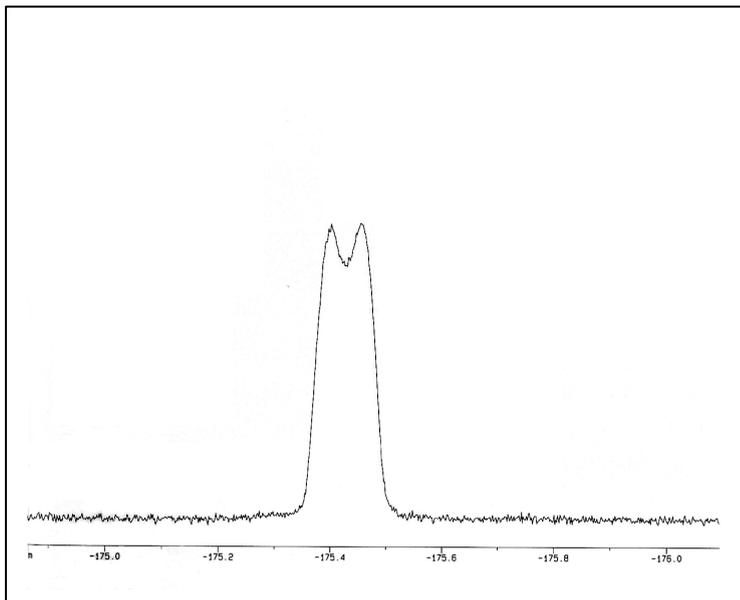


Abb. 27: Vorschlag für den Fluorierungsmechanismus von (10) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Die Zuordnung der relativen Konfiguration des tertiären Fluoratoms in 14-Stellung ist mit



normalen 1D- und 2D-NMR-Untersuchungen nicht möglich. Erst mittels Fluor-NMR [Hesse, 1995] (Abb. 28, 29) und der Zuordnung des $^1\text{H}, ^{19}\text{F}$ -HOESY-Spektrums (vergleichbar dem NOESY), konnte die β -Konfiguration des Fluors bestätigt werden.

Abb. 28: ^{19}F -NMR-Spektrum von (30)

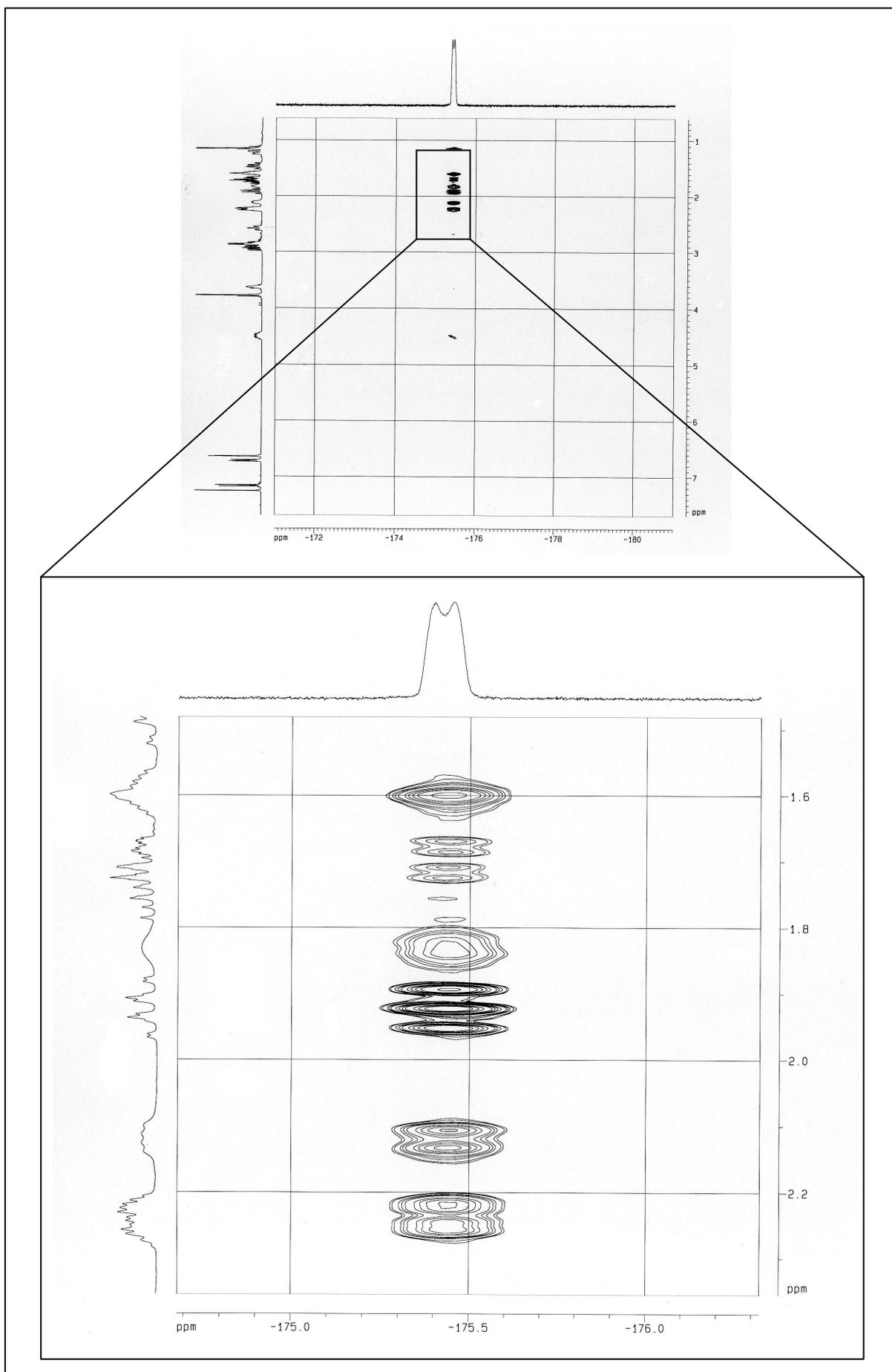


Abb. 29: ^1H , ^{19}F -HOESY von (30) in CDCl_3

Im HOE-Spektrum (Abb. 29) sind die Wechselwirkungen des 14β -Fluoratoms mit der ebenfalls β -ständigen 13-Methylgruppe ($\delta = 1,15$ ppm) deutlich sichtbar. Eindeutige Kopplungen sind überdies mit dem β -ständigen H-8 ($\delta = 1,93$ ppm) und dem H-12 β sowie den beiden β -ständigen OH-Gruppen in 15- und 17-Stellung ($\delta = 2,11$ ppm und $\delta = 1,83$ ppm) erkennbar. Mit diesen Daten werden die aus den mechanistischen Betrachtungen gewonnenen Hinweise zur β -Konfiguration des Fluoratoms bestätigt.

Die Summenformel von **(30)** wurde mittels hochauflösender Massenspektrometrie ermittelt. Neben dem Molpeak m/z 320 war auch ein um 20 Masseneinheiten kleinerer Peak m/z 300 erkennbar, der der Abspaltung von HF entsprach und somit das Vorhandensein des Fluors im Molekül bestätigte (Abb. 30).

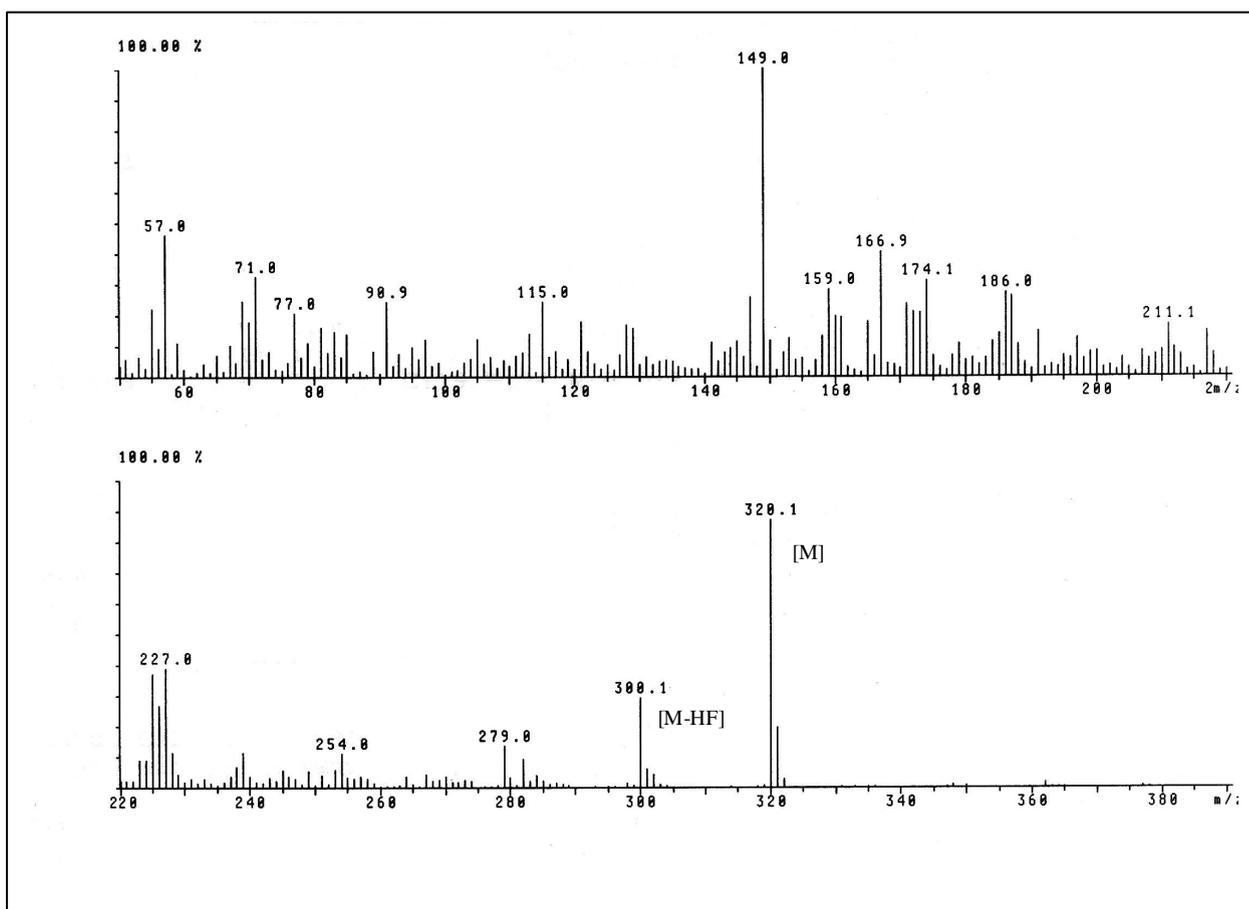


Abb. 30: Massenspektrum des 15b,17b-Dihydroxy-14b-fluor-3-methoxy-13b-methyl-gona-1,3,5(10)-triens (**30**)

Öffnung des 17a-Hydroxy-14 β ,15 β -epoxids (12) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Das 17a-Hydroxy-14 β ,15 β -epoxids (12) wurde als letztes geöffnet, weil dessen Reindarstellung zunächst mehr Schwierigkeiten bereitete, als erwartet.

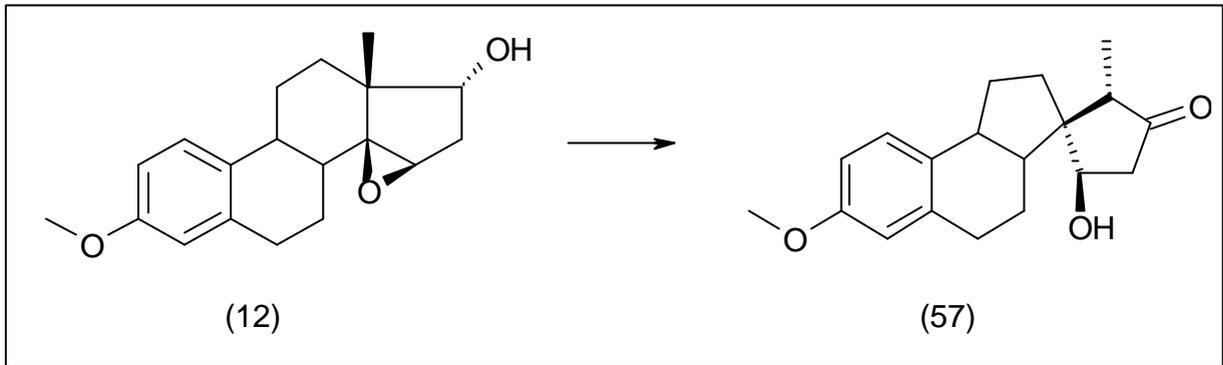


Abb. 31: Öffnung des Epoxids (12)

Bei der Behandlung mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in absolutem Toluol wurde kein Fluoröffnungsprodukt beobachtet, unabhängig davon, ob bei -10°C , Raumtemperatur oder erhöhter Temperatur (maximal 35°C) gearbeitet wurde.

Es entstanden nur geringe Mengen an 8(9)-Dehydro-14 β H-15 β ,17a-dihydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien als auch an 15-Keto-Steroid.

Überraschenderweise dominierte ein Gerüstumlagerungsprodukt mit 80 prozentiger Ausbeute, welches sich als Spiropentanoverbindung (57) mit der Bezeichnung Spiro[2,3,3a,4,5,9b-Hexahydro-7-methoxy-1H-cyclopenta[a]naphthalen]-3S,1'-[2'S-methyl-3'-oxo-5'R-hydroxy]-pentan erwies (Abb. 31, 32).

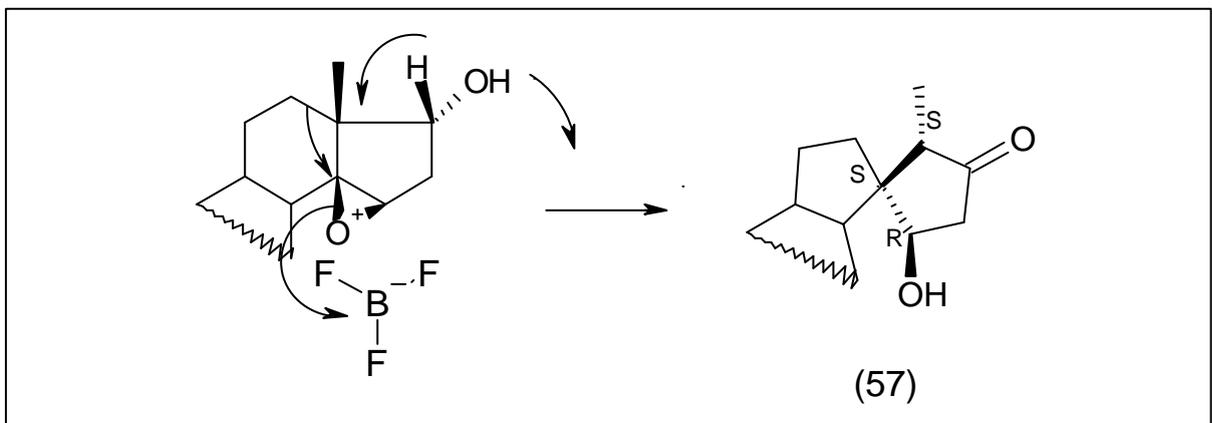


Abb. 32: Synchronmechanismus der Gerüstumlagerung zum Spiroprodukt (57)

Mittels Massenspektrometrie (ESI+) konnte als Molmasse $M=300$ durch die sichtbaren $[M+H]^+$ - und $[M+Na]^+$ -Peaks ermittelt werden. Die in FTIR-Spektrum vorhandene Carbonylbande bei 1730 cm^{-1} ist charakteristisch für ein Fünfringketon.

Einen ersten Hinweis auf eine Gerüstumlagerung lieferte das Protonenresonanzspektrum. Dort wurde eine Aufspaltung des Signals der ursprünglich angulären Methylgruppe durch Kopplung mit einer benachbarten CH-Gruppierung mit einer Kopplungskonstante $J=7\text{ Hz}$ beobachtet. Bemerkenswert war auch die extreme Hochfeldverschiebung der CH_3 -Gruppe im ^{13}C -Spektrum auf $\delta = 7,44\text{ ppm}$. Dies deutete auf eine geringe Abschirmung hin, hervorgerufen durch den positiven Anisotropiekegel der Carbonylgruppe. Durch Spektrenberechnung unter Verwendung einer internen Substanz- und Datenbibliothek mittels des Programms ACD unter Einbeziehung einer Carbonylgruppe und eines tertiären C-Atoms in unmittelbarer Nachbarschaft zur Methylgruppe, konnte dieses Postulat bestätigt werden. Die Strukturbeweise lieferte das HMBC-Spektrum von (**57**). Anhand der gefundenen $^3\text{J}_{\text{C,H}}$ -Kopplungen zwischen der Methylgruppe am C-13 mit $\delta = 0,99\text{ ppm}$ und der C=O-Gruppe (C-15 $218,4\text{ ppm}$) einerseits, sowie dem quarternären C-14 ($54,6\text{ ppm}$) andererseits, sowie der $^2\text{J}_{\text{C,H}}$ -Kopplung mit C-13 ($45,44\text{ ppm}$) konnte für die Spiroverbindung (**57**) die Konstitution der funktionellen Gruppen bestätigt und die auffallende chemische Hochfeldverschiebung der Methylgruppe im ^{13}C -Spektrum erklärt werden. Mittels COSY- und HMBC-Spektrum waren Carbonyl- und Hydroxylfunktion als direkte Nachbarn der C-16 Methylengruppe identifizierbar.

Als weiterer Hinweis für die Richtigkeit der Spiroverbindung mit C-14 als Brückenkopf wurde im HMBC durch die $^3\text{J}_{\text{C,H}}$ -Kopplung von H-11 ($2,34\text{ ppm}$) mit dem C-14 ($54,6\text{ ppm}$) festgestellt. Den direkten Strukturbeweis für die Spiropentanoverbindung (**57**) lieferte die Röntgenstrukturanalyse (Abb. 33).

Die Bestimmung der exakten Anordnung der Protonen und somit der Funktionalitäten war auch mittels NOESY-Spektrum schwierig. Ursache war die Verdrillung der beiden Fünfringe zueinander, was eine gestaffelte Anordnung der Protonen und somit einen NOE mit sehr vielen Partnern bedingte. Durch die Kombination von NOE- und HMBC-Spektren konnte jedoch die Konfiguration der H-13, H-15 sowie die der C-13-Methyl- und C-15-Hydroxylgruppe eindeutig zugeordnet werden. Die α -Konfiguration der C-13-Methylgruppe wird durch die $^3\text{J}_{\text{C,H}}$ -Kopplungen im HMBC-Spektrum zwischen dem H-13 ($2,83\text{ ppm}$) und dem C-8 bewiesen, während das Ausbleiben einer Kopplung zwischen dem H-15 ($4,44\text{ ppm}$) und dem C-8 auf die β -Konfiguration der 15-OH-Gruppe schließen lässt. Einen weiteren Beweis lieferte die Kopplung zwischen H-8 ($1,70\text{ ppm}$) und dem H-13 ($2,83\text{ ppm}$) im NOE-Spektrum. Das aus-

bleibende NOE-Signal zwischen dem H-15 (4,44 ppm) und H-13 (2,83 ppm) steht ebenfalls im Einklang mit der β -Konfiguration der Hydroxylgruppe am C-15 und die α -Konfiguration der C-13-Methylfunktion.

Lediglich bei der in Abbildung 34 gezeigten Anordnung der funktionellen Gruppen im Molekül ist eine Kopplung zwischen H-13 β und H-8 β möglich, während eine Kopplung zwischen H-15 α und H-8 β nicht beobachtet werden kann.

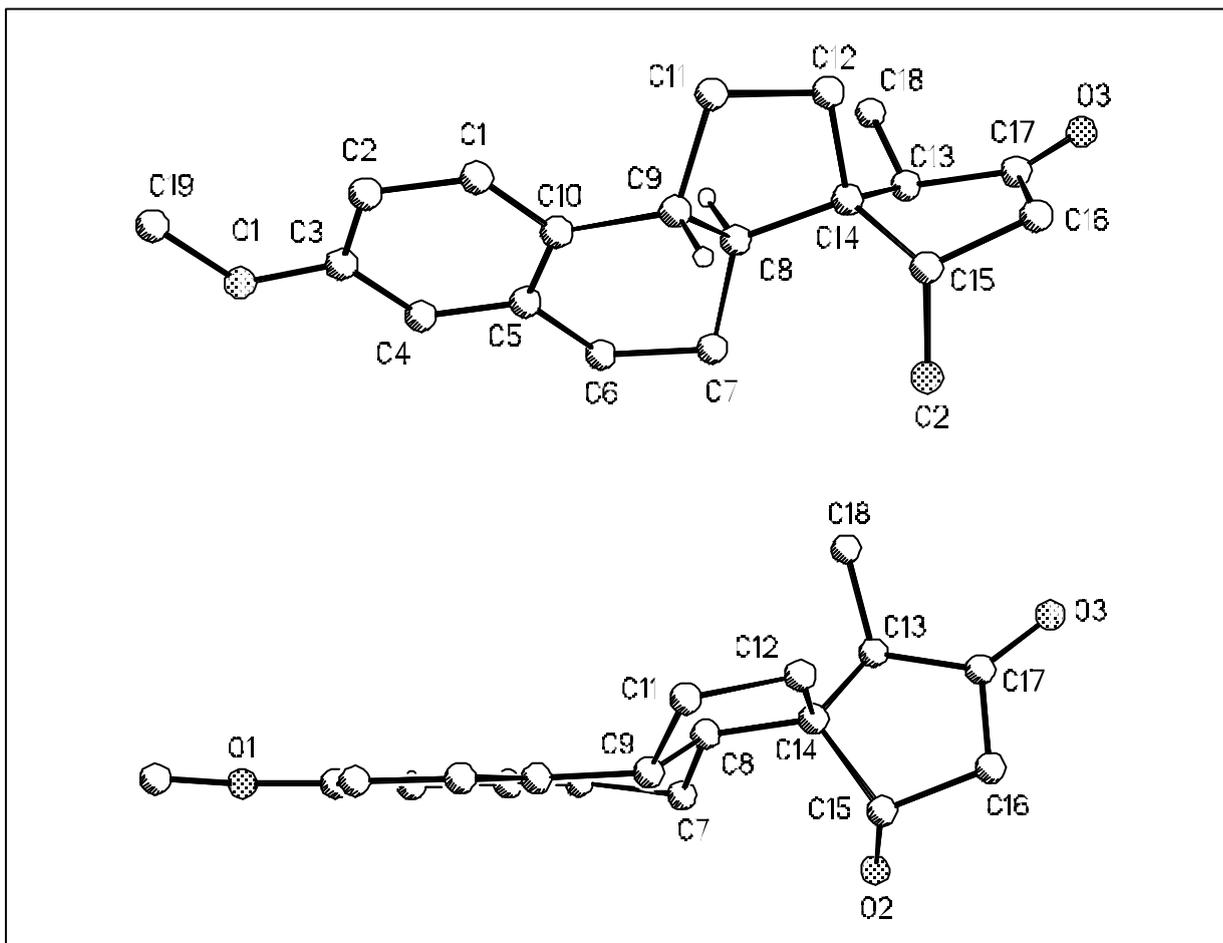


Abb. 33: Röntgenkristallstruktur des Spiroproduktes (57)

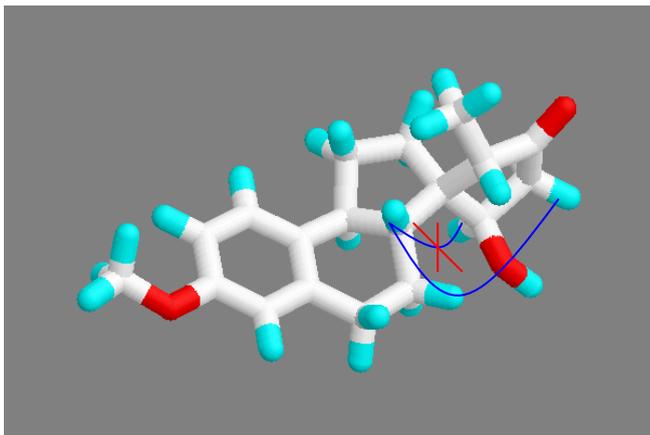


Abb. 34: Energieoptimierte Konformation des Spiroproduktes (57) mit Alchemy 2000

2.3.1.2 Schlussfolgerung zu den Epoxidöffnungen

Die an Modellepoxiden der Gona-1,3,5(10)-trien-Reihe durchgeführten Untersuchungen haben deutlich gezeigt, dass die oben geäußerten Bedenken bezüglich einer einheitlichen Reaktionsführung, z.B. in Richtung Wagner-Meerwein-Umlagerungsprodukte, begründet waren. So wurde nur bei der Reaktion des 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxids (**9**) das entsprechende 14 β -Methyl-Derivat (**28**) erhalten.

Eine grundlegende Veränderung der Situation ist nur dann zu erwarten, wenn im Ausgangsepoxid ähnlich wie von Dauben berichtet [Dauben, 1972], anstelle von H-8 β eine Methylgruppe in α -Position vorhanden ist. Damit wird der Weg über ein 8(9)-Olefin abgeschnitten und der Methylgruppentransfer begünstigt. Eine veränderte Reaktivität in Bezug auf die Wagner-Meerwein-Umlagerung ist auch durch die Änderung der Konfiguration am C-8 (H-8 α) zu erwarten.

Bei der säurekatalysierten Öffnung der Epoxide (**9**, **10**, **11**, **12**) in Gegenwart von p-TsOH oder BF₃·Et₂O wurde ein einheitlicher konzertierter Mechanismus beobachtet. Das wird noch deutlicher, wenn durch den Schutz der 17-Alkoholfunktion in Form von Acetaten Nachbargruppeneffekte ausgeschaltet werden. In diesen Fällen dominieren 15-Ketoverbindungen (**19**, **21**), und bei der Öffnung des 14 α ,15 α -Epoxids (**17**) die 8(14)-Dehydroverbindung, die unter dem Einfluss von Säure zum thermodynamisch stabileren 8(9)-Dehydroprodukt (**20**) isomerisiert. Eine 1,3-Allylumlagerung, normalerweise bevorzugt, wurde nicht beobachtet. Dies gilt für die Isomerisierung der 8(14)-Olefine sowohl mit geschützter als auch ungeschützter 17-Hydroxylgruppe.

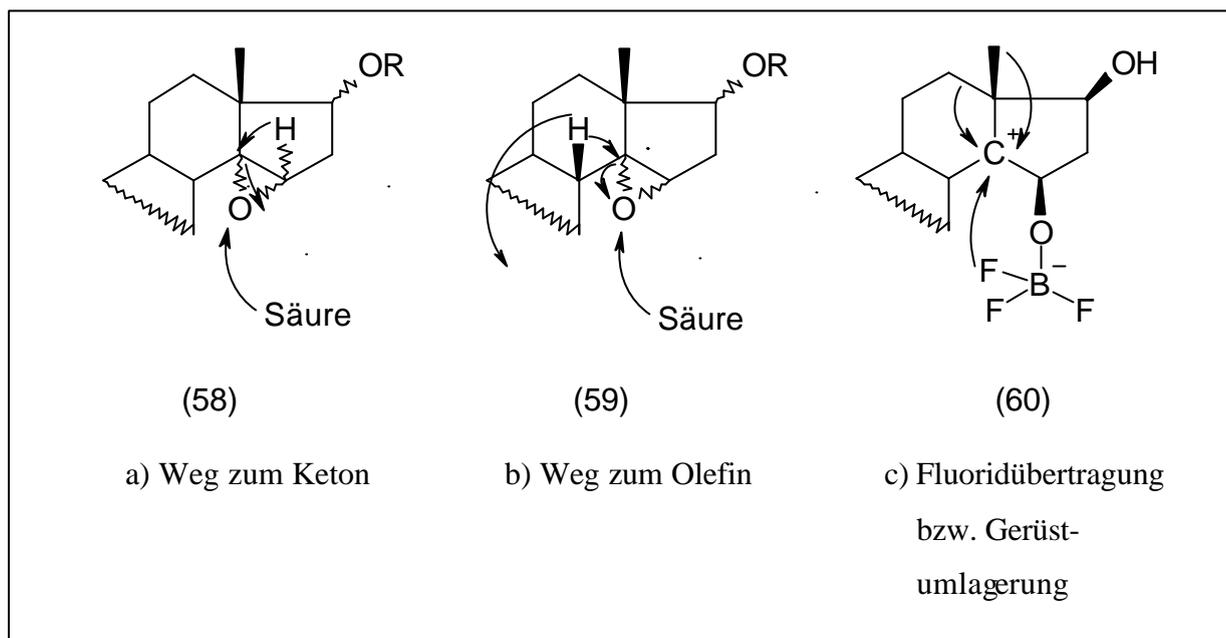


Abb. 35: Vorschlag zum Synchronmechanismus bei Epoxidöffnungen

In Abb. 35 sind die unterschiedlichen Wege zur Produktbildung durch Pfeile skizziert. Damit soll verdeutlicht werden, dass bei der Ketonbildung (Fall a), die Epoxidöffnung und Hydridwanderung synchron verlaufen, d.h. die Konfiguration von H-14 wird durch die Stereochemie des Epoxidringes im Edukt festgelegt.

Im Fall b liegt ein typischer Eliminierungsmechanismus vor, der bei den 14 β ,15 β -Epoxiden (**10**, **12**, **18**) aufgrund der cis-Konfiguration der Substituenten, von H-8 β und des 14 β -Sauerstoffes, nicht zustande kommt. In dieses Raster passt auch das Reaktionsverhalten des 17 α -OH-14 α ,15 α -Epoxids (**11**), bei dessen Öffnung das Olefin (**24**) dominiert.

Bei einem Reaktivitätsvergleich von 17-Hydroxy- und 17-Acetoxyepoxiden wird bei der Umsetzung mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in Toluol eine Beteiligung nachbarständiger Hydroxylgruppen deutlich.

Abgesehen von den primär gebildeten 8(9)- oder 15-Ketosteroiden Verbindungen, werden mit Ausnahme des 17 α -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxids (**11**) charakteristische neue Produkte gebildet, das Spiropentan (**57**) aus dem 17 α -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxid (**12**), das Wagner-Meerwein-Produkt (**28**) aus dem 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxid (**9**) und das 14 β -Fluorprodukt (**30**) aus dem 17 β -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxid (**10**). Diese neuen Produkte können auf ein intermediär gebildetes Carbeniumion zurückgeführt werden. Mit den Pfeilen (Abb. 35) sind die Umlagerungsreaktionen bzw. der nukleophile Angriff des Fluorids angedeutet. Im Fall der Fluorid-

übertragung ist auch ein 15,17-Bis- oder ein verbrückter BF_3 -Komplex vorstellbar (Vergleich mit Abb. 27).

Die Ergebnisse, vor allen in Richtung Wagner-Meerwein-Produkt, und die Bildung von 14 β -Fluor- und Spiropentanstruktur, lieferten damit wesentliche Grundlagen für die zukünftige Arbeiten zur sauren Öffnung von 14,15-Epoxiden unter Nachbargruppenbeteiligung.

2.3.2 Totalsynthese von 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (55)

Ziel der Totalsynthese von 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (55) war es, einen Grundbaustein mit der 8 α ,14 β -Dimethyl-13 α -H-Konfiguration an den Brückenkohlenstoffen nach dem Vorbild der Fusidinsäure (Abb. 36) zu synthetisieren.

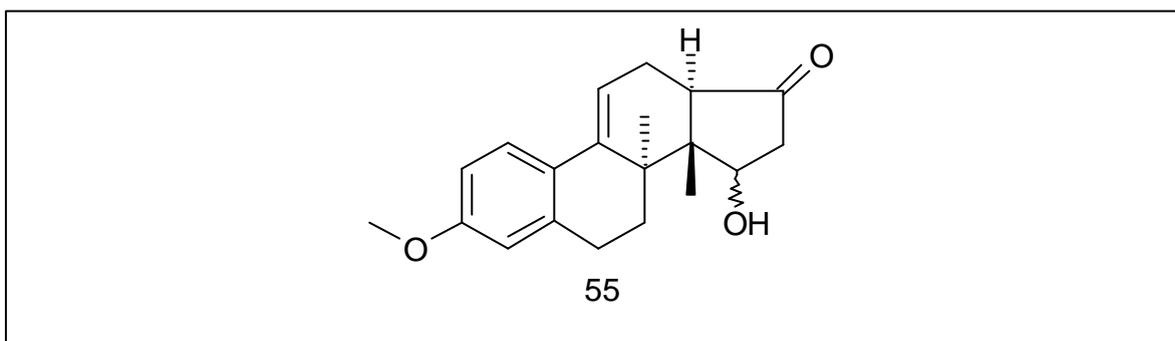


Abb. 36: Totalsynthetischer Grundbaustein 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (55)

Dieser Synthesebaustein (55) wahrt alle Optionen, um relevante pharmakophore Gruppen der Fusidinsäure einzuführen. Das betrifft im D-Ring die Möglichkeit zur Einführung einer Seitenkette am C-17 und eines 16 β -Substituenten, aber auch den A-Ring mit der Möglichkeit zur Synthese von 4 α -Methyl- und der 3 α -OH-Gruppen, cis-verknüpfter Ringe A und B sowie die Funktionalisierbarkeit in 11-Stellung. Des Weiteren besteht ein großer Spielraum, neue, bisher nicht praktizierte strukturelle Veränderungen vorzunehmen. Dies erst ermöglicht eine umfassende Untersuchung bezüglich der Fus H- und EF-G-Targetspezifität.

Die möglichen Wege zu solchen Grundkörpern sind lang und der Zugang zu effizienten Ausgangsmaterialien oft nicht oder nur schwer realisierbar. Zudem sind die in der Literatur veröffentlichten Erfahrungen nicht immer nachvollziehbar. In der Regel wurden die publizierten

Synthesen nicht mit aller Konsequenz bis zu den biologisch relevanten Substanzen durchgeführt bzw. verfolgten andere Ziele [Dauben, 1972; Barriault, 1997; Eder, Patent].

Für die Synthese des Grundbausteins (**55**) bieten sich Naturstoffe an, die im Grundgerüst bereits charakteristische Strukturmerkmale der Fusidinsäure aufweisen oder in solche umgewandelt werden können. Dazu gehören unter anderem die Dammarane und Lanostane [Diassi, Basco 1966; Diassi, Krakower, 1966; Ireland, 1972; Ireland, Giger, 1977; Ireland, Besölin, 1977; Murphy, 1977; Kazlauskas, 1972; Kazlauskas, 1969; Cohen, 1971]. Dies setzt aber ein erhebliches Repertoire an effektiven chemischen und biologischen Methoden voraus, wobei letztere nicht zur Verfügung standen.

Arbeiten Ruhland et al. (Schering AG), wie die Cyclopropanierung von 8(14)-Steroiden [Ruhland, 1995], von Winterfeld und Dauben [Dauben, 1972; 1982] zur Totalsynthese von Fusidanen mit 17-Keto-Gruppierungen, bei denen chirale Bausteine [Eder, 1971; Eder, 1978; Eder, Patent; Cai, 1985; Eder, 1976] eingesetzt wurden, bieten bessere Voraussetzungen und wurden konzeptionell genutzt.

2.3.2.1 Synthesekonzept für (**55**)

Die in dieser Arbeit entworfene Synthesekonzeption basierte auf den von Dauben [Dauben, 1972], Eder [Eder, 1978; Eder, 1976; Crispin, 1970] bzw. Weber [Weber, 1980] entwickelten Verfahren. Den Ausgangspunkt für die selektive Synthese bildete ein chiraler Baustein, das Wiechert-Keton (WK) (**34**), auch unter dem Namen Wieland-Miescher-Keton bekannt [Hajos, 1974; Hajos, 1967; Eder, 1971; Eder, 1978; Eder, Patent; Cai, 1985; Eder, 1976; Golinski, 1993], das freundlicherweise von der Schering AG zur Verfügung gestellt wurde. Das Wiechert-Keton wird neben der Totalsynthese von Steroiden auch zur Synthese triterpenoidartiger Verbindungen mit einer von den Steroiden abweichenden Struktur an den Brückenkopfpositionen eingesetzt. Als Alkylierungssynthone wurden das 2(3-Methoxy-phenyl)-ethyltosylat (**33**) [Snyder, 1993] bzw. das 2(3-Methoxy-phenyl)-ethylbromid (**33a**) [Collins, 1956] gewählt, um die Variationsmöglichkeiten des A- und B-Ringes für bisher noch nicht dargestellte Verbindungen zu gewährleisten. Das Wiechert-Keton sollte mit einem Alkylsynthon umgesetzt und das sich bildende 9(10)-Seco-gonanderivat (**35**) schrittweise in das 3-Methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11),14(15)-pentaen (**37**) überführt werden.

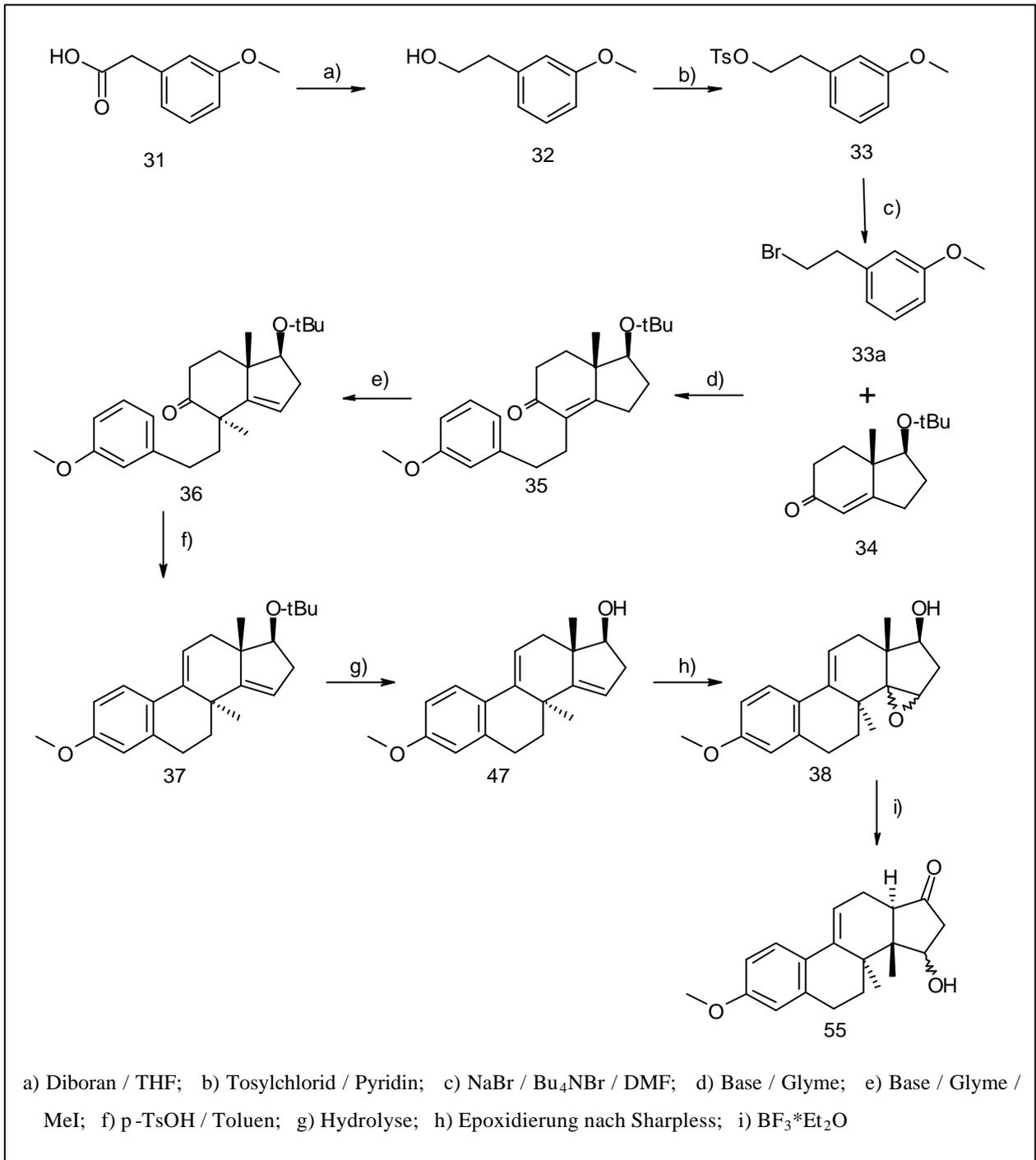


Abb. 37: Totalsynthesekonzeption für (55)

In Abb. 37 zeigt die konzipierte und idealisierte Reaktionssequenz. Sehr widersprüchlich sind die Literaturangaben zur Darstellung von Secogonanen (**35**), in denen von sehr guten bis schlechten Ausbeuten berichtet wird, obwohl nahezu die gleichen Reagenzien (Schritt d) in Abb. 37) verwendet werden. Als Konsequenz dieser Recherchen wurden Untersuchungen der Reaktionsschritte d) und e) geplant, in denen die Darstellung von (**35**) und (**36**), die Variation der Reaktionsbedingungen und die Reinigung der Edukte ebenso wie alternative Synthesewege vorgesehen wurden.

2.3.2.2 Reaktionsführung

Im folgenden Abschnitt wird über die praktische Umsetzung des Totalsynthesekonzepts (Abb. 37) berichtet. Dabei wird auf literaturbekannte Reaktionen nicht eingegangen. Es sei denn, Veränderungen wurden vorgenommen, die als notwendige Voraussetzungen für spezielle Umsetzungen anzusehen sind.

2.3.2.2.1 Alkylierungssynthese - Reaktionsschritte a), b) und c)

Für die Anbindung des 3-Methoxyphenylethylrestes an das Wiechert-Keton (**34**) wird ein Synthesebaustein benötigt, der neben der geschützten phenolischen OH-Gruppe in Metastellung zur Sauerstoffgruppierung, einen Ethylrest mit endständiger elektrophiler Abgangsgruppe für Alkylierungen enthält. Um über eine größere Auswahl an Alkylierungsmitteln zu verfügen, wurden sowohl das Arylalkyltosylat (**33**) [Snyder, 1993] als auch das Arylalkylhalogenid (**33a**) synthetisiert [Collins, 1956].

Als Startmaterial diente dabei *m*-Methoxyphenylethylsäure (**31**), die durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid zu 2(3-Methoxyphenyl)ethanol (**32**) umgesetzt werden kann. Aus Sicherheitsgründen wurde das stark pyrophore LiAlH_4 durch das leichter handhabbare und dosierbare Diboran ersetzt. Die Umsetzung wurde bei Raumtemperatur mit einem Überschuss an Diboran in THF durchgeführt und verlief nahezu quantitativ. Der Alkohol (**32**) wurde in Form eines Öls isoliert und die Reinheit durch MS, IR und NMR überprüft.

Durch Tosylierung von 3-Methoxyphenylethanol (**32**) mit Tosylchlorid in trockenem Pyridin wurde das Tosylat (**33**) gewonnen, das in getrockneter und gereinigter Form für die Alkylierung genutzt wurde.

Nukleophiler Austausch Tosylat gegen Halogen

Zur Darstellung des 2(3-Methoxyphenyl)ethylbromids (**33a**) wurde das Tosylat (**33**) in einem aprotischen dipolaren Lösungsmittel in Gegenwart von NaBr unter Zusatz molarer Mengen an Tetrabutylammoniumbromid zur Umsetzung gebracht. Als Lösungsmittel wurde DMF verwendet. Die bei RT durchgeführte Reaktion war zeitintensiv und erforderte einen großen Überschuss an NaBr. Um das Produkt in der für die Alkylierung erforderlichen Reinheit bereitzustellen, war eine chromatographische Aufreinigung an Kieselgel mit Toluol als Elutionsmittel notwendig. Auch dieses Alkylierungssyntheton lag bei RT nur in Form eines Öles vor.

Die Alkylierungssynthese, das Tosylat (**33**) als auch das Bromid (**33a**) lassen sich problemlos aus *m*-Methoxyphenylelessigsäure (**31**) über die Stufen der Diboranreduktion a), der Tosylierung b) und dem nukleophilen Austausch c) darstellen. Für die weitere Verwendung der Alkylierungsreagenzien ist es wichtig, die Reagenzien trocken und in hoher Reinheit bereitzustellen.

2.3.2.2.2 Reaktion des Wiechert-Ketons mit dem Alkylierungssynthon – Stufe d)

Über die Verknüpfung des Wiechert-Ketons (**34**) mit dem Alkylierungssynthon, 2(3-Methoxy-phenyl)ethyltosylat (**33**) gibt es sehr widersprüchliche Literaturangaben. Sehr gute Ausbeuten erzielten Weber et al. [Weber, 1980], die die C-C-Bindungsknüpfung unter extremen Wasser- und Luftausschluss mit dem pyrogenen NaH als Base in Glyme (Dimethoxyethan) durchführten. Eder und Crispi [Eder, 1978; Eder, 1976; Crispin, 1970], die unter vergleichbaren Bedingungen arbeiteten, erzielten wesentlich geringere Ausbeuten, was diese auf die ungenügende Selektivität zurückführten.

Auf Grund der sich verändernden Regioselektivität der Alkylierung in Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen verzichteten die Autoren auf detaillierte Beschreibungen, insbesondere auf die Charakterisierung von Nebenreaktionen, die den Schlüssel zur Optimierung der Alkylierung darstellen können. Noch deutlicher wurde dies bei dem nachfolgenden Schritt, der Einführung der 8 α -Methylgruppe.

Die deutlichen Unterschiede zwischen einzelnen Literaturangaben waren der Anlass, den Alkylierungsprozess eingehender zu untersuchen und neben den Arbeiten unter extremen Ausschluss von Sauerstoff und Wasser auch weitere Reaktionsbedingungen zu variieren. Es wurden unterschiedliche Basen und Lösungsmittel verwendet sowie die Reaktionstemperatur, der Zugabemodus und die Mengenverhältnisse verändert.

C- und O-Alkylierung ambidenter Anionen

Die α -Alkylierung des Wiechert-Ketons (**34**) am ungesättigten C-Atom stellt eine von mehreren Reaktionsmöglichkeiten mit den Alkylierungssynthonen dar (Abb. 38). Sie ist nur unter ganz bestimmten Voraussetzungen realisierbar. Eine C-Alkylierung [Crispin, 1970; Eder, 1978; Eder, 1976; Dauben, 1972], wie die des Wiechert-Ketons, des tert.-Butoxymethylindenons oder seines Dihydroproduktes, wird normalerweise in einem aprotischen Lösungsmittel in Gegenwart einer starken Base wie Butyllithium, Alkalialkoholaten (insbesondere Kalium-tert.-butylat KtB [Dauben, 1982]), Alkali amidn oder Metallhydriden durchgeführt. Im vorliegenden Fall wurde sowohl in aprotischen dipolaren Lösungsmitteln wie DMSO oder DMF als auch in Ethern wie Tetrahydrofuran (THF), Dimethoxyethan (Glyme) oder tert.-Butylmethylether gearbeitet.

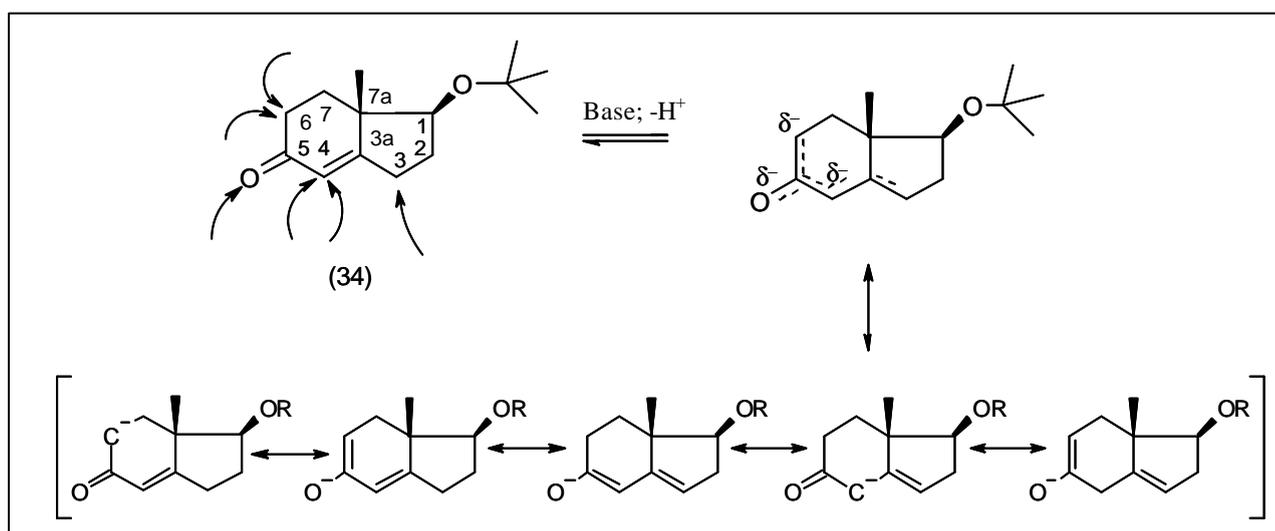


Abb. 38: Reaktionsmöglichkeiten des Wiechert-Ketons mit Alkylanzien

Um die Vielfalt der Reaktionsmöglichkeiten zu dokumentieren sind in Abbildung 38 die wesentlichen Grenzstrukturen, die sich unter dem Einfluss von Basen unter Gleichgewichtsbedingungen bilden können, zusammengestellt. Die Möglichkeiten für einen elektrophilen Angriff des Alkylierungsmittels sind durch Pfeile symbolisiert. Die Übersicht zeigt, dass sowohl C- und als auch O-Alkylierungen möglich sind.

Die Selektivität der Reaktion wird entscheidend durch die Wahl der Base, deren Stärke, die Reaktionszeit, Temperatur sowie durch das verwendete Lösungsmittel beeinflusst.

Die oben aufgeführten Reaktionsparameter können, abgesehen von einer kinetisch kontrollierten Reaktionsführung, zu unterschiedlichen Gleichgewichtseinstellungen führen und somit die Bildung von Produktgemischen verursachen.

Um die Einstellung des Gleichgewichts zu begünstigen und die Selektivität zu erhöhen, könnten alternativ die Umsetzungen über die Imine bzw. Silylenolether (Abb. 39) genutzt werden, die nach Überführung in das entsprechende Amid bzw. Enolat bevorzugt am α -C-Atom zum Heteroatom alkyliert werden sollten [Stork, 1963]. Dieser Reaktionsweg wird im Rahmen einer zukünftigen Optimierung der Synthese in Erwägung gezogen.

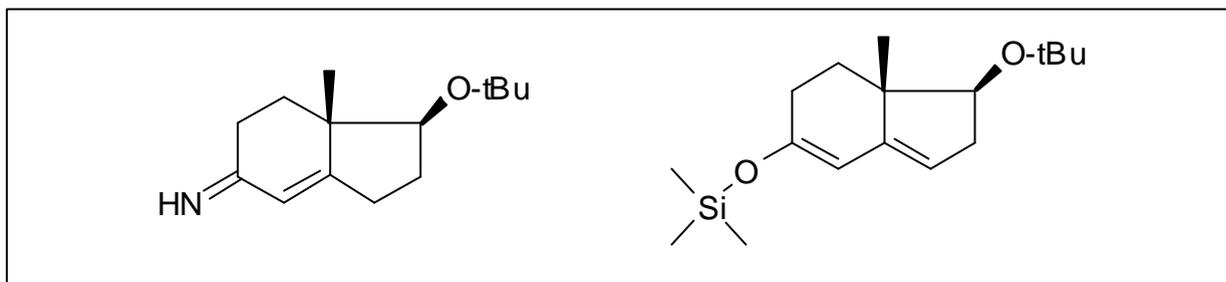


Abb. 39: Alternativen zur Enolatbildung

Eine Voraussetzung für die C-C-Bindungsknüpfung durch Alkylierung am C-4 des Wiechert-Ketons wird durch selektive Deprotonierung am C-3 unter Bildung des $\Delta^{5(4),3a(3)}$ -Dienolat-Ions (**34b**) geschaffen. In Abbildung 40 bzw. 38 sind die idealisierten Grenzstrukturen dargestellt. Viel hängt von der verwendeten Base und dem Lösungsmittel, d.h. von der richtigen Kombination (hart/weich) ab. Entsprechend der Reaktivität des Wiechert-Ketons wurde zuerst das acideste Proton abgespalten, dies bedeutet aber, dass primär das Proton des am wenigsten substituierten C-Atoms, das in α -Stellung zur Carbonylgruppe steht, abgespalten wird.

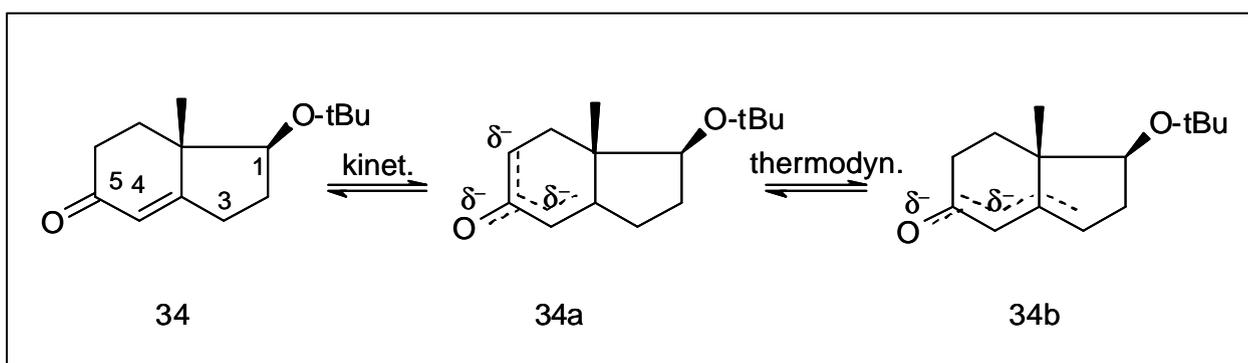


Abb. 40: Gleichgewicht der Dienolat-Ionen des Wiechert-Ketons

Unter Gleichgewichtsbedingungen (Abb. 40) entsteht bei erhöhter Temperatur das thermodynamisch begünstigte $\Delta^{5(4),3a(3)}$ -Dienolat (**34b**). Erst wenn sich das Gleichgewicht eingestellt hat, d.h. überwiegend das $\Delta^{5(4),3a(3)}$ -Dienolat (**34b**) entstanden ist, sollte das Alkylierungsmittel zugesetzt werden. Die Alkylierung des Dienolats erfolgte in aprotischen Lösungsmitteln an

der Stelle höchster Elektronendichte, am C-4, und sollte durch einmalige Zugabe des Alkylierungsmittels realisiert werden.

Die Umsetzung des WK (**34**) ist mit der selektiven Alkylierung von α,β -ungesättigten Steroidketonen, z.B. Δ^4 -3-Ketosteroiden in Position 4 vergleichbar [Kirk]. Vor Zugabe des Alkylierungssynthons sollte sicher gestellt werden, ob das für die Alkylierung wichtige Dienolat (**34b**) bei Verwendung definierter Basen und Lösungsmittel auch gebildet wird. Der Nachweis kann in situ durch $^1\text{H-NMR}$ -Messungen in DMSO geführt werden. Dazu wird das Wiechert-Keton in DMSO gelöst, mit NaH versetzt und nach dessen kompletter Auflösung ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgenommen. Mit Hilfe dieses Experimentes konnte bewiesen werden, dass eine Doppelbindungsverschiebung erfolgt. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum tritt ein zusätzliches Signal bei $\delta = 5,48$ ppm auf, das charakteristisch für ein Vinylproton ist und dem $\Delta^{3a(3)}$ -5-Keton zugeordnet werden konnte. Bestätigt wurde diese Annahme durch die Veränderung der Carbonylfrequenz im IR-Spektrum von 1666 cm^{-1} beim Wiechert-Keton zu 1721 cm^{-1} im dekonjugierten Keton (siehe auch Abb. 44: IR-Spektren von konjugierten und dekonjugierten Verbindungen). Experimentell wurde das Dienolat durch sofortige Zugabe von Wasser oder verdünnter Essigsäure protoniert, wobei die Protonenanlagerung an der Stelle der höchsten Elektronendichte erfolgt. Aus dem Dienolat entstand das dekonjugierte unpolare Keton, das auch dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden konnte.

Neben der Dienolatbildung, als Voraussetzung für die Monoalkylierung des Wiechert-Ketons, sind die Aufrechterhaltung der hohen Temperatur und die genaue Dosierung des Alkylierungsmittels wichtig [Woodward, 1954]. Die erhöhte Temperatur trägt dazu bei, dass sich das bei der Monoalkylierung entstehende dekonjugierte Keton in das konjugierte umwandelt. Letzteres wird nicht ein zweites Mal alkyliert, es sei denn, ein Überschuss an Base und/oder Alkylierungsreagenz liegt vor.

Reaktionsführung zur Umsetzung des WK und die Ergebnisse

Die Umsetzung des Wiechert-Ketons (WK) wurde mit zwei verschiedenen Alkylierungssynthonsen dem Bromid (**33a**) und dem Tosylat (**33**) vorgenommen. Es wurden eine Reihe von Reaktionsparametern, wie die Basizität, das Lösungsmittel, der Zugabemodus, die Temperatur und die Reaktionszeit variiert. Dabei wurde auf vollständigen Ausschluss von Wasser geachtet und die zugesetzten Edukte, Lösungsmittel und Basen entsprechend vorbehandelt. Tabelle 4 vermittelt einen Überblick über die durchgeführten Reaktionen.

Reaktionsmedium		Reaktions- temperatur und - dauer		Reaktions- partner		Produkt- ausbeute	Bemerkungen
Base	Lösungsmittel	Enolatbildg. Alkylierung	Stunden	Wiechert- Keton 35	Alkylierungs- reagenz		
LDA	Glyme	65°C 85°C	15 Min. 16h	1,1 Äqui- val.	(33)	uneinheitlich	Lsgm. absolutieren
					(33a)	uneinheitlich	Glyme (CaH ₂)
LDA in situ 1,1 Äquival.	Glyme	65°C 85°C	2 h 16 h	1,1 Äqui- val.	(33)	< 5 %	typische Enolat- farbe fehlt
KtB 2-Äquival.	DMF über Molsieb	RT	15 Min. 3 h	2 bis 3 Äquival.	(33)	< 10 %	Reagenz- u. Reak- tionspartnerüber- schuss negativ
KtB	t-Butyl-methyl- ether	RT	15 Min. 5 h	1,1 Äqui- val.	(33)	15 %	Doppelte Alkyl. zu (41) Tosylat u. WK durch Basen zer- stört
KtB	DMSO	RT	15 Min. 5 h	1,1 Äqui- val.	(33)	< 10%	Zersetzung der Reaktionspartner
KtB	THF	RT	30 Min 5 h	1,1 Äqui- val.	(33)	< 10 %	Zersetzung der Reaktionspartner
NaOH fest	DMF	RT	1 h 6 h	1,1 Äqui- val.	(33)	< 5 %	Anfangs einheitlich, später Zersetzung, DMF, Reaktionsp.
NaOH KOH	t.-Butyl- methylether	RT	30 Min 5 h	1,1 Äqui- val.	(33)	< 10 %	NaOH, KOH, Ultra- schall Aldolreaktion WK
NaOH	DMF Ultraschall	RT	30 Min. 5 h	1,1 Äqui- val.	(33)	< 5 %	Zers. DMF, Reak- tionspartner, Schwarzfärbung
NaH Ölsuspen- sion	DMSO / THF 1 Äquival.	65°C 85°C	3 h 4 h	1,1 Äquival.	(33)	ca. 45 %	Absol. Lsgm. Glyme ketyliert NaH Original
NaH Ölsuspen- sion	Glyme / DMSO 1 Äquival	65°C 85°C	3 h 4 h	1,1 Äqui- val.	(33)	82 %	äquival. Mengen an DMSO was- serfr.
NaH Ölsuspen- sion	Glyme	65°C 85°C	3 h 3 h	1,1 Äqui- val.	(33)	60 –85 %	Reaktionspartner auf einmal zugeben kein Überschuss
NaH Ölsuspen- sion	Glyme	65°C 85°C	3 h 3 h	1,1 Äqui- val.	1. (33) 2. Mel	< 25	nach Erstalkylierung + NaH + Mel nicht bef riedigend

Tabelle 4: Variationen der Reaktionsbedingungen bei der Umsetzung des WK mit Alkylierungsreagenzien

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, wurden nur sporadisch gute Ausbeuten erzielt. Die von Weber et al. [Weber, 1980] mit reinem NaH in Glyme erzielten Ergebnisse wurden nicht erreicht. Da die Handhabung des pyrogenen NaH auf Dauer problematisch war, und darüber hinaus die Qualität der Base nach dem Öffnen der Originalpackung deutlich zurückging, wurde nach alternativen Synthesewegen gesucht. Das NaH wurde durch NaH-Ölsuspension ersetzt und somit die Empfindlichkeit gegenüber äußeren Einflüssen vor allem Wasser herabgesetzt. Unter diesen Bedingungen konnten Ausbeuten von bis zu 85 % erzielt werden. Bei einer Vergrößerung der Ansätze ist mit konstanteren und höheren Ausbeuten zu rechnen, weil das Risiko, Luft und Wasser einzuschleppen, verringert wird.

Bei der Umsetzung des Wiechert-Ketons mit dem Tosylat und in situ erzeugtem LDA in Glyme wurde das Alkylierungsprodukt nur in Spuren gebildet. Stellvertretend für die Alkoholate wurde KtB als Deprotonierungsmittel in verschiedenen Lösungsmitteln wie THF, Glyme, DMF, DMSO und tert.-Butylmethylether erprobt.

Bei Verwendung von NaOH oder KOH anstelle von KtB wurden unter dem Einfluss von Ultraschall Nebenreaktionen mit dem WK (**34**) (Aldolkondensation) und dem Tosylat (**33**) (Abspaltung des Tosylrestes) beobachtet. NaOH und KOH entstehen auch bei der hydrolytischen Zersetzung von NaH bzw. KtB mit Wasser. Besonders bei den kleinen Ansätzen dominieren diese Hydrolyseprodukte und lösen Nebenreaktionen aus. Aus diesem Grund sollten für die routinemäßige Synthese des Secoproduktes (**35**) nur frisch verabsolutierte Lösungsmittel und getrocknete Edukte verwendet werden. Frische NaH-Ölsuspension in Glyme hat sich für diesen Reaktionsschritt bewährt, allerdings werden auch hier beim längeren Aufbewahren des NaH zunehmend Nebenreaktionen festgestellt.

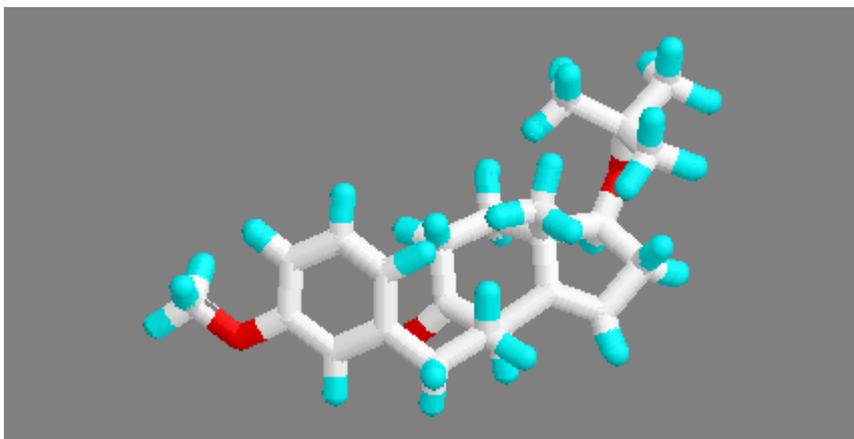
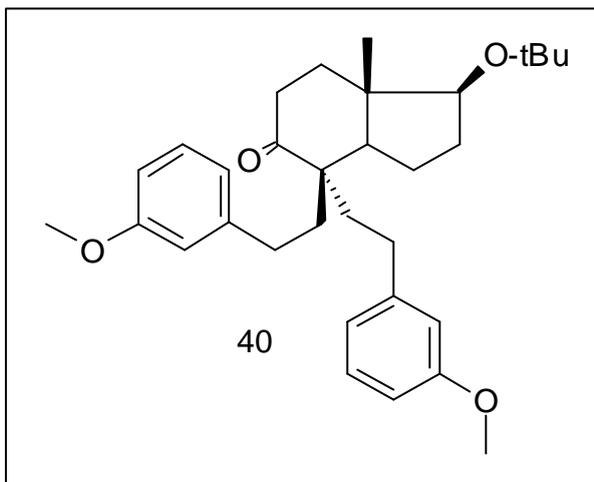


Abb. 41: 3D-Optimierung des alkylierten Wiechert-Ketons (35) (Alchemy 2000)

KtB war als Base nur bedingt geeignet, da die erzielte Ausbeute zu gering war. Bei der Verwendung von THF als Lösungsmittel setzte die Reaktion erst bei erhöhter Temperatur – in der



Siedehitze ein. Neben Monoalkylierung mit dem Alkylierungssynthons (**33**) wurde bei der Verwendung eines Überschusses an Synthons (**33**) auch das Dialkylierungsprodukt (**40**) beobachtet. Die zweite C-C-Bindungs-knüpfung erfolgte am gleichen C-Atom wie die Monoalkylierung (Abb. 42). Der gleiche Effekt wurde auch erzielt, wenn anstelle des Tosyl- der Basenanteil erhöht wurde.

Abb. 42: Dialkyliertes Wiechert-Keton (40)

Die Dialkylierung gab den Anstoß, die Kopplung des Wiechert-Ketons (Stufe d) mit der 8α -Methylierung (Stufe e) zu verbinden. Diese Methylierung sollte nach dem Synthesekonzept (Abb. 37) in einem separaten Schritt durchgeführt werden. Um diese Art Eintopfreaktion zu realisieren, wurden zunächst äquivalente Mengen des Alkylierungssynthons (**33**) dem Wiechert-Keton zugesetzt und im Anschluss daran ein Überschuss an Methyljodid zugegeben. Ziel war es, die Doppelalkylierung mit dem Tosylat (**33**) zu unterbinden.

Dies gelang nur teilweise, da sowohl die Bildung von (**40**) als auch die des 8α -Methylproduktes (**36**) beobachtet wurden. Dieses Produktgemisch wurde auch dann gebildet, wenn nach der Zugabe des Alkylierungssynthons (**33**) in Abständen von 15 bzw. 30 min äquivalente Mengen an Base und ein Überschuss an Methyljodid zugegeben wurden.

Schlussfolgerungen

Wegen der Bedeutung des Secoproduktes (**35**) als Schlüsselprodukt für die Synthese des triterpenoiden Grundgerüsts anellierter Ringe nach dem Vorbild der Fusidinsäure sollen die wichtigsten Erkenntnisse hierzu noch einmal zusammengefasst werden. Sie sind als Anleitung, für die noch ausstehenden Optimierungsversuche und die Übertragung vom Mikro- in den Makromaßstab zu verstehen.

Ein Anliegen dieser Arbeit war es, ein routinemäßiges, ohne hohen Sicherheitsaufwand an Inertgastechnik durchführbares Verfahren zu etablieren.

Bei den Synthesen hat sich insbesondere NaH, auch in Form einer 60%-igen Ölsuspension als Base bewährt. Durch flankierende analytische Nachweisreaktionen, z.B. für die Dienolatbildung, wurde der Weg für eine optimale Reaktionsführung sichergestellt und die bisher sehr zeitaufwendigen Reaktionen auf das Mindestmaß beschränkt.

- Die Umsetzungen sind unter Inertgas durchzuführen, die Apparaturen auszuheizen, die Einsatzstoffe (Wiechert-Keton (**34**) und Alkylierungsreagenz (**33**)) müssen ebenso wie die verwendeten Lösungsmittel frisch vorgetrocknet sein.
- Für die Umsetzung hat die Dienolatbildung (**34b**) besondere Bedeutung (Abb. 40), die nicht spontan erfolgt, sondern erst durch die Einstellung des Gleichgewichts ihr Optimum für die gewünschte Alkylierung erreicht. Für diese Gleichgewichtseinstellung ist die Einhaltung der Reaktionstemperatur und die Vermeidung eines Basenüberschusses bzw. Basenmangel unabdingbar.
- Werden Reaktionsabläufe wie Zugabemodus und Mengenverhältnisse nicht eingehalten, kann es zu vielfältigen Nebenreaktionen kommen:
 - wie Alkylierung am C-3 des Wiechert-Ketons (Abb. 38)
 - Dialkylierung zu (**40**)
 - Zersetzung des Alkylierungsreagenzes bzw. Nebenreaktionen des Wiechert-Ketons (Aldolkondensation)
 - bei der Verwendung von KtB oder Dimethylsilylnatrium werden auch O-alkylierte Produkte gebildet
- Die Umsetzung des WK und des Tosylats mit der Methylierung zum 8 α -Methyl-Produkt (**36**) zu verbinden, war unter den gegebenen Bedingungen bei erhöhter Temperatur nicht vorbehaltlos möglich und führte automatisch zu Ausbeuteverlusten. Deshalb ist für die Einführung der Methylgruppe in Position 8 ein separater Schritt erforderlich.

2.3.2.2.3 Methylierung des Seco-gona-1,3,5(10),8(14)-tetraens – Stufe e)

Mit der Einführung der 8a-Methylgruppe wird ein wesentliches Strukturmerkmal der Fusidane etabliert. Dauben et al., die diese Alkylierung an einem strukturell vergleichbaren Keton in DMF durchführten, verwendeten dazu KtB/t-BuOH als Deprotonierungsmittel und Methyljodid als Alkylierungsreagenz [Dauben, 1972].

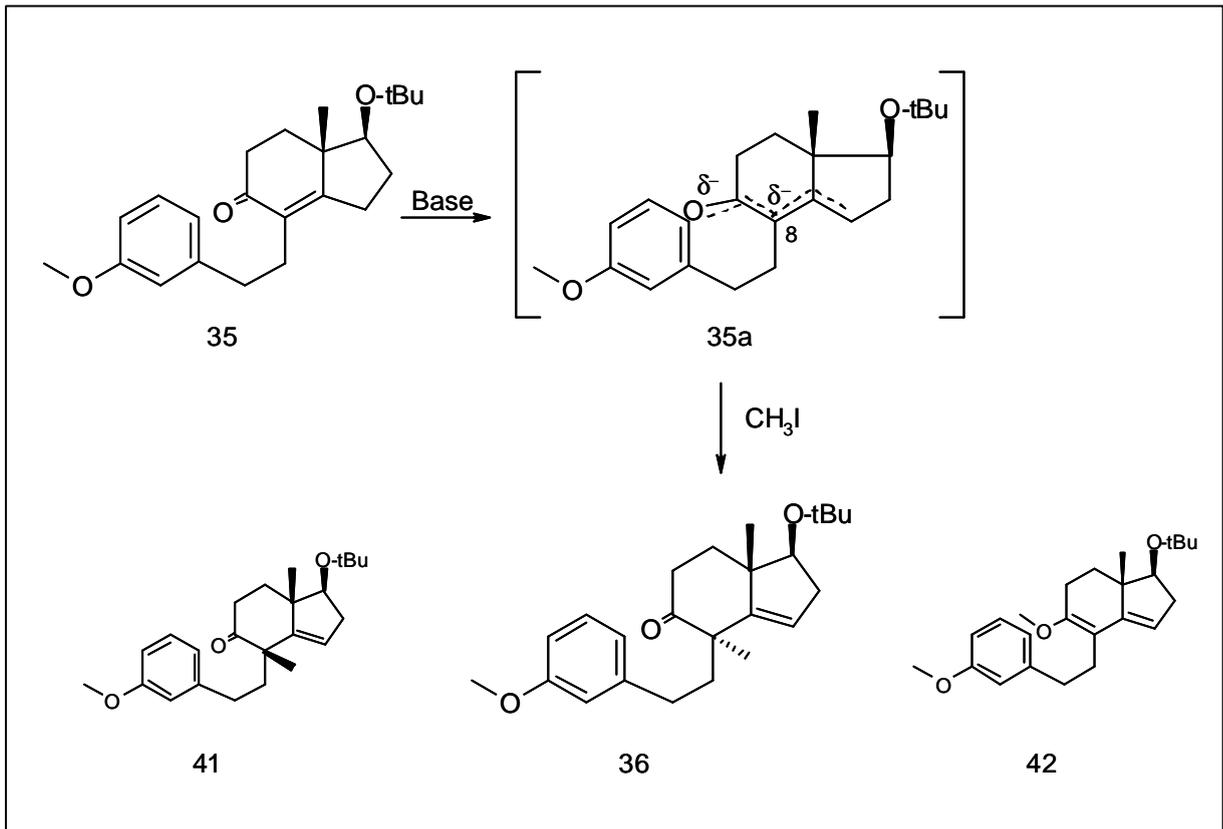


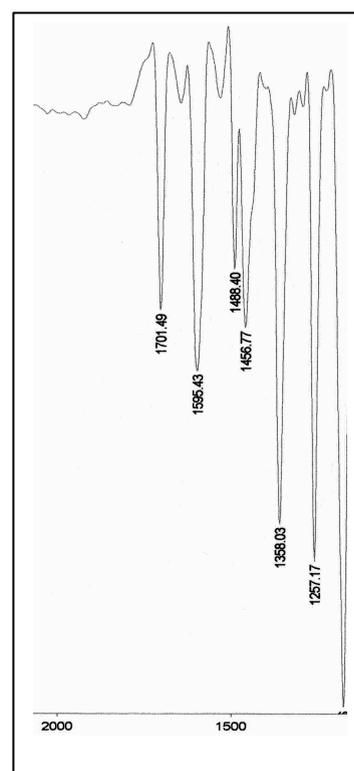
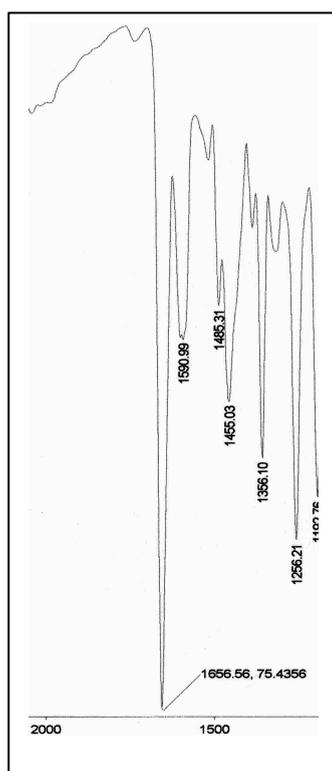
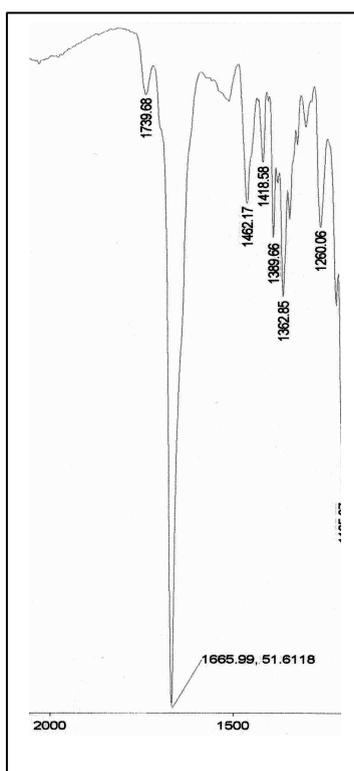
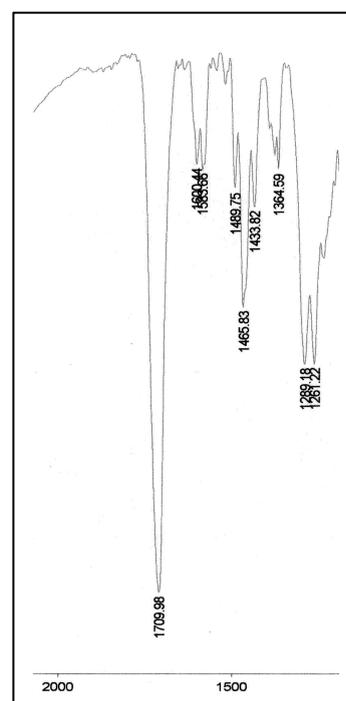
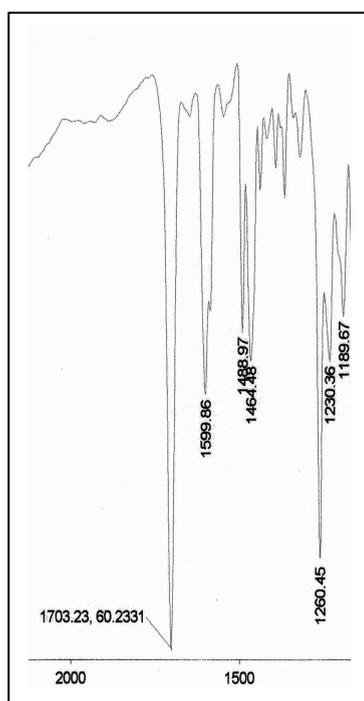
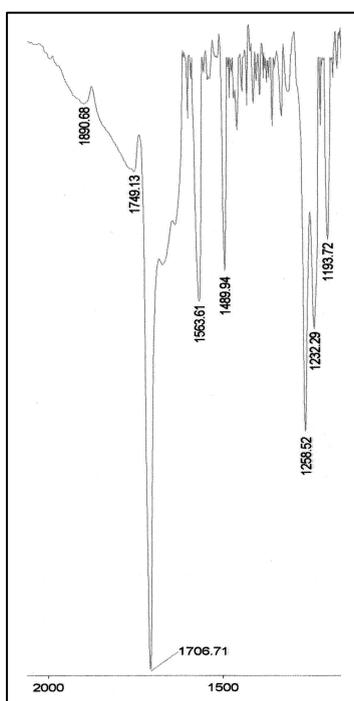
Abb. 43: 8a-Methylierung

Prinzipiell kann bei der Methylierung von (35) am C-8 analog zur Alkylierung des Wiechert-Ketons verfahren werden. Die Bildung des Dienolats, hier (35a) stellt wie bei der Reaktion mit dem Wiechert-Keton (Dienolat (34b)) eine Voraussetzung für guten Umsatz dar. Einziger Unterschied im Vergleich zum WK besteht in einem anderen Temperaturregime nach der Zugabe des Alkylierungsmittels. Ein Erhitzen ist bei der Methylierung nicht notwendig, weil mit der Einführung der 8-Methylgruppe die Doppelbindungsisomerisierung unmöglich ist [Kirk].

Auf Grund der Ladungsverteilung sollte der Angriff des Alkylierungsreagenzes, wie auch beim Wiechert-Keton, am negativsten Kohlenstoffatom, dem C-8 vonstatten gehen. Durch die anguläre 13 β -Methylgruppe wird die β -Seite sterisch so abgeschirmt, dass die Zweitalkylierung bevorzugt von der α -Seite her erfolgt.

Lediglich bei der Reaktionsführung in DMF konnten mit KtB und Methyljodid geringe Mengen des 8 β -Methylproduktes (**41**) sowie ein O-Alkylierungsprodukt (**42**) nachgewiesen werden (Abb. 43). Der Konfigurationsnachweis der isomeren 8-Methylprodukte wurde mittels 2D-NMR-Spektroskopie (NOESY) geführt. Dass es sich bei den beiden C-methylierten Verbindungen um unterschiedliche Substanzen handelt, zeigt ein Vergleich der ^{13}C -Spektren. Hier wird eine deutliche Verschiebung der charakteristischen Signale für die CH_3 -Gruppe am C-8 sichtbar. Bei der 8 α -Methylverbindung (**36**) trat das Signal bei 21,31 ppm auf, während es bei dem entsprechenden 8 β -Methylprodukt (**41**) tieffeldverschoben bei 28,26 ppm zu sehen war. Die Konfiguration der 8-Methylfunktion hatte aber auch Auswirkung auf die Verschiebung der umliegenden Atome. Besonders markant war die Hochfeldverschiebung des ^1H -Signals der 13-Methylgruppe von 1,20 ppm bei der α -Verbindung zu 1,10 ppm bei dem β -Produkt im Protonenspektrum. Im Vergleich zu der nichtmethylierten Substanz, dem Alkylierungsprodukt (**35**) (hier $\delta = 1,00$ ppm für die 13-Methylgruppe) erschien das Signal bei beiden methylierten Substanzen bei tiefem Feld. Ein weiterer Beweis für die Methylierung in Position 8 und der damit verbundenen Doppelbindungsverschiebung von $\Delta^{8(14)}$ nach $\Delta^{14(15)}$ war die Tieffeldverschiebung der Protonensignale am C-15 auf 5,45 bei Produkt (**36**) bzw. 5,41 ppm bei (**41**) in den vinylischen Bereich.

Die Frequenz der Carbonylschwingung (1656 cm^{-1}) im Edukt war in den methylierten Verbindungen (**36**) und (**41**) nach tiefen Frequenzen (1705 cm^{-1}) verschoben, was typisch für dekonjugierte Ketone ist. Dieselbe Verschiebung des $\text{C}=\text{O}$ -Signals wurde auch beim dialkylierten Wiechert-Keton (**40**) beobachtet (Abb. 44). Dies beweist, dass in beiden C-methylierten Verbindungen (**36**) und (**41**) und der dialkylierten Substanz (**40**) die jeweilige Doppelbindung in den D-Ring verschoben ist und somit das Dienolat (**35a**) als reaktives Intermediat durchlaufen werden musste.

Wiechert-Keton (**34**)Alkyl. Wiechert-Keton (**35**)Dialkyl. Wiechert-Keton (**40**) 8α -Methyl-Secoprodukt (**36**)17 β tert.-Butoxy-8 α -methyl-
14 α ,15 α -secoepoxid (**53**)17 β Hydroxy-8 α -methyl-
14 α ,15 α -secoepoxid (**54**)Abb. 44: IR-Spektren von (**34**), (**35**), (**36**), (**40**), (**53**), und (**54**) in CHCl_3 -Lösung

Das O-methylierte Produkt (**42**) zeigte im Protonenspektrum zwei Methoxygruppierungen und eine deutliche Tieffeldverschiebung des vinylicischen Protons am C-15 zu 6,85 ppm, was auf konjugierte Doppelbindungen schließen ließ. Der Nachweis der Doppelbindungssignals im ^{13}C -Spektrum bei 148,1 ppm sowie die fehlende Carbonylbande im IR-Spektrum sind ein Beleg für die vorgeschlagene Struktur.

Neben der bereits erwähnten Eintopfreaktion wurden drei weitere Methylierungsvarianten getestet.

Experimentell geprüft wurden

- KtB und Methyljodid in DMF bei RT, -20°C und -60°C ,
- KtB und MeI in tert.-Butylmethylether bei RT und
- 60 %-ige NaH-Ölsuspension und MeI in Glyme ($60-65^\circ$); Zugabe des Methyljodids bei RT.

Es wurde jeweils mit äquivalenten Mengen an Base und einem Überschuss an Methyljodid gearbeitet.

Durch den Wechsel des Lösungsmittels zu tert.-Butylmethylether wurde die Selektivität erhöht. Es wurde ausschließlich das 8α -Methylprodukt (**36**) erhalten, wobei Ausbeuten von 60-65% erzielt wurden. Neben der 8α -Methylverbindung konnten geringe Mengen eines dimethylierten Produktes mittels DC-MS nachgewiesen werden. Es handelte sich um das $8\alpha,11\xi$ -Dimethyl-Secoproduct, wobei keine Angaben zur Konfiguration der 11-Methylgruppe aufgrund zu geringer Substanzmengen getroffen werden können.

Die Methylierung unter Verwendung der NaH-Ölsuspension verlief ebenfalls selektiv. Dabei wurde das Dienolat in Glyme bei $60-65^\circ\text{C}$ erzeugt und zu der auf ca. 30°C abgekühlten Lösung das Methyljodid hinzugefügt.

Folgerung

Die Deprotonierung des konjugierten Enons (**35**) zum Dienolat erfolgte leichter als die beim Wiechert-Keton (**34**). Bestätigt wurde dies mittels molekülmechanischer Berechnungen (3D-Optimierung mit Alchemy 2000), nach denen das Dienolat (**35a**) als auch das daraus herstellbare dekonjugierte Enon energetisch begünstigt werden.

Aus diesem Grund gelang die Deprotonierung zum Dienolat mit KtB auch schon bei Raumtemperatur. In Glyme, tert.-Butylmethylether und auch in tert.-Butanol ist das Dienolat stabil

und lässt sich selektiv α -ständig am C-8 methylieren. DMF ist als Lösungsmittel für die Methylierung nur bedingt geeignet, weil es selber zersetzt wird. Mit NaH-Ölsuspension in Glyme bei 60-65°C ist das Dienolat (**35a**) ebenfalls gewinnbar und nach Abkühlung wird es in guten Ausbeuten methyliert. Die auf diesem Weg hergestellten Verbindungen (**36**), (**41**) und (**42**) sind neu.

2.3.2.2.4 Ringschlussreaktion – Stufe f)

Während einfache Ketone mit Benzenkohlenwasserstoffen in Gegenwart organischer Säuren, Friedel-Crafts- oder Lewis-Säure-Katalysatoren nur eine geringfügige Neigung zu Ringschlussreaktionen zeigen, beobachtet man bei aktivierten Ketonen oder solchen, die intramolekular reagieren können, derartige Umsetzungen häufiger. Solche Reaktionen werden genutzt, um beispielsweise C-C-Knüpfungen zwischen einem Keton und einem aromatischen Kohlenwasserstoff oder α,β - bzw. α,β,γ -ungesättigten Ketonen, Aldehyden, Estern oder Nitrilen zu realisieren [Pechmann; Sonnie, 1956]. Ananchenko und Torgov [Gaidanovich, 1964] nutzten diese Synthesevariante, um anellierte Ringsysteme bei Steroiden aufzubauen.

Prinzipiell stellt diese klassische Synthesevariante über das 9,10-Secolon [Apsimon, 1984; Taub, 1984] für den Synthetiker kein Problem dar, wenn nicht noch andere Faktoren wie z.B. zusätzliche funktionelle Gruppierungen eine Rolle spielen.

Entsprechend der geplanten Synthese (Abb. 37) sollte der Ringschluss des Secoproduktes (**36**) mit einer starken organischen Säure, wasserfreier p-Toluolsulfonsäure oder einer Lewis-Säure durchgeführt werden. Bei diesem Syntheseschritt musste auf Grund der sauren Bedingungen mit einer Abspaltung des tert.-Butylrestes gerechnet werden. Die für die weitere Funktionalisierung des Grundbausteins erforderlichen Substituenten, d.h. zur Einführung der pharmakophoren Gruppen der Fusidinsäure, sollten nicht beeinträchtigt werden.

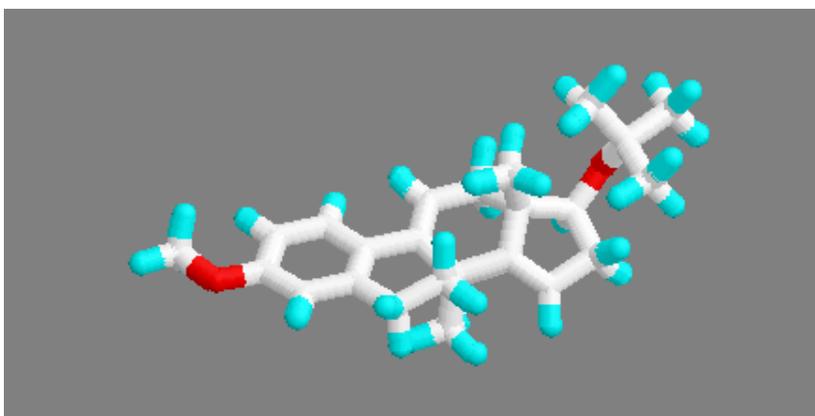


Abb. 45: Zielmolekül (**44**) des Ringschlusses (3D-Optimierung mit Alchemy 2000)

Durchführung und Ergebnisse

Für die Ringschlussreaktion wurde wasserfreie p-TsOH in absolutem Toluol verwendet. Diese Mischung wurde aus der handelsüblichen wasserhaltigen p-Toluolsulfonsäure als Suspension in Toluol unter azeotroper Destillation des Wassers am Rotationsverdampfer dargestellt. Das in alten Originalvorschriften verwendete kanzerogene Benzen wurde durch Toluol ersetzt.

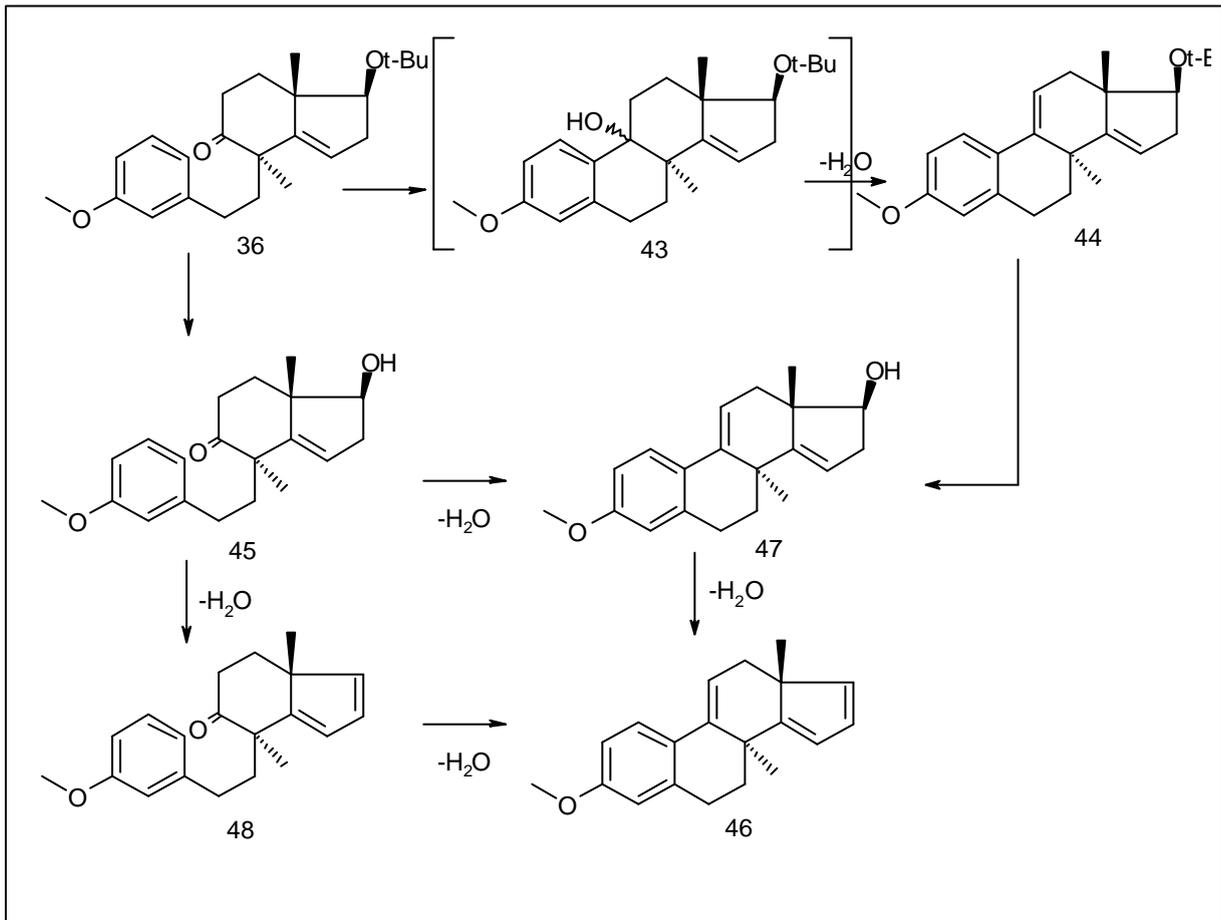


Abb. 46: Ringschlussreaktion und daraus resultierende Produkte

Bei einer Reaktionstemperatur von 80°C wurde bereits nach kurzer Zeit im Dünnschichtchromatogramm die Bildung polarer Produkte beobachtet. Primär wurde ein polares Produkt (**45**) mit einem R_f -Wert von 0,048 ($T : EE = 7 : 1$) und m/z 314 ($[M+H]^+$); ESI-MS) nachgewiesen, das im FTIR eine Carbonylbande bei 1709 cm^{-1} zeigte. Durch NMR-Untersuchungen konnte bewiesen werden, dass es sich um den Alkohol (**45**) handelt, der durch die saure Spaltung des tert.-Butylethers (**36**) entsteht. Das 9(11)-Ringschlussprodukt (**44**) wurde nicht isoliert oder nachgewiesen.

Der Alkohol (**45**) wandelte sich beim weiteren Erwärmen in ein unpolares Produktgemisch mit dem R_f -Wert von 0,18 ($T : EE = 7 : 1$) um. Dabei handelt es sich um das Ringschlussprodukt (**47**) und um das Secoprodukt (**48**), das eine 14,16-Dien-Struktur und wie (**47**) und eine Masse von m/z 296 (ESI-MS: m/Z 297 $[M+H]^+$) aufwies. Das Dien (**48**) sollte folglich aus dem Alkohol (**45**) hervorgegangen sein (Abb. 46). Es konnte jedoch nicht in reiner Form isoliert werden.

Der Alkohol (**47**) konnte durch präparative Dünnschichtchromatographie aufgereinigt und mittels NMR-Spektroskopie untersucht werden. Die Molmasse ($M = 296$ g/mol) wurde mittels hochauflösender Massenspektrometrie bestimmt und im IR-Spektrum die OH-Funktion bestätigt.

Wurde das Reaktionsgemisch nach Bildung der Produkte (**47**) und (**48**) bei 80°C weiter unter Rückfluss erhitzt, so bildete sich ein unpolares Produkt mit dem R_f -Wert 0,75 ($T : EE = 7 : 1$), in dem weder Carbonyl-, OH- noch eine tert.-Butoxygruppe vorhanden waren. Dieses Produkt (**46**) wurde bisher nur in Kleinstmengen isoliert. Begründet werden kann dies dadurch, dass die Umsetzungen in der Regel vorzeitig abgebrochen wurden und der Schwerpunkt auf den Produkten (**47**) bzw. (**44**) lag. Des Weiteren waren die Ansatzgrößen limitiert. Mit Hilfe von ESI-MS wurde für (**46**) ein m/z 279 ($[M+H]^+$) der entsprechende m/z 301 ($[M+Na]^+$) und m/z 317 ($[M+K]^+$) ermittelt. Aus den ^1H -, ^{13}C -NMR-Daten, für eine komplette Analytik war zu wenig Substanz vorhanden, konnten Rückschlüsse auf das Vorhandensein von 3CH_2 -, 2CH_3 - und einer Methoxygruppe sowie des Aromaten und vinyli-scher Protonen gezogen werden. Im NMR- als auch im IR-Spektrum wurden keinerlei Hinweise auf eine Carbonyl- und/oder eine Hydroxylfunktion gefunden.

Folgerung

Um die Selektivität der Reaktion weiter zu erhöhen und alle Produkte zu identifizieren sind noch weitere Untersuchungen notwendig. Die durchgeführten Versuche zeigen aber, dass der tert.-Butylether bei (**36**) in Gegenwart von p -TsOH in Toluol bei erhöhter Temperatur leicht abgespalten wird. Mit fortschreitender Reaktion wird auch die sekundäre 17-OH-Gruppe eliminiert. Durch Herabsetzen der Reaktionstemperatur, Variation der Säure (z.B. $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, CF_3COOH , HCl , AcOH), Verminderung der Säurekonzentration, Veränderung des Lösungsmittels sowie den Zusatz von Lösungsmitteln (z.B. tert.-Butanol, Isopropanol) sollte eine gezielte Umsetzung unter Erhalt der 17-Hydroxygruppe möglich sein.

2.3.2.2.5 Alternativer Weg zur Synthese von (55) ausgehend vom 8,13-Dimethyl-9-oxo-9,10-seco-gona-1,3,5(10),14-tetraen

Für die Funktionalisierung, d.h. die Einführung pharmakophorer Merkmale der Fusidinsäure werden an den aufzubauenden Grundbaustein einige wesentliche Voraussetzungen geknüpft. Dazu gehören die Sauerstofffunktionen in Position 15 und 17 genauso wie die Doppelbindung in 9(11)-Stellung (in Abb. 47 durch Pfeile gekennzeichnet). Erstere sind notwendig, um die Substitution in 16-Stellung sowie den Seitenkettenaufbau und letztere um die Einführung eines Substituenten in Position 11 zu gewährleisten.

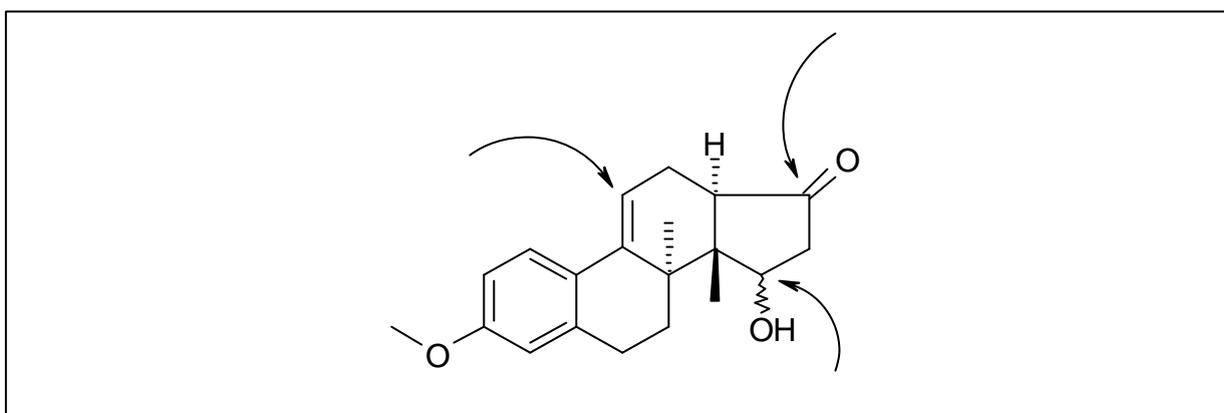


Abb. 47: Grundbaustein (55) für die Synthese Fusidinsäureanaloge

Bei der Behandlung des Secoproduktes (36) mit p-TsOH wurde im Verlauf der Ringschlussreaktion festgestellt, dass die 17-Sauerstofffunktion relativ leicht abgespalten wird. Diese Sauerstoffgruppierung wird aber unter anderem für die Lenkung der Gerüst-Umlagerung benötigt. Aus diesem Grund wurde versucht, die ursprünglich konzipierte Reaktionssequenz (Abb. 37) zu verändern, d.h. die Epoxidierung vorzuziehen und die Umlagerungsreaktion und Ringverknüpfung in einem Schritt (Eintopfreaktion) oder separat nacheinander durchzuführen.

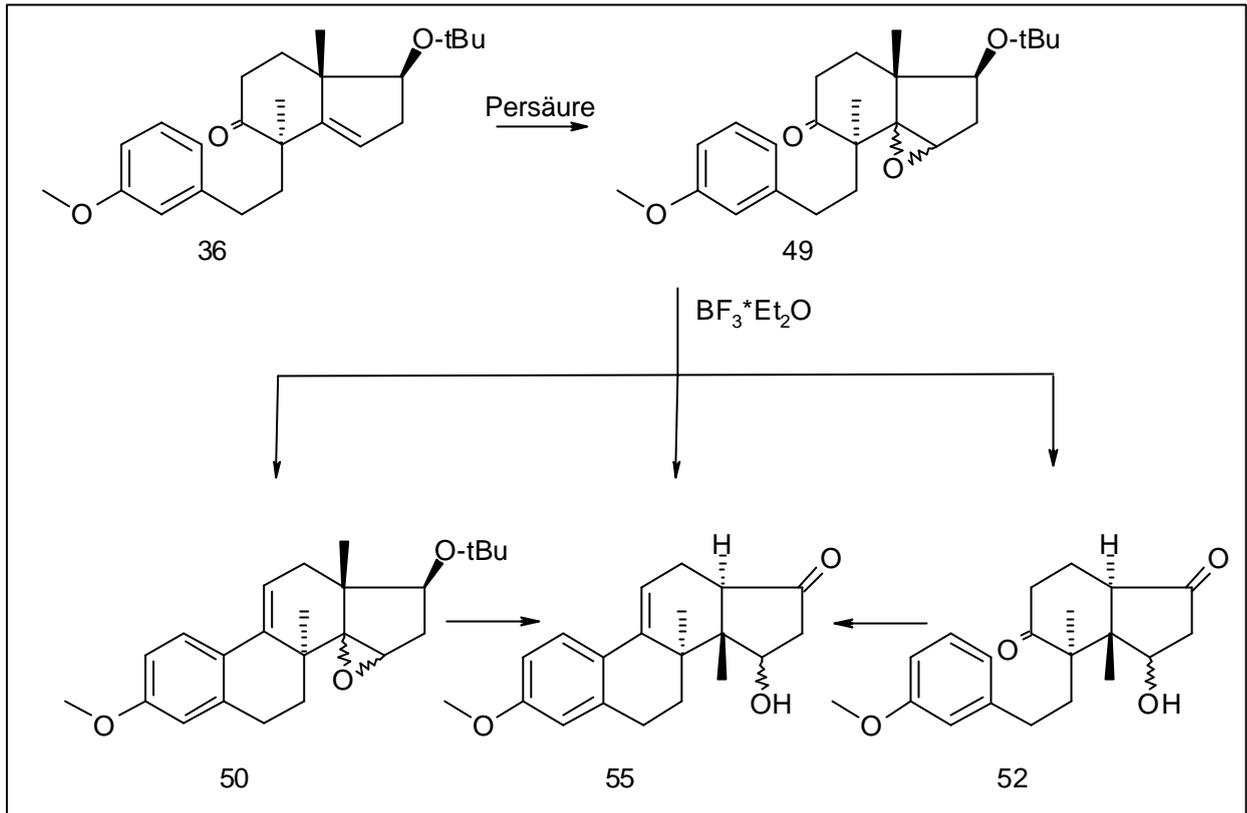


Abb. 48: Alternativer Synthesevorschlag für den Grundbaustein

Abbildung 48 stellt den idealisierten Zustand dar. Danach war vorgesehen, das Epoxyprodukt (49) herzustellen und dieses mittels Säure entweder direkt oder aber schrittweise über (50) bzw. (52) zum Gonatetraen (55) umzusetzen.

Bei den Modelluntersuchungen zur Öffnung diverser 14,15-Epoxide wurden 15-Ketoverbindungen aber auch Eliminierungsprodukte, z.B. 17- und 15-Desoxyverbindungen beobachtet, Verbindungstypen, mit denen auch bei der Behandlung des Secoepoxids (49) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in Toluol zu rechnen war.

Durchführung und Ergebnisse

Die Epoxidierung wurde in Analogie zu den 14,15-Epoxiden der 13 β -Methyl-gona-1,3,5(10)-trienreihe mit *m*-Chlorperbenzoesäure in Methylenchlorid durchgeführt. Durch Herabsetzen der Temperatur auf 0°C konnte die hydrolytische Spaltung des 17 β -tert.-Buthylethers verlangsamt werden. Die Umsetzung ausgehend von (36) erfolgte im Vergleich zu den Δ^{14} -Steroiden bemerkenswert langsam. Bei einem fünffachen Überschuss an Persäure war die Reaktion erst nach ca. 16 h abgeschlossen. Das gebildete Produkt (53) war mit einem R_f -Wert von 0,58 (T : EE = 7 : 1) geringfügig polarer als das Edukt. Bei einer Ver-

größerung der Ansätze auf über 50 mg wurde unter dem Einfluss der Säure die tert.-Butylgruppe abgespalten und es entstand der Epoxyalkohol (**54**) mit einem R_f -Wert von 0,42 (Abb. 49).

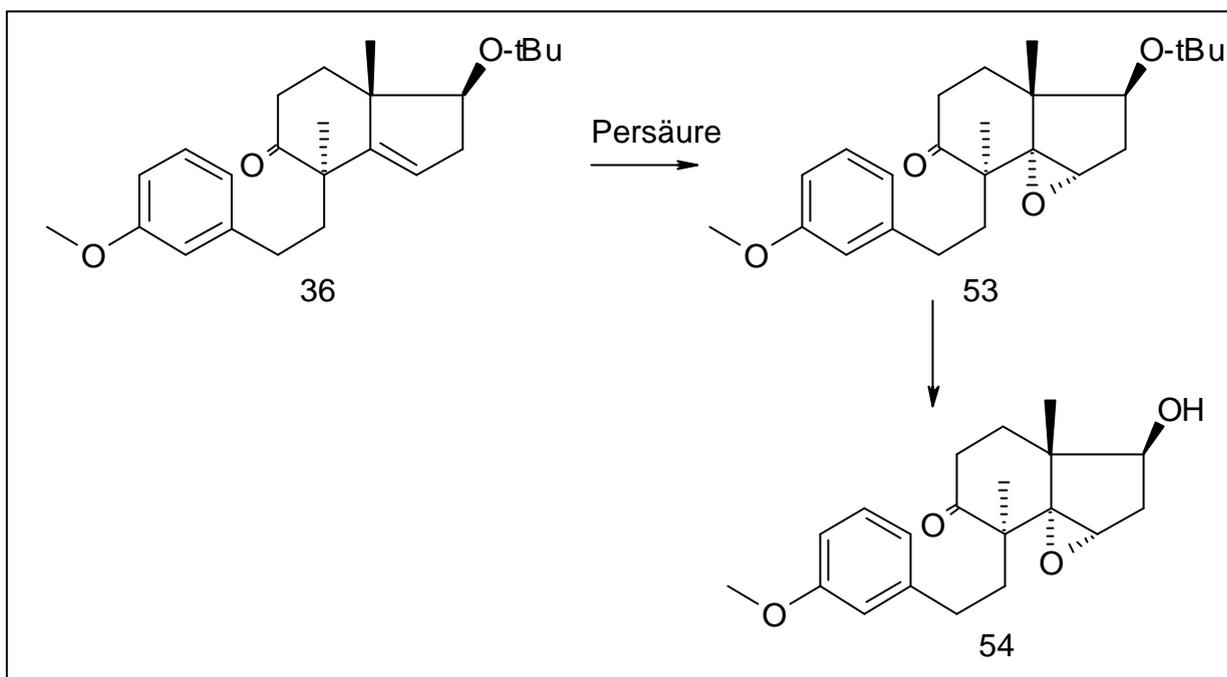


Abb. 49: Produkte der Epoxidierung

Sowohl das Epoxid (**53**) als auch der Epoxyalkohol (**54**) wurden als einheitliche Substanzen erhalten. Das bedeutet, dass die Epoxidierung des tert.-Butylethers (**36**) stereospezifisch verläuft. Die Ursache ist in der abschirmenden Wirkung der 13β -Methylgruppe und dem β -ständigen 8-(3-Methoxy-phenyl)ethyl-Rest zu sehen, die einen Angriff der Persäure von der β -Seite verhindern (Abb. 50). In einem separaten Schritt konnte das Epoxidierungsprodukt (**53**) mit *m*-Chlorperbenzoesäure bzw. *m*-Chlorbenzoesäure in Methylenchlorid in den Epoxyalkohol (**54**) überführt werden. Die bei der direkten Epoxidierung von (**36**) und der hydrolytischen Spaltung von (**53**) erhaltenen Epoxide waren identisch.

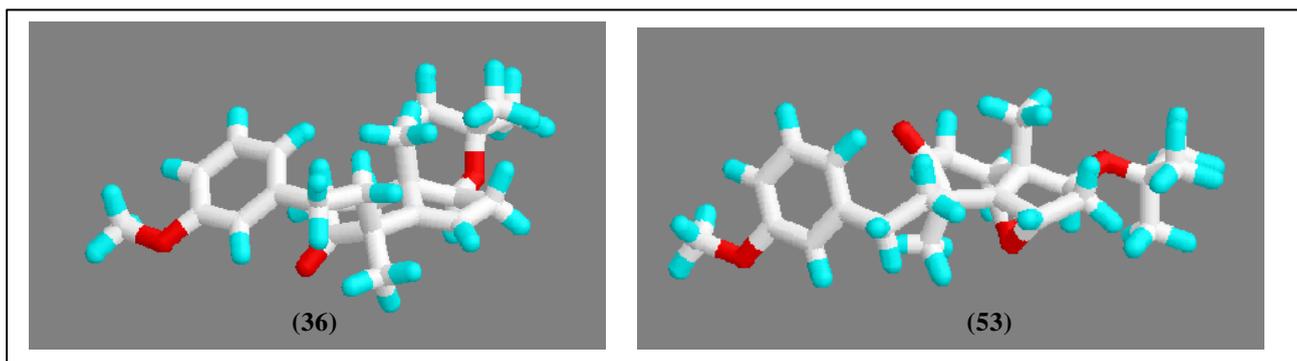


Abb. 50: Darstellung des abschirmenden Effektes der β -ständigen Substituenten am C-8 und am C-13 (3D-Optimierung von (36) und (53) nach Alchemy 2000)

Die Ermittlung der Konfiguration der Epoxide (53) und (54) war mit Hilfe der NMR-Spektroskopie (NOESY) nicht eindeutig. Die beobachteten Kopplungen lassen keine exakten Aussagen über die absolute Konfiguration des 14,15-Oxiranringes zu. So wurden ebenso NOE-Signale für ein β -Epoxid, wie für die entsprechende α -Verbindung identifiziert. Eine Kopplung war zwischen den Protonen der 8α -Methylgruppe und dem H-15 zu erkennen. Des Weiteren, war kein NOE zwischen der 13β -Methylgruppe und H-15 zu beobachtet. Letzteres ließe auf ein β -Epoxid schließen. Die charakteristische Kopplung zwischen dem H-16 β und dem H-15 und das fehlende NOE-Signal zwischen dem H-12 α und dem H-15 deuten auf das entsprechende Seco- α -epoxid hin. Dieser Sachverhalt weist auf die Flexibilität des Moleküls in Lösung hin, die sich in der Temperaturabhängigkeit der NMR-Spektren widerspiegelt. Die durch die geringen Energiebarrieren zustande kommenden Konformationsänderungen wie z.B. Ringinversionen am C-Ring bedingen eine Änderung der axialen Stellung der 8α -Methylgruppe in die äquatoriale Position (Abb. 51). In dieser sind andere NOE-Kopplungen möglich. Um diesen Prozess der Strukturodynamik (Phänomen der fluktuierenden Strukturen) verringern zu können und somit eine eindeutige Zuordnung einer fixierten Konformation zu ermöglichen, wären Tieftemperatur-NMR-Messungen geeignet.

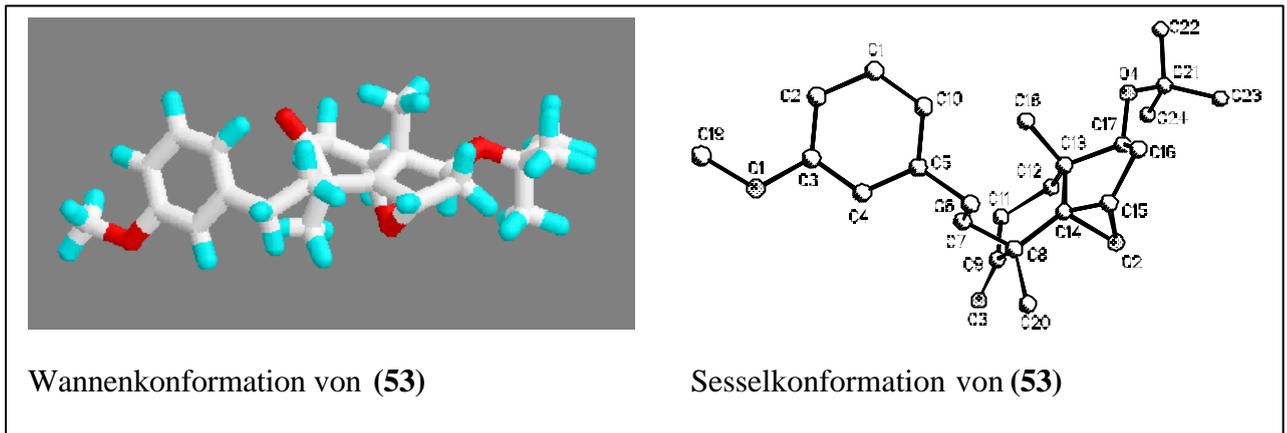


Abb. 51: Ringinversion am C-Ring bei (53) (3D-Optimierung nach Alchemy 2000) und Röntgenkristallstruktur

Die exakte Struktur lieferte die Röntgenkristallstrukturanalyse (Abb. 52). Sie beweist eindeutig, dass die beiden Methylgruppen am C-8 und am C-13 (im Bild C18) sich nicht auf der gleichen Seite des Moleküls befinden. Ebenso wird die β -Ständigkeit der tert.-Butoxy- und die α -Konfiguration der Epoxygruppierung dokumentiert. Sehr deutlich ist die Sesselkonformation des C-Ringes und die daraus resultierende äquatoriale Lage der $\delta\alpha$ -Methylgruppe zu erkennen.

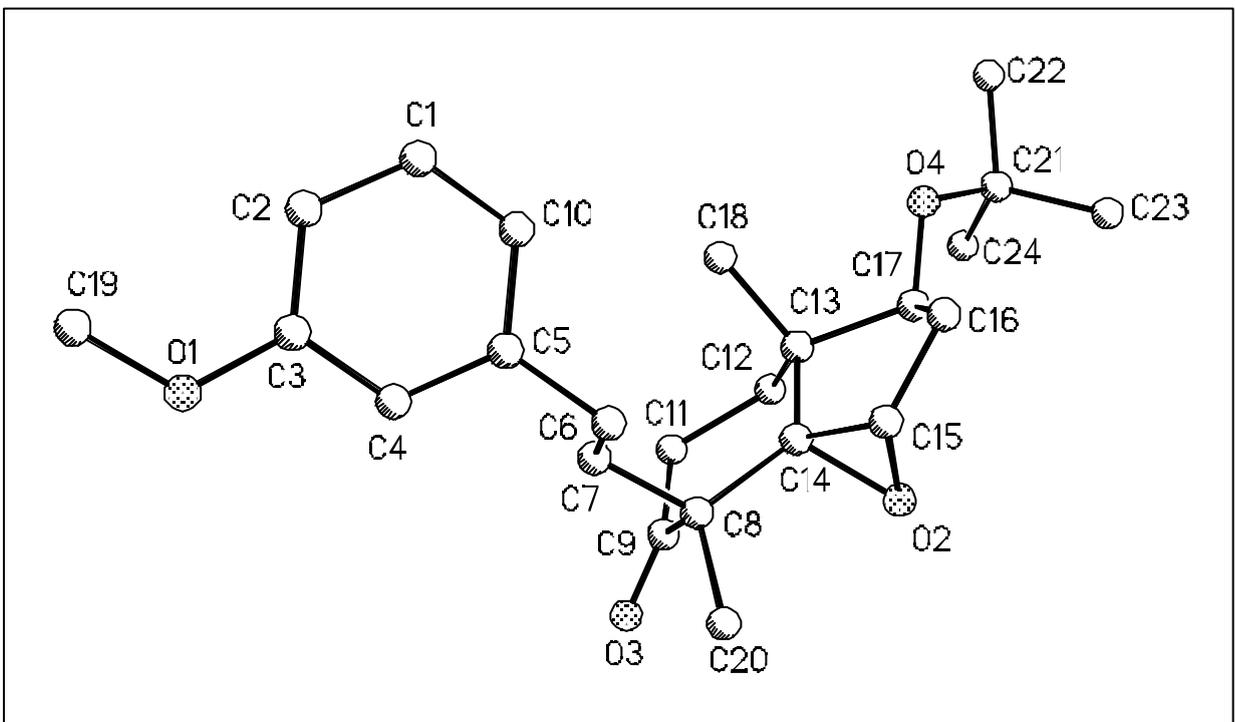


Abb. 52: Kristallstruktur des Epoxids (53)

Auffällig ist die Streckung des Moleküls, die durch die Flexibilität der Ethylenbrücke bedingt wird. Im Kristall sind A und C, D-Ring maximal voneinander entfernt. Das trifft auch im Kristallzustand auf die Carbonylgruppe zu, die sich vom Reaktionszentrum C-10 für die Aldolkondensation relativ weit weg befindet (Abb. 51, 52). Die Kristallstruktur ist aber nicht mit der Konformation in Lösung oder im Reaktionsansatz vergleichbar wie die NOE-Spektren gezeigt haben. Demzufolge können daraus keine Schlussfolgerungen zur Reaktivität abgeleitet werden. Bedingt durch die freie Drehbarkeit um die Ethylenachse kann sich in Lösung eine optimale Konformation einstellen, die den Ringschluss begünstigt.

Schlussfolgerung

Bemerkenswerterweise verläuft die Epoxidierung des Secoproduktes stereospezifisch. Die 1,2-Wechselwirkungen der 13β -Methylgruppe und des 8β -(3-Methoxyphenylethyl)-Substituenten im Edukt (**36**) verhindern einen β -seitigen Angriff der Persäure, so dass ausschließlich das α -Epoxid entsteht. Die 8α -Methylgruppierung beeinflusst den stereochemischen Verlauf dieser Reaktion nicht signifikant. Aufgrund der sterischen Hinderung verläuft die ansonsten schnelle Epoxidierung extrem langsam.

Eine Nachbargruppenbeteiligung, wie sie bei der Epoxidierung der 17-Hydroxy- Δ^{14} -Steroiden beobachtet wurde und dort die Umsetzung beschleunigte, wurde bei der Reaktion des Secoproduktes (**36**) mit Persäure nicht beobachtet.

Das β -Epoxid kann in hoher Reinheit in kristalliner Form bereitgestellt werden. Dieser alternative Weg über die Stufe des Secoepoxids könnte gegenüber dem ursprünglichen Synthesekonzept den Vorteil aufweisen, dass einerseits zwei Reaktionen (Ringschluss und Wagner-Meerwein-Umlagerung) in einem Schritt durchgeführt werden können und andererseits das Problem der selektiven Epoxidierung des 9(11),14(15)-Diens (**37** bzw. **47**) nicht zusätzlich gelöst werden muss.

2.3.2.2.6 Epoxidöffnung des Secoepoxids mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Die Öffnung des Secoepoxids (**53**) wurde in Analogie zu den 14,15-Epoxiden der 13β -Methyl-gona-1,3,5(10)-trien-Reihe in Toluol bei 0°C mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ durchgeführt. Bei diesen Epoxidöffnungen in der Gona-(1,3,5)-trien-Reihe (siehe Kapitel 2.3.1.1) war das erwünschte Wagner-Meerwein-Umlagerungsprodukt 15α -Hydroxy- 13α -H-17-keto-3-methoxy-

14 β -methyl-gona-1,3,5(10)-triens (**28**) lediglich bei der Umsetzung des 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxids (**9**) zu beobachten. Daraus wurde geschlussfolgert, dass nur bei der Öffnung der 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxide eine Methylgruppenwanderung im Sinne einer Wagner-Meerwein-Umlagerung stattfinden kann (Abb. 17, 23).

Dies steht auch im Einklang mit den von Dauben et al. beim Aufbau des Fusidangrundgerüsts über 14,15-Epoxide erzielten Ergebnisse. Obwohl die Autoren keine Angaben zur Konfiguration der eingesetzten Epoxide machen, kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei dem Edukt um ein einheitliches α -Epoxid handelt.

Das 14 α ,15 α -Secoepoxid (**53**) sollte aufgrund vergleichbarer sterischer Voraussetzungen im C- und D-Ring ebenfalls für diese Umlagerung geeignet sein, wie aus den Modelluntersuchungen und den Versuchen von Dauben et al. hervorgeht. Begünstigt werden sollte diese Reaktion bei (**53**) auch deshalb, da die zusätzliche 8 α -Methylgruppe die Bildung von 8(9)-Olefinen wie bei Dauben [Dauben, 1972] unterbindet.

Bei der Reaktion des Secoepoxids (**54**) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ war innerhalb kürzester Zeit kein Edukt mehr vorhanden, und es hatten sich mehrere polare Produkte, darunter zwei Hauptprodukte, gebildet (Abb. 53).

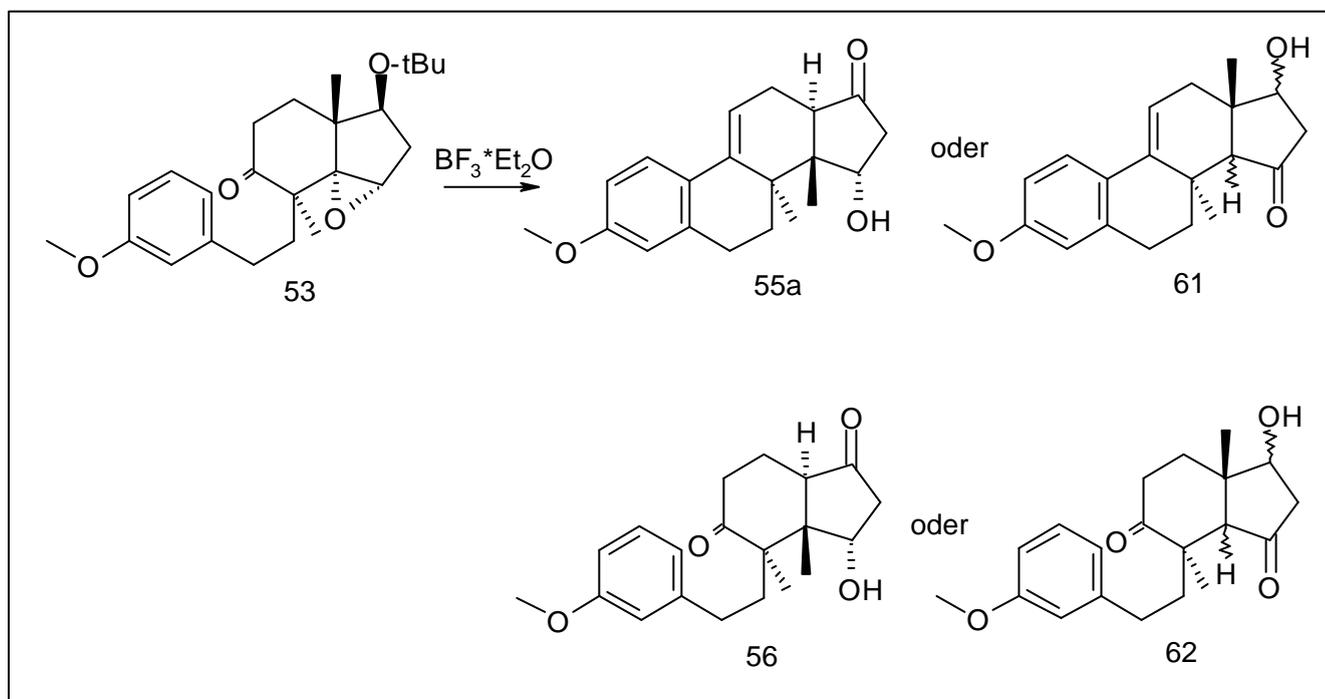


Abb. 53: Öffnung des Secoepoxids (**53**)

Im Protonenspektrum von **(55a)** (bzw. **(61)**) wurden eindeutige Hinweise auf das Vorhandensein der 9(11)-Doppelbindung gefunden. Die starke Verschiebung des aromatischen Protons am C-1 auf 7,5 ppm und des Vinylprotons am C-11 auf 6,2 ppm ist charakteristisch für ein Ringschlussprodukt vergleichbar **(47)**. Es handelt sich lediglich um erste Untersuchungen, mit Hinweisen zu einer erfolgten Aldolkondensation. Über die strukturelle Beschaffenheit des D-Ringes konnten noch keine exakten Aussagen getroffen werden.

Für die Substanzen **(56)** bzw. **(62)** müssen neben den durchgeführten IR- und MS-Untersuchungen auch noch weitere Strukturabsicherungen erfolgen.

Die Untersuchungen zur Ringschlussbildung und Epoxidöffnung können noch nicht als abgeschlossen gelten. Dazu sind größere Ansätze, die Isolierung der Reinsubstanzen und deren umfassende Strukturaufklärung erforderlich. Ebenso müssen noch das Epoxid des Aldolkondensationsprodukt **(47)**, das 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen-14 ξ ,15 ξ -epoxid synthetisiert, die Secoepoxide **(53)** und **(54)** kondensiert und entsprechend die Epoxide geöffnet werden. Die Bildung des $\Delta^{9(11)}$ -Produktes **(55a)** stellt aber einen deutlichen Hinweis dar, dass der eingeschlagene Weg erfolgsversprechend ist.

2.3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der mikrobiellen Transformation und der Synthesechemie

Im Rahmen dieser Dissertation, die sich in einen chemisch-biologischen und einen chemisch-synthetischen Teil untergliedert, wurden Untersuchungen zur bakteriellen Resistenz gegenüber dem Antibiotikum Fusidinsäure, hervorgerufen durch die von Schrempf et al. entdeckte Esterase Fus H sowie zur Totalsynthese eines triterpenoiden Grundkörpers nach dem Vorbild der Fusidinsäure, durchgeführt. Über Struktur-Wirkungsuntersuchungen konnte die Spezifität von Fus H für Fusidinsäure und fusidinsäureähnliche Substanzen (Tabelle 1) nachgewiesen und gleichzeitig die Arbeitshypothese bestätigt werden, dass diese besondere Art der Resistenz durch strukturelle Veränderungen am D-Ring der Fusidinsäure beeinflussbar ist.

Im Mittelpunkt dieses biologisch-chemischen Teils der Arbeit stand das Fusidinsäurelacton **(2)** als zentrales Metabolisierungsprodukt der Fusidinsäure **(1)**, welches aus **(1)** durch Biotransformation mittels Fus H in *Streptomyces lividans* gebildet wird. Es konnte nachgewiesen werden, dass Fus H in Gegenwart von Fusidinsäure auch bei anderen Streptomyces-Stämmen exprimiert wird und zu deren Metabolisierung beiträgt. Neben der Esterase Fus H sind auch andere Enzyme an der Biotransformation des Antibiotikums beteiligt. Dies wurde am Beispiel der fermentativen Umsetzung des Fusidinsäurelactons in *Streptomyces lividans* aufgezeigt.

Dabei wurden zwei Hauptmetabolite, das stabile 4-Hydroxymethylfusidinsäurelacton (**3**) und das relativ instabile Hydroperoxofusidinsäurelacton (**4**), isoliert und strukturell aufgeklärt.

Mit dem Ziel, neue fusidinsäureähnliche Strukturen mit konservierter antibiotischer Aktivität herzustellen, wurde ein weiteres Teilvorhaben, die Totalsynthese des Grundbausteins mit den anellierten Ringen der Fusidinsäure, weitgehend verwirklicht. Abweichend vom Fusidinsäuregrundgerüst wurde erstmals ein Grundbaustein mit aromatischen A-Ring synthetisiert und damit der Weg zu 19-Nor-Fusidanen geebnet.

Im Zusammenhang mit der geplanten Herstellung des 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (**55**) über 14,15-Epoxide wurde das Verhalten einfacher 14,15-Epoxide der 13 β -Methyl-gona-1,3,5(10)-trien-Reihe unter dem Einfluss von p-TsOH und BF₃·E₂O untersucht. Bei diesen Reaktionen mit Modellcharakter wurde das Reaktionsverhalten und die Lenkung der Epoxidöffnung unter dem Einfluss von nachbarständigen OH-Gruppen studiert, um gegebenenfalls Rückschlüsse auf Gerüstumlagerung im Sinne einer Wagner-Meerwein-Umlagerung ziehen zu können.

Auf diese Weise konnte nachgewiesen werden, dass neben den konventionellen Epoxidöffnungsprodukten, den 15-Keto (**15**) und 8(9)-Dehydro (**14**), auch überraschend neue Verbindungen, wie die 14 β -Fluorverbindung (**30**) aus dem 17 β -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxid (**10**), das erwartete Wagner-Meerwein-Produkt (**28**) aus dem 17 β -Hydroxy-14 α ,15 α -epoxid (**9**) und die Spiropentanoverbindung (**57**) aus dem 17 α -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxid (**12**) entstanden.

Ausgangspunkt für die Totalsynthese des triterpenoiden Grundgerüsts war ein chiraler Baustein, das Methylindenon, das so genannte Wiechert-Keton (**34**) (Abb. 37). Um eine selektive Alkylierung des Wiechert-Ketons mit dem Alkylsynthon, dem 2(3-Methoxyphenyl)-ethyltosylat (**33**) bzw. 2(3-Methoxyphenyl)-ethylbromid (**33a**) zu gewährleisten, musste das WK in das Dienolat (**34b**) überführt werden. Als geeignetes Deprotonierungsmittel erwies sich NaH-Ölsuspension in Glyme. Das Dienolat (**34b**) ließ sich regioselektiv zum 13 β -Methyl-9-oxo-9,10-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (**35**) alkylieren. Um diese Alkylierung zu optimieren, wurden die Reaktionsbedingungen umfassend variiert.

Die Einführung der 8-Methylgruppe gelang stereospezifisch von der wenig gehinderten α -Seite des 13 β -Methyl-9-oxo-9,10-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraens (**35**). Zu diesem Zweck wurde das 8(9),14(15)-Dienolat (**35a**) analog der Alkylierung des Wiechert-Ketons erzeugt und mit Methyljodid zum 13 β ,8 α -Dimethyl-9,10-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (**36**) umgesetzt. Eine Verknüpfung von beiden Alkylierungsschritten, der schrittweisen Umsetzung

des Wiechert-Ketons mit *m*-Methoxyphenylethyltosylat (**33**) und anschließend mit Methyljodid in einer Eintopfreaktion gelang nur unter hohen Ausbeuteverlusten und ist nicht zu empfehlen.

Mit der 8α -Methylgruppe in Verbindung (**35**) wurde ein für den Aufbau des Fusidangrundgerüsts wesentliches Strukturelement bezüglich der Verknüpfung der anellierten Ringe eingeführt.

Ausgehend vom 17β -tert.-Butoxy-3-methoxy- $13\beta,8\alpha$ -dimethyl-9-oxo-9,10-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (**36**) wurde der Ringschluss der Ringe A und B durch Aldolkondensation realisiert. Bei der Behandlung mit *p*-TsOH in Toluol wurde die tert.-Butylgruppe abgespalten bzw. inklusive der Sauerstofffunktion partiell eliminiert.

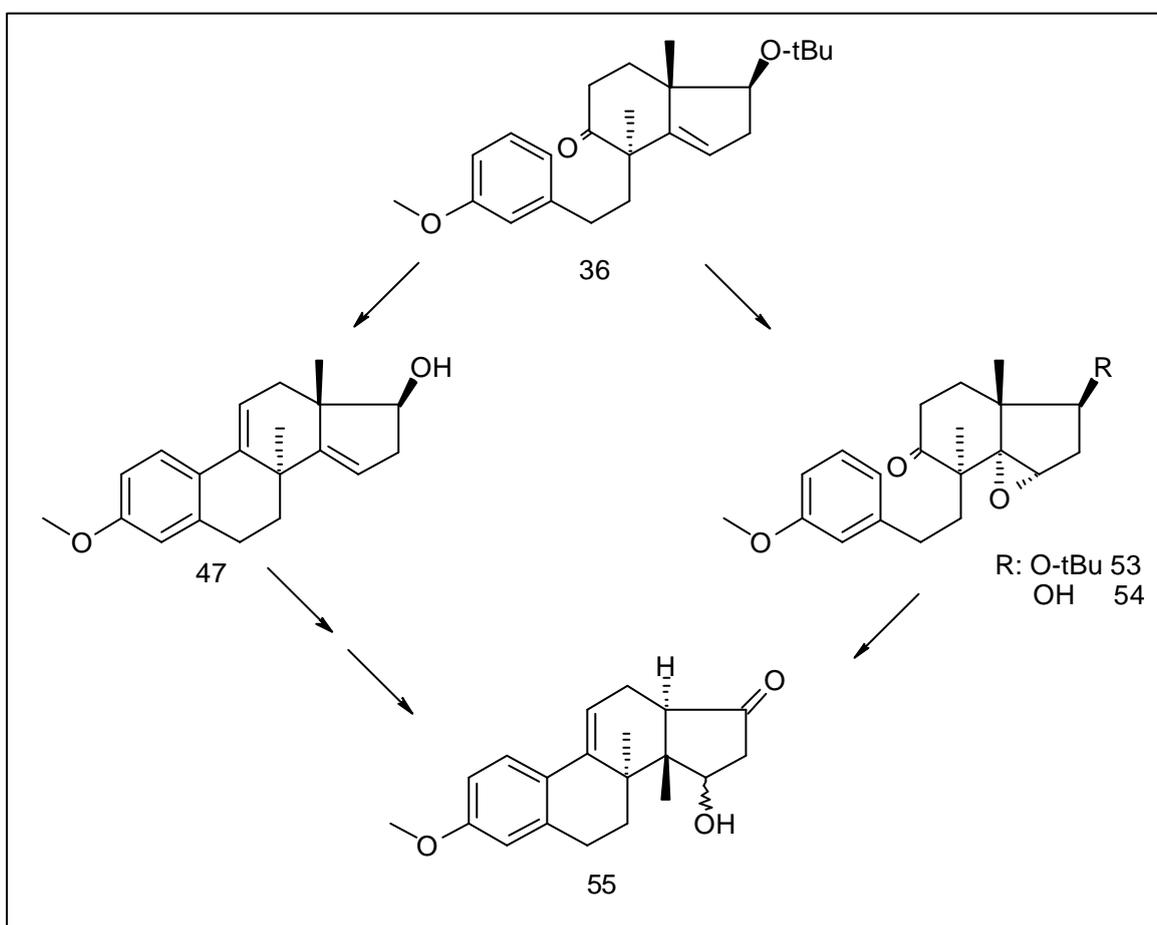


Abb. 54: Kurzüberblick zur geplanten und alternativ durchgeführten Synthese

Dies war ein Grund mehr, parallel zu diesen Umsetzungen ausgehend von (**36**) einen alternativen Weg über das $14\alpha,15\alpha$ -Secoepoxid (**53**, **54**) vorzuschlagen und somit einen Reaktionsschritt einzusparen. Dieser Weg erschien attraktiv, weil sich das Secopropagandane (**36**) mit *m*-Chlorperbenzoesäure selektiv in das $14\alpha,15\alpha$ -Epoxid überführen ließ. Bei der Behandlung

des Secoproduktes (**36**) mit Säuren wie p-TsOH oder der Lewissäure $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ wurde die tert.-Butylgruppe leicht abgespalten.

Die Untersuchungen zur Ringschlussbildung aus (**36**) mit p-TsOH zu (**47**) und der Epoxidierung und Ringverknüpfung von (**53, 54**) zu (**55a**) konnten noch nicht vollständig abgeschlossen. Fest steht, dass sowohl die Ringschlusskondensation als auch die Epoxidöffnung erfolgten. Die eindeutige Strukturaufklärung der Umlagerungsprodukte steht allerdings noch aus.

Die durch Öffnung der 17β -Hydroxy-14,15-epoxide erhaltenen Produkte (**30, 28**) können ebenfalls zur Synthese von Mimetika mit fusidinsäureähnlichen D-Ring herangezogen werden. Die vorliegenden neuen Synthesebausteine (**47, 53, 54 und 55a**) bieten alle Voraussetzungen, um die charakteristischen pharmakophoren Gruppen der Fusidinsäure einzuführen und zu neuen fusidinsäureähnlichen Verbindungen – Mimetika – zu gelangen.

3 Experimenteller Teil

3.1 Geräte und Materialien

3.1.1 NMR-Untersuchungen

Die 1D- und 2D-NMR-Spektren wurden mit den Geräten AVANCE DPX 300 bzw. AVANCE DRX 500 der Fa. Bruker aufgenommen. Als Lösungsmittel wurden in CDCl_3 verwendet. Als Referenzsignal diente in allen Fällen Tetramethylsilan (TMS) als Standard.

Die Fluor-Daten wurden an der Otto-von-Gericke-Universität Magdeburg von Frau Dr. Kerstin Ibrom mit dem Gerät DTX der Fa. Bruker aufgenommen. Als Lösungsmittel diente CDCl_3 und virtuell internes CFC_3 als Standard.

Bei der Auswertung der Substanzspektren wurde auf das Gonangrundgerüst zurückgehende Bezeichnung der Atome vorgenommen (siehe Abb. 55).

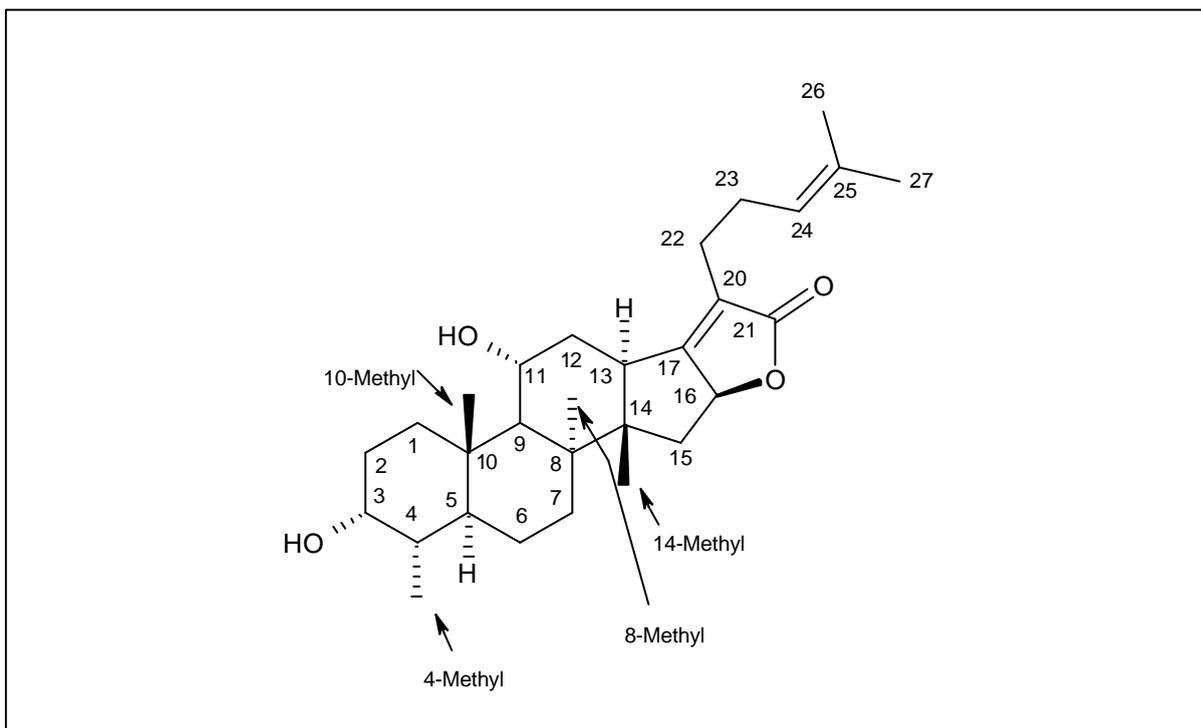


Abb. 55: Bezifferung der Atome der Terpengrundstruktur

3.1.2 IR-Untersuchungen

Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte mit dem FTIR-Spektrometer satelite FTIR der Fa. Mattson (Chicago, USA) ausgerüstet mit ATR-Zusatz und Küvetten. Es wurde entweder als Film (ATR) oder in Lösung gemessen. Dazu wurden KBr-Küvetten mit einer Schichtdicke von 0,550 mm und „Chloroform für die Spektroskopie“ der Fa. Merck als Lösungsmittel verwendet.

3.1.3 MS-Untersuchungen

Elektrospray-Massenspektren wurden mit einem Triple-Quadropol-Gerät Quattro (VG Biotech, Altmichem, England) durchgeführt.

Hochauflösenden Massenspektren wurden mit einem Sektorfeld-Massenspektrometer MAT 95 XL (Finnigan, Bremen) aufgenommen, das mit einer Elektronenstoßionisations- und FAB-Quelle ausgerüstet.

3.1.4 Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Heitzischmikroskop nach Boetius der Fa. Franz Küstner Nachf. KG Dresden ermittelt. Es handelt sich dabei um unkorrigierte Werte.

3.1.5 HPLC-Untersuchungen

Die präparative HPLC zur Aufreinigung der mikrobiellen Transformationsprodukte des Fusidinsäurelactons erfolgte an einer HPLC-Anlage der Fa. Jasco mit einer RP₁₈-Säule 5µm, 250x10mm (Jasco). Als Eluent wurde ein Gemisch aus Acetonitril : Wasser = 65 : 35 benutzt.

Die analytische HPLC wurde mit der gleichen Apparatur unter Verwendung einer RP₁₈-Select B-Säule der Firma Merck durchgeführt. Als Eluent wurde ein Acetonitril-Wasser-Gemisch 55 : 45 verwendet.

3.1.6 Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatogramme wurden ausschließlich Kieselgel 60-Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator 254 nm der Fa. Merck verwendet.

Die präparative DC wurde an DC-Platten mit Aufkonzentrierungszone (Schichtdicke 1 mm), bzw. ohne Aufkonzentrierungszone mit einer Schichtdicke von 2 mm der Fa. Merck durchgeführt.

3.1.7 Röntgenkristallstrukturanalyse

Die kristallographische Strukturbestimmung und die Messung der Reflexintensitäten erfolgte auf einem Nonius KappaCCD-Diffraktometer mit MoK α -Strahlung ($\lambda = 0.71069 \text{ \AA}$, Graphit-Monochromator) bei -90°C . Eine Lorentz- und Polarisationskorrektur wurde durchgeführt. Eine Absorptionskorrektur erfolgte nicht [COLLECT, 1998; Otwinowski, 1997]. Die Strukturen wurden mittels direkter Methoden gelöst (SHELXS [Sheldrick, 1990]), wodurch der größte Teil der Nichtwasserstoffatome lokalisiert wurde. Durch Differenzfouriersynthesen konnten die restlichen Nichtwasserstoffatome ermittelt werden. Das erhaltene vorläufige Strukturmodell wurde im Vollmatrix-LSQ-Verfahren anisotrop gegen F_o^2 verfeinert (SHELXL-97 [Sheldrick, 1993]). Die Wasserstoffatome wurden in geometrisch idealisierten Positionen berechnet und in die Verfeinerung mit dem 1,2- bis 1,5-fachen isotropen Temperaturfaktor des entsprechenden Nichtwasserstoffatom, an dem das H-Atom gebunden ist, einbezogen [Sheldrick, 1993]. XP (SIEMENS Analytical X-ray Instruments, Inc.) wurde für die Darstellung der Strukturen verwendet.

3.2 Lösungsmittel und Chemikalien

3.2.1 Trocknung der Lösungsmittel

- Toluol:**
- über Natrium ketyliert und unter Schutzgas unter Molsieb 4 A aufbewahrt
- Methylenchlorid:**
- über Molsieb 4 A getrocknet und inert aufbewahrt
- Dimethoxyethan:**
- 12h mit CaH gerührt und anschließend unter Luft- und Wasserausschluss destilliert [Organikum]
 - über Natrium ketyliert und unter Argon ohne Molsieb aufbewahrt
- THF:**
- über Natrium ketyliert und unter Schutzgas aufbewahrt
- Dioxan:**
- getrocknet und aufbewahrt laut Organikum [Organikum]
- Diethylether:**
- über Natrium ketyliert und unter Schutzgas aufbewahrt

- DMSO:** • 2h mit CaH gerührt und anschließend unter Schutzgas destilliert und aufbewahrt [Organikum]
- DMF:** • Organikum [Organikum]
- tert.-Butylmethylether:** • über Natrium ketyliert und unter Schutzgas aufbewahrt

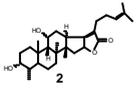
3.2.2 Trocknung der Chemikalien

- Tosylat (33); Bromid (33a):** • Restwasserentfernung durch Destillation mit Toluol, Trocknung im Feinvakuum und unter Argonatmosphäre gelagert
- Wiechert-Keton (34):** • im Feinvakuum getrocknet und trocken aufbewahrt
- 9(10)-Secogonanderivat (35):** • im Feinvakuum getrocknet und trocken gelagert
- 8-Methyl-9(10)-Secogonanderivat (36):** • im Feinvakuum getrocknet und inert gelagert

Alle weiteren Verbindungen wurden ebenfalls im Vakuum getrocknet und gegebenenfalls unter Schutzgasatmosphäre aufbewahrt.

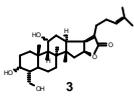
Die Basen (wie NaH, NaH-Ölsuspension, KtB) wurden, wenn möglich in Originalform verwendet und anschließend unter Inertgas und im Exsikkator verwahrt, um Zersetzungen zu vermeiden.

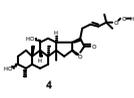
3.3 Physikochemische Eigenschaften der mikrobiellen Transformationsprodukte des Fusidinsäurelactons (2)

	Bezeichnung der C-Atome**															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] [*] in CDCl_3	1,50/ 2,22	1,74/ 1,83	3,70	1,55	2,10	1,64/ 1,10	1,14/ 1,64	-	1,47	-	4,35	2,08/ 1,84	3,50	-	2,25/ 1,23	4,92
Multipl.	m/m	m/m	s	m	m	m/m	m/m	-	s	-	s	m/m	d	-	mm	q
δ_{C} [ppm]	30,22	29,88	71,27	36,58	36,06	20,93	31,75	40,8	50,41	37,19	67,93	31,71	38,11	55,17	34,08	81,8
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	-	-	-	2,19/ 2,31	2,19	5,10	-	1,57	1,66	0,91	1,48	0,95	0,8			
Multipl.	-	-	-	m/m	m	t	-	s	s	d	s	s	s			
δ_{C} [ppm]	169,9	123,5	176,6	24,04	27,42	123,3	132,8	17,79	25,60	15,93	23,21	23,16	20,00			
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f			[α]				
	456 [M] 479 [M+Na] ⁺															

^{*}¹H-NMR Chemische Verschiebung geminale Protonen α oben; β unten

^{**}Die Nummerierung der Atome wurde nach der IUPAC-Nomenklatur bzw. den für Steroide international üblichen Konventionen vorgenommen (Abb. 55).

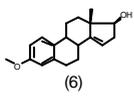
 3	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	1,55/ 2,33	1,71/ 1,87	4,18	1,49	2,57	1,82/ 1,22	1,22/ 1,69	-	1,53	-	4,40	2,11/ 1,89	3,53	-	2,3/ 1,25	4,95
Multipl.	m/m	m/m	s	m	m	m/m	m/m	-	s	-	s	m/m	d	-	mm	q
δ_{C} [ppm]	29,91	30,31	71,24	42,27	31,04	20,52	31,43	40,8	50,38	37,02	67,98	31,85	38,09	55,19	34,13	81,82
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₂	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	-	-	-	2,24/ 2,36	2,22	5,10	-	1,60	1,68	3,85	1,55	0,97	0,82			
Multipl.	-	-	-	m/m	m	t	-	s	s	s	s	s	s			
δ_{C} [ppm]	169,7	123,5	176,5	24,06	27,42	123,3	132,8	17,78	25,67	64,46	22,3	22,99	20,03			
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f				[α]			
3411 (OH); 1752, 1714, 1691 \rightarrow unges. Lacton		495 [M+Na] ⁺ 511 [M+K] ⁺							0,57 (CHCl ₃ /MeOH 1:9)							

 4	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	1,50/ 2,20	1,75/ 1,85	3,75	1,57	2,10	1,65/ 1,12	1,16/ 1,65	-	1,47	-	4,39	2,10/ 1,85	3,56	-	2,29/ 1,25	5,00
Multipl.	m/m	m/m	s	m	m	m/m	m/m	-	m	-	s	m/t	d	-	m/m	q
δ_{C} [ppm]	30,19	29,79	71,23	36,48	35,99	20,85	31,69	40,8	50,3	37,17	67,86	31,55	38,26	55,32	33,91	82,06
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	-	-	-	3,04	5,68	5,68	-	1,31	1,31	0,93	1,50	0,96	0,8			
Multipl.	-	-	-	m	m	m	-	s	s	d	s	s	s			
δ_{C} [ppm]	171,3	121,5	176,4	26,84	127,4	135,8	81,85	24,06	23,97	15,96	23,26	23,14	20,15			
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f				[α]			
		489 [M+H] ⁺ 511 [M+Na] ⁺ 999 [2M+Na] ⁺							0,51 (CHCl ₃ /MeOH 1:9)							

3.4 Vorschriften

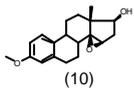
3.4.1 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen (**6**)

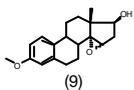
In 10ml Ethanol wurden 200mg (0,71mmol) 17-Keto-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen (**5**) gelöst und mit 30,3mg (0,8mmol) Natriumborhydrid 1,5h bei Raumtemperatur gerührt (Reaktionskontrolle mit DC T:EE=3:1). Zur Vernichtung des überschüssigen Natriumborhydrids wurde Aceton zugegeben und nochmals gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegeben, wobei der entstandene Steroidalkohol (**6**) ausfiel. Nach Abfiltration wurde aus Ethanol umkristallisiert und 171mg weißes 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen (**6**) (85%) erhalten.

				
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]	F _p [°C]	R _f	[α]
	285 [M+H] ⁺	112-113°C	0,80 (T:EE=3:1)	

3.4.2 Allgemeine Vorschrift zur Persäureepoxidation – 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (**10**) und 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (**9**)

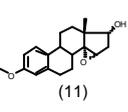
50mg (0,18mmol) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen (**6**) wurden bei Raumtemperatur in 2,5ml Methylenchlorid mit 35mg (0,2mmol) m-Chlorperbenzoesäure versetzt und 2h bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgter Umsetzung wurde das Gemisch mit Natriumthiosulfatlösung, gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und zuletzt mit Wasser versetzt, mehrmals mit Methylenchlorid extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet [Schubert, 1979]. Die Trennung des α/β -Epoxid-Gemisches erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel unter Verwendung von T:EE=3:1 als Elutionsmittel. Es wurden 23mg (43%) β -Epoxid (**10**) und 15mg (35%) α -Epoxid (**9**) erhalten.

 (10)	Bezeichnung der C-Atome																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,20	6,73	-	6,65	-	2,84	1,18/ 1,93	2,03	2,44	-	1,59/ 2,34	1,69/ 1,31	-	-	3,55	2,23/ 2,10	
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m/m	t	t	-	t/m	m/t	-	-	s	dd/d	
δ_{C} [ppm]	126,5	111,9	157,8	113,9	137,8	29,60	22,34	36,52	43,39	131,3	26,41	34,71	45,48	74,52	59,59	35,95	
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu	
δ_{H} [ppm]	3,52												1,16	3,78			
Multipl.	m												s	s			
δ_{C} [ppm]	77,78												13,42	55,21			
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]				R _f				[α]			
		323 [M+Na] ⁺				148 - 151				0,25 (T : EE = 3 : 1)							

 (9)	Bezeichnung der C-Atome																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,23	6,72	-	6,61	-	2,80	1,50	2,12	2,63	-	2,38/ 1,58	1,70/ 1,90	-	-	3,55	1,57/ 2,40	
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m	m	t	-	m/m	m/m	-	-	s	m/m	
δ_{C} [ppm]	126,6	111,7	157,6	113,8	137,9	29,30	22,08	35,96	40,44	132,3	26,49	33,11	41,65	72,51	57,81	34,52	
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu	
δ_{H} [ppm]	3,75												0,95	3,76			
Multipl.	m												s	s			
δ_{C} [ppm]	76,60												14,10	55,21			
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]				R _f				[α]			
		323 [M+Na] ⁺				174 - 178				0,34 (T : EE = 3 : 1)							

3.4.3 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (**11**) durch Sharpless-Epoxidierung

In 3ml Toluol wurden unter Inertbedingungen 50mg (0,18mmol) des Steroids (**7**) mit Vanadiumacetylacetonat und 32,8 μ l (0,26mmol) einer 80%-igen wässrigen tert.-Butylhydroperoxid-Lösung zusammengegeben und 1h bei Raumtemperatur gerührt [Künzer, 1995]. Die Dosierung des Vanadylacetylacetonates erfolgte in der Weise, dass die Reaktionslösung tiefrot gehalten wurde. Überschüssiges Peroxid wurde mit gesättigter Natriumthiosulfatlösung reduziert, das Steroid mit Toluol extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingengt. Das Rohprodukt wurde einer Säulenchromatographie an Kieselgel unterzogen (T:EE=5:1). Es konnten 52mg (95%) des gewünschten 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-(14 α ,15 α)-epoxid (**11**) erhalten werden.

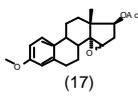
 (11)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,28	6,75	-	6,64	-	2,85	1,55	2,11	2,63	-	2,50/ 1,62	2,16/ 1,66	-	-	3,74	2,04/ 2,16
Multipl.	D	d	-	s	-	m	m	m	t	-	t/m	m/m	-	-	s	d/m
δ_C [ppm]	126,7	111,7	157,7	113,8	137,7	29,44	22,66	35,80	40,36	132,1	26,23	27,70	44,60	74,91	60,04	36,22
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17Oac	tBu
δ_H [ppm]	3,57												0,97	3,78		
Multipl.	dd												s	s		
δ_C [ppm]	77,22												20,61	55,22		
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f			[α]				
	323 [M+Na] ⁺					174 – 178			0,34 (T : EE = 3 : 1)							

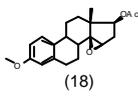
3.4.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Acetylierung – 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (**17**) und 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (**18**)

150mg (0,50mmol) des entsprechenden Epoxids (**9**, **10**) wurden in 3ml Pyridin gelöst und mit 1ml Essigsäureanhydrid über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde auf fein zerstoßenes Eis gegeben und der entstandene Niederschlag abfiltriert.

Es wurden 167mg (98%) reines 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (**17**) erhalten.

Die unvollständige Umsetzung des entsprechenden β -Epoxid (**10**) führte unter diesen Bedingungen zu einem Gemisch aus Produkt 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (**18**) und Edukt (**10**), dass mittels Flashchromatographie an Kieselgel unter Verwendung von T : EE = 5 : 1 aufgetrennt wurde. Es konnten 113mg (66%) des 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid (**18**) isoliert werden.

 (17)				
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]	F _p [°C]	R _f	[α]
	365 [M+Na] ⁺	121 – 126	0,53 (T : EE = 3 : 1)	

 (18)				
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]	F _p [°C]	R _f	[α]
	365 [M+Na] ⁺	175 – 178	0,4 (T : EE = 3:1)	

3.4.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Öffnung der Epoxide (9, 10, 11, 12, 17, 18) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

0,50 mmol des entsprechenden Epoxids (9, 10, 11, 12, 17, 18) wurden in ca. 3 ml trockenen Toluol gelöst, wenn notwendig temperiert (-10, 0, 20, 65°C), und mit 0,55 mmol $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ versetzt. Der Reaktionsverlauf wurde regelmäßig per DC kontrolliert. Nach vollständiger Umsetzung erfolgte die Hydrolyse des BF_3 -Komplexes mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung. Die wässrige Phase wurde erschöpfend mit Toluol extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte neutral gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernung der Lösungsmittel wurde ein fester Rückstand erhalten, der an Kieselgel säulenchromatographisch aufgereinigt wurde.

3.4.5.1 17b-Hydroxy- 3-methoxy-13b-methyl-gona-1,3,5(10)-trien-(14a,15a)-epoxid (9) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ – Produkte (25), (26), (27) und (28)

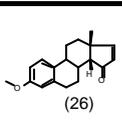
0,05 mmol dieses Epoxid (9) wurden analog der Vorschrift 3.3.5 bei -20 und 65°C sowie bei Raumtemperatur zur Umsetzung gebracht.

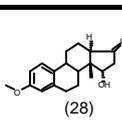
Bei -20°C und einer Reaktionszeit von 45 min wurde nur ein Produkt, das 17β-Hydroxy-15-keto-14β-H-3-methoxy-13β-methyl-gona-1,3,5(10)-trien (25), mit 59% Ausbeute erhalten.

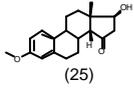
Die Öffnung bei RT innerhalb 1h ergab 2 Produkte das 17β,15α-Dihydroxy-3-methoxy-13β-methyl-14β-H-gona-1,3,5(10),8(9)-tetraen (27) mit 22% Ausbeute und 39% des 17β-Hydroxy-15-keto-3-methoxy-13β-methyl-gona-1,3,5(10)-triens (25). Säulenchromatographisch konnten diese beiden Produkte an Kieselgel mit einem Lösungsmittelgradienten von T : EE = 5 : 1 und T : EE = 3 : 1 aufgetrennt werden.

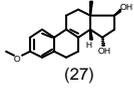
Bei der Epoxidöffnung in der Wärme (65°C) wurden nach ca. 1h 4 Produkte unter anderem auch das Wagner-Meerweinprodukt isoliert. Es konnten 15% des 15-Keto-14β-H-3-methoxy-13β-methyl-gona-1,3,5(10),16(17)-tetraens (26), 22% des 15α-Hydroxy-13α-H-17-keto-3-methoxy-14β-methyl-gona-1,3,5(10)-triens (28), 36% des 17β-Hydroxy-15-keto-14β-H-3-methoxy-13β-methyl-gona-1,3,5(10)-triens (25) und 33% des 17β,15α-Dihydroxy-3-methoxy-13β-methyl-gona-1,3,5(10),8(9)-tetraens (27) erhalten werden. Die Trennung des

Produktgemisches erfolgte mittels Flashchromatographie an Kieselgel mit T : EE = 10 : 1 als Elutionsmittel.

 (26)	Bezeichnung der C-Atome																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,08	6,70	-	6,61	-	2,81	2,21	1,97	2,44	-	2,36/ 2,00	1,54/ 1,88	-	2,24	-	6,05	
Multipl.	D	d	-	s	-	m	m	m	m	-	m/m	m/m	-	d	-	d	
δ_C [ppm]	127,8	112,0	157,3	113,3	138,0	30,67	27,59	38,35	36,25	132,9	26,36	35,62	45,25	57,92	210,1	132,0	
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17Oac	tBu	
δ_H [ppm]	7,54												1,26	3,77			
Multipl.	d												s	s			
δ_C [ppm]	172,1												25,26	55,21			
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]				R _f				[α]			
		305 [M+Na] ⁺				ölig				0,81 (T : EE = 3 : 1)							

 (28)	Bezeichnung der C-Atome																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,20	6,75	-	6,65	-	2,92	1,95	1,45	3,14	-	2,54/ 1,21	2,04/ 1,90	2,00	-	4,42	2,75/ 2,33	
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m	m	t	-	m/m	m/m	m	-	d	dd/d	
δ_C [ppm]	126,1	111,3	157,2	113,5	137,6	30,65	23,05	47,29	38,68	133,2	29,32	26,33	55,46	44,76	76,27	46,97	
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	14CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu	
δ_H [ppm]	-												1,03	3,78			
Multipl.	-												s	s			
δ_C [ppm]	220,4												27,18	54,99			
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]				R _f				[α]			
3610 (OH),1728 (C=O)		323 [M+Na] ⁺				186-195				0,31 (T : EE = 3:1)				67,55 (CHCl ₃)			

 (25)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,14	6,72	-	6,64	-	2,84	1,81/ 2,55	1,65	2,40	-	1,41/ 2,27	1,28/ 1,55	-	2,44	-	2,75
Multipl.	d	d	-	s	-	m	d/m	m	t	-	q/m	m/d	-	s	-	dd
δ_{C} [ppm]	126,9	111,8	157,4	113,7	138,5	31,04	26,68	37,13	38,58	131,8	27,67	33,29	44,03	55,57	217,9	45,8
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	3,96												1,25	3,77		
Multipl.	d												s	s		
δ_{C} [ppm]	74,39												18,76	55,18		
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f			[α]				
3610(OH); 1735 (C=O)		323 [M+Na] ⁺				117			0,33 (T : EE = 3:1)							

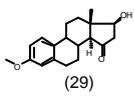
 (27)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,20	6,75	-	6,72	-	2,77	2,25	-	-	-	2,43	1,74/ 1,56	-	2,42	4,47	2,32/ 2,07
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m	-	-	-	d	m/m	-	m	t	dd/ dd
δ_{C} [ppm]	123,2	111,1	158,4	113,5	137,2	28,81	28,19	126,9	131,0	128,6	22,62	31,31	42,99	55,28	71,67	43,45
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	4,15												1,00	3,81		
Multipl.	t												s	s		
δ_{C} [ppm]	80,45												18,92	55,28		
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f			[α]				
3616 (OH)		323 [M+Na] ⁺				70			0,13 (T / EE 3:1)							

3.4.5.2 17b-Hydroxy-3-methoxy-13b-methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14b,15b-epoxid (10) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ – Produkte (29) und (30)

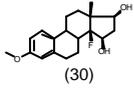
Das Epoxid (10) wurde analog der Vorschrift 3.5.5 für allgemeine Epoxidöffnung mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ bei -20°C , 0°C und bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht. In der Kälte bei -20°C war keine Umsetzung erkennbar.

Bei Raumtemperatur wurden 0,433 mmol (10) umgesetzt und es entstanden 2 Produkte, die durch Flashchromatographie an Kieselgel mit einem Lösungsmittelgradienten T: EE = 3 : 1 und T : EE = 1 : 1 getrennt werden konnten. Isoliert wurden 72mg 17β -Hydroxy-15-keto-14 α -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien (29) mit 54% und 15mg $17\beta,15\beta$ -Dihydroxy-14 β -fluor-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien (30) mit 8% Ausbeute.

Durch eine Erniedrigung der Reaktionstemperatur auf 0°C konnte die Ausbeute an Fluorprodukt (30) auf 28% gesteigert werden. Ein weiteres Herabsetzen der Temperatur brachte keine Verbesserung – im Gegenteil, es war keine Umsetzung mehr zu verzeichnen.

 (29)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,19	6,72	-	6,64	-	2,84/ 2,93	1,37/ 2,84	1,79	2,21	-	1,53/ 2,38*	1,51/ 2,14	-	1,76	-	2,69/ 2,14
Multipl.	d	d	-	s	-	m/m	m/m	t	m	-	m/m	m/m	-	d	-	dd/d d
δ_{C} [ppm]	126,2	111,6	157,7	113,8	138,1	29,4	26,28	35,24	43,59	131,4	25,78	36,35	43,83	62,02	211,8	43,85
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4 CH_3	8 CH_3	10 CH_3	13 CH_3	O CH_3	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	4,14												0,89	3,77		
Multipl.	t												s	s		
δ_{C} [ppm]	75,96												12,07	55,20		
IR [cm^{-1}]	MS [m/z]					F _p [$^\circ\text{C}$]			R _f			[α]				
3610 (OH); 1735 (C=O)	299 [M-H] ⁺ ; 301 [M+H] ⁺ ; 323 [M+Na] ⁺					161			0,28 (T / EE 3:1)							

*Für die Protonen am C-11 ist über die exakte Stereochemie mit dem NOESY-Spektrum keine Aussage aufgrund von Überlagerungen möglich.

 (30)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,17	6,73	-	6,64	-	2,89	1,73/ 2,25	1,93	2,59	-	2,25/ 1,48	1,23/ 1,60	-	-	4,50	1,77/ 1,93
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m/m	m	t	-	m/q	m/m	-	-	m	m/m
δ_C [ppm]	126,9	112,1	157,8	113,7	137,8	30,33	22,56	41 ⁺	39 ⁺	130,9	26,27	34 ⁺	48 ⁺	105/ 107 ⁺	72 ⁺	41,77
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_H [ppm]	3,64												1,15	3,78		
Multipl.	d												s	s		
δ_C [ppm]	79,44												13,8 ⁺	55,20		
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]			F _p [°C]			R _f			[α]						
3595 (OH)	320 (hochauflösend)			188-191°C			0,106 (T : EE = 3:1)			[α] _D = 78,6°						

⁺Die markierten Signale sind durch den Einfluss des Fluoratoms aufgespalten. Je näher am Fluor desto größer ist die Aufspaltung.

3.4.5.3 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (11) mit $BF_3 \cdot Et_2O$ – Produkte (22) und (24)

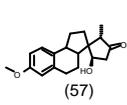
Die Öffnung von 0,166 mmol 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid (11) erfolgte nach der Vorschrift 3.5.5 bei Raumtemperatur. Folgende Produkte wurden nach einer Flashchromatographie mit T : EE = 2 : 1 erhalten – 7mg 17 α -Hydroxy-15-keto-14 β -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien (22) mit 13% und 38mg 17 α ,15 α -Dihydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),8(9)-tetraen (24) in 76% Ausbeute.

 (22)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,17	6,71	-	6,62	-	2,82	2,52/ 1,75	1,64	2,46	-	1,35/ 2,34	1,50/ 1,68	-	2,06	-	2,34/ 2,65
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m/m	t	t	-	q/m	t/t	-	s	-	dd/ dd
δ_{C} [ppm]	127,0	111,8	157,5	113,7	138,4	31,05	27,00	37,3	38,7	131,9	27,26	27,63	43,37	61,06	214,2	43,66
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	4,15												1,26	3,77		
Multipl.	t												s	s		
δ_{C} [ppm]	75,8												21,98	55,20		
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f				[α]			
		323 [M+Na] ⁺				ölig			0,36 (T : EE = 3:1)							

 (24)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,21	6,75	-	6,71	-	2,77	2,20	-	-	-	2,5	1,87/ 1,63	-	2,07	4,35	1,87/ 2,44
Multipl.	d	d	-	s	-	t	t	-	-	-	m	m/ dd	-	d	t	m/m
δ_{C} [ppm]	123,2	111,0	158,3	113,5	137,2	28,75	27,76	126,6	131,6	128,7	22,41	25,69	41,83	56,25	71,49	41,83
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	3,85												1,02	3,80		
Multipl.	t												s	s		
δ_{C} [ppm]	81,41												24,78	55,31		
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f				[α]			
3605; 3552 (OH)		323 [M+Na] ⁺				ölig			0,81 (T : EE = 3:1)							

3.4.5.4 17a-Hydroxy-3-methoxy-13b-methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14b,15b-epoxid (12) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ – Produkt (57)

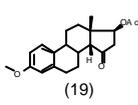
30mg (0,100 mmol) des Epoxids (12) wurden analog 3.5.5 bei RT zur Umsetzung gebracht. Nach erfolgter extraktiver Aufreinigung und Abdampfen des Lösungsmittels wurde der erhaltene Rückstand einer präparativen Schichtchromatographie unterworfen. Als Elutionsmittel diente T : EE = 3 : 1. Es wurden 24 mg (80%) an reinen Spiro-[2,3,3a,4,5,9b-Hexahydro-7-methoxy-1H-cyclopenta[a]naphthalen]-3,1'-[2'-S-methyl,3'-oxo-5'-R-hydroxy]-pentan] (57) erhalten.

 (57)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,05	6,70	-	6,60	-	2,90/ 3,00	2,33/ 1,95	1,70	2,93	-	2,34/ 1,39	1,24/ 1,66	2,83	-	4,44	2,21/ 2,48
Multipl.	d	d	-	s	-	m/m	m/m	m	m	-	m/m	m/m	d	-	s	d/d
δ_{C} [ppm]	127,6	111,7	157,9	113,6	137,5	31,96	25,50	48,04	44,14	133,1	29,18	30,90	45,44	54,60	74,85	46,23
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	-												0,99			
Multipl.	-												d			
δ_{C} [ppm]	218,4												7,44			
IR [cm^{-1}]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f			[α]				
?	323 [M+Na] ⁺					?			?			?				

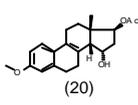
*Für die Protonen am C-11, C-12 und C-16 ist über die exakte Stereochemie mit dem NOE-SY-Spektrum keine Aussage aufgrund von Überlagerungen möglich.

3.4.5.5 17b-Acetoxy-3-methoxy-13b-methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14a,15a-epoxid (17) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ – Produkte (19) und (20)

0,440 mmol (17) wurden analog der unter 3.5.5 beschriebenen Variante bei Raumtemperatur zur Umsetzung gebracht. Nach Flashchromatographie an Kieselgel mit T: EE = 20 : 1 als Elutionsmittel wurden 102mg 17β -Acetoxy-15-keto- 14β -H-3-methoxy- 13β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien (19) zu 66% und 52mg 17β -Acetoxy-15 α -hydroxy- 14β -H-3-methoxy- 13β -methyl-gona-1,3,5(10),8(9)-tetraen (20) zu 32% isoliert.

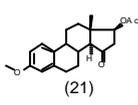
 (19)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,14	6,71	-	6,63	-	2,83	2,55/ 1,80	1,69	2,41	-	1,42/ 2,29*	1,38/ 1,65	-	2,41	-	2,80/ 2,27
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m/m	m	m	-	m/m	t/m	-	m	-	dd/m
δ_{C} [ppm]	126,9	111,8	157,6	113,8	138,4	31,02	26,57	37,00	38,33	131,6	27,42	33,05	43,34	56,78	216,4	43,66
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	5,06												1,18	3,77	2,09 -	
Multipl.	d												s	s	s -	
δ_{C} [ppm]	76,19												18,80	55,18	21,03 170,5	
IR [cm^{-1}]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f			[α]				
	365 [M+Na] ⁺					ölig			0,39 (T : EE = 3:1)							

*Für die Protonen am C-11 ist über die exakte Stereochemie mit dem NOESY-Spektrum keine Aussage aufgrund von Überlagerungen möglich.

 (20)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,2	6,75	-	6,71	-	2,77	2,25	-	-	-	2,47	1,85/ 1,72	-	2,4	4,48	2,37/ 2,1
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m	-	-	-	m	m/m	-	m	t	dd/m
δ_{C} [ppm]	123,3	111,1	158,4	113,6	137,2	28,81	28,08	126,3	131,1	128,5	22,54	30,92	42,95	55,96	71,64	40,95
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	5,09												0,93	3,81	2,07	
Multipl.	t												s	s	s	
δ_{C} [ppm]	82,34												18,90	55,28	21,13	170,6
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f			[α]				
	365 [M+Na] ⁺					ölig			0,20 (T : EE = 3:1)							

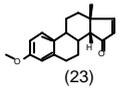
3.4.5.6 17b-Acetoxy-3-methoxy-13b-methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14b,15b-epoxid (18) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ – Produkt (21)

Bei der Umsetzung von 0,330 mmol (18) bei RT wurde nur ein Produkt gefunden und mittels Flashchromatographie mit T : EE = 20 : 1 als Eluent aufgereinigt. Es wurden 66mg 17 β -Acetoxy-15-keto-14 α -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien (21) mit 58% Ausbeute erhalten.

 (21)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,18	6,71	-	6,64	-	2,82/ 2,95	2,82/ 1,38	1,80	2,20	-	2,32/ 1,50	2,05/ 1,60	-	1,84	-	2,84/ 2,15
Multipl.	d	d	-	s	-	m/m	m/m	q	t	-	t/t	t/t	-	d	-	m/dd
δ_C [ppm]	126,2	111,6	157,7	113,7	137,9	29,31	26,13	35,0	43,4	131,3	25,6	36,6	42,94	61,46	210,5	41,37
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_H [ppm]	5,05												1,26	3,77	2,12 -	
Multipl.	t												s	s	s -	
δ_C [ppm]	76,40												12,99	55,12	20,87 170,8	
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f			[α]				
	365 [M+Na] ⁺					141-146			0,41 (T / EE 3:1)							

3.4.6 Öffnung des 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-14 α ,15 α -epoxids (11) mit *p*-Toluolsulfonsäure – Produkte (22), (23) und (24)

0,18 mmol des Epoxids (11) wurden in ca. 3 ml trockenen Toluol gelöst bei RT und mit wasserfreier *p*-Toluolsulfonsäure bis zu einem pH-Wert von 3-4 bei Raumtemperatur versetzt. Der Reaktionsverlauf wurde regelmäßig per DC kontrolliert. Nach ca. 50 min Reaktionszeit erfolgte die Hydrolyse mit gesättigter NaHCO₃-Lösung. Die wässrige Phase wurde mehrmals mit Toluol extrahiert, neutral gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernung der Lösungsmittel wurde ein fester Rückstand erhalten, der säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgradient (Toluol; T: EE = 10 : 1, T: EE = 5 : 1; T: EE = 3 : 1, T: EE = 1 : 1) aufgereinigt wurde. Es wurden 18% des 15-Keto-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10), 16(17)-tetraens (23), 38% des 17 α -Hydroxy-15-keto-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-triens (22) und 17% des 17 α ,15 α -Dihydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10), 8(9)-tetraens (24) erhalten (Daten siehe Öffnung mit BF₃*Et₂O).

 (23)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,08	6,70	-	6,61	-	2,81	2,21	1,97	2,44	-	2,36/ 2,00	1,54/ 1,88	-	2,24	-	6,05
Multipl.	d	d	-	s	-	m	m	m	m	-	m/m	m/m	-	d	-	d
δ_{C} [ppm]	127,8	112,0	157,3	113,3	138,0	30,67	27,59	38,35	36,25	132,9	26,36	35,62	45,25	57,92	210,1	132,0
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	7,54												1,26	3,77		
Multipl.	d												s	s		
δ_{C} [ppm]	172,1												25,26	55,21		
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]				R _f			[α]			
	305 [M+Na] ⁺					ölig				0,81 (T : EE = 3:1)						

3.4.7 2(3-Methoxy-phenyl)ethanol (32)

Zu 11g (66 mmol) *m*-Methoxyphenylethanol (31) gelöst in 70ml THF wurden vorsichtig 80ml 1M-Diboranlösung in THF getropft. Nach beendeter Gasentwicklung wurde das Reaktionsgemisch unter Rückfluss für ca. 5h erhitzt bis kein Edukt (DC- und IR-Kontrolle, Verschwinden der C=O-Bande bei 1705 cm⁻¹) erkennbar war. Nach vollständiger Umsetzung wurde vorsichtig mit verdünnter Essigsäure versetzt und der Alkohol (32) nach Zugabe von Wasser mit Chloroform erschöpfend extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach vollständiger Entfernung des Lösungsmittels wurden 12,3g einer gelblichen Flüssigkeit (Rohprodukt) erhalten. Dies wurde auf Eis gestellt, wobei sich weiße bis hellgelbe Blättchen bildeten, die abgesaugt werden konnten und sich mit Hexan waschen ließen. Es konnten 9,7g (63,7 mmol) an 2(3-Methoxy-phenyl)ethanol (32) erhalten werden, entsprechend einer Ausbeute von 96% [Eder,1978].

 (32)	Bezeichnung der C-Atome									
	1	2	1'	2'	3'	4'	5'	6'	OH	OCH ₃
δ_H [ppm]	3,86	2,85	7,23 / 6,76-6,84						1,65	3,80
Multipl.	t	t	m/m						s	s
δ_C [ppm]										
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]		F _p [°C]			R _f		[α]		
3415 cm ⁻¹ (OH) 1600 cm ⁻¹ Aromat	153 [M+H] ⁺ 175 [M+Na] ⁺		123-129			0,33 (T : EE = 3:1) 0,13 (T : EE = 7:1)		inaktiv		

3.4.8 2(3-Methoxy-phenyl)-ethyl-tosylat (33)

7g (46,0 mmol) 2(3-Methoxy-phenyl)ethanol (**32**) wurden in 70ml trockenem Pyridin gelöst, auf 0°C temperiert und mit 13,2g (69,2 mmol) p-Toluolsulfonsäurechlorid versetzt. Diese Mischung wurde über Nacht bei 0°C gerührt [Snyder, 1993]. Die Reaktionskontrolle erfolgte per DC und IR (Verschwinden der OH-Bande bei 3415 cm⁻¹). Das Reaktionsgemisch wurde mit 500ml Eiswasser hydrolysiert, wobei sich ein orange-gelbes Öl am Boden absetzte. Die wässrige Phase wurde wiederholt (4-6-mal) mit Diethylether extrahiert (NaCl-Zugabe führt zu einer Vermeidung von Emulsionen), je 3-mal mit 4%-iger NaHCO₃-Lösung und 1%-iger HCl gewaschen und anschließend über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und noch vorhandenes Pyridin durch mehrfache Destillation mit Toluol herausgeschleppt. Es wurde 12,9g eines gelben Rohproduktes erhalten, das durch Flashchromatographie mit einem Lösungsmittelgradient (Toluol für das Edukt, T : EE = 20 : 1, T : EE = 10 : 1 die restlichen Bestandteile) gereinigt wurde. Es konnten 11,15g (36,4 mmol) 2(3-Methoxy-phenyl)-ethyl-tosylat (**33**) (79,3% Ausbeute) in Form eines Öles erhalten werden.

 (33)					
	IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]	F _p [°C]	R _f	[α]
1601, 1578 (Aromat) 1238 O=S=O	329 [M+Na] ⁺ 635 [2M+Na] ⁺	Öl	0,64 (T : EE = 7:1)	inaktiv	

3.4.9 2(3-Methoxy-phenyl)-ethyl-bromid (33a)

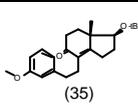
100mg (0,3 mmol) 2(3-Methoxyphenyl)-ethyl-tosylat (**33**) wurden mit 16,78 (0,16 mmol) NaBr in 3ml DMF bei Raumtemperatur (5 Tage) gerührt [Collins, 1956]. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle) wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser versetzt und 3-mal mit Diethylether extrahiert, die organische Phase abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Nach einer Flashchromatographie mit Toluol als Laufmittel konnten 53,6mg (0,25 mmol, 76% Ausbeute) des 2(3-Methoxyphenyl)-ethyl-bromids (**33a**) in Form eines hellgelben Öles isoliert werden.

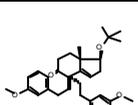
 (33a)				
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]	F _p [°C]	R _f	[α]
	214; 216 Isotopenmuster für Brom	Öl	0,9 (T : EE : 7 : 1)	inaktiv

3.4.10 17b-tert.-Butoxy-3-methoxy-13b-methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (35) durch Kombination von Wiechert-Keton und Tosylat (33)

Zu 10ml frisch ketyliertem Glyme wurden unter Argon 44mg (1,08 mmol) 60%-ige NaH-Ölsuspension und 200mg (0,90 mmol) trockenes Wiechert-Keton (**34**) gegeben. Das Gemisch wurde im Ölbad auf 65°C Innentemperatur für 3h erwärmt. Diese Zeit reichte aus, um das Wiechert-Keton in $\Delta^{5(4),3a(3)}$ -Dienolat (**34b**) zu überführen, was mittels DC und IR nachweisbar war und durch eine intensiv rot-orange Lösung angezeigt wurde. 335mg (1,08 mmol) 2(3-Methoxyphenyl)-ethyl-tosylat (**33**) gelöst in ca. 10ml frisch ketyliertem Glyme wurden rasch zugetropft und das Reaktionsgemisch auf 82-85°C Innentemperatur (Rückfluss) für 3h erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 15ml gesättigter NH₄Cl-Lösung hydrolysiert und das Secoprodukt erschöpfend mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden je 3-mal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen anschließend über Na₂SO₄ getrocknet. Nach der Entfernung des Lösungsmittels wurden 437mg eines orange-farbigen öligen Rückstandes erhalten, welcher einer Flashchromatographie an Kieselgel unter Verwendung eines Toluol/Essigestergradienten (Toluol, T : EE = 50 : 1, T : EE = 20 : 1, T : EE = 10 : 1) unterzogen wurde. Es wurden 266mg (0,74 mmol) an reinem 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (**35**) erhalten, was einer Ausbeute von 83% entspricht.

Bei einem Verhältnis Wiechert-Keton : Base ≥ 1 : 1,5 und größeren Reaktionsansätzen wurden Ausbeuten von bis zu 22% an dialkylierten Wiechert-Keton 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α -methoxyphenylethyl-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (**40**) erreicht.

 (35)	Bezeichnung der C-Atome																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
δ_H [ppm]	7,15	6,69	-	6,65	-	2,61	2,41	-	-	6,72	2,38/ 2,53	1,67/ 1,96	-	-	2,17/ 2,01	1,78/ 1,61	
Multipl.	t	d	-	s	-	m	m	-	-	d	m/m	m/m	-	-	m/m	m/m	
δ_C [ppm]	129,0	110,9	159,4	114,8	143,8	34,6	27,67	131,6	198,6	121,4	33,63	34,15	44,71	169,7	25,34	29,76	
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu	
δ_H [ppm]	3,39												1,00	3,76		1,18 -	
Multipl.	q												s	s		s -	
δ_C [ppm]	79,80												15,76	55,13		28,64 72,87	
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]				R _f				[α]			
1656 \rightarrow C=O		379 [M+Na] ⁺				ölig				0,52 (T : EE = 7 : 1)				35,8 (MeOH)			

 40	Bezeichnung der C-Atome																
	1/1'	2/2'	3/3'	4/4'	5/5'	6/6'	7/7'	8	9	10/ 10'	11	12	13	14	15	16	
δ_H [ppm]	7,20	6,73	-	6,70	-	2,44	2,1	-	-	7,20	2,47/ 2,65	1,73/ 1,92	-	-	5,52	2,5	
Multipl.	m	m	-	m	-	m	m	-	-	m	m/m	m/m	-	-	t	m	
δ_C [ppm]	129	111	159	114	\approx 144	\approx 31	40	56,47	214,0	129	38,54	33,06	46,18	149,3	122,6	39,10	
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	2x OCH ₃	17OAc	tBu	
δ_H [ppm]	3,86												1,19	\approx 3,8		1,23 -	
Multipl.	t												s	s/s		s	
δ_C [ppm]	81,2												17,03	\approx 55		28,72 72,87	
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]				R _f				[α]			
1702 \rightarrow C=O		491 [M+H] ⁺				ölig				0,70 (T:EE=3:1)							

3.4.11 Methylierung des 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (35)

Variante A:

In einem ausgeheizten und sekurierten Dreihalskolben wurden 50mg (0,14 mmol) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (**35**) in 3,5ml absoluten Glyme unter Argon gelöst und nach Zugabe von 19mg (0,168 mmol) KtB im Verhältnis 1 : 1,2 zur Bildung des Dienolats (**35a**) auf 65°C temperiert. Die rotbraune Lösung wurde auf RT abgekühlt und sofort mit 11 μ l (0,17 mmol) Methyljodid versetzt. Nach erfolgter Umsetzung (Kontrolle mittels DC) wurde eine Hydrolyse des Reaktionsgemisches mit gesättigter NH₄Cl-Lösung vorgenommen und das Produkt erschöpfend mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden neutralgewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel chromatographiert mit einem Lösungsmittelgradient beginnend mit Toluol bis zu einem Verhältnis von T : EE = 20 : 1. Auf diesem Weg konnten 34mg (0,092 mmol, 64%) an 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (**36**) erhalten werden. Das entsprechende 8 β -Methylprodukt (**41**) wurde nicht beobachtet, dafür konnten aber mittels DC-MS geringe Mengen des dimethylierten Produktes nachgewiesen werden.

Variante B:

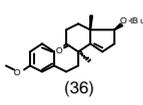
In einem ausgeheizten und sekurierten Dreihalskolben wurden 50mg (0,14 mmol) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (**35**) in 3,5ml absoluten tert.-Butylmethylether unter Argon gelöst und nach Zugabe von 19mg (0,168 mmol) KtB im Verhältnis 1 : 1,2 bei RT gerührt. Die orange-rote Lösung wurde mit 11 μ l (0,17 mmol) Methyljodid versetzt. Nach erfolgter Umsetzung (Kontrolle mittels DC) wurde eine Hydrolyse des Reaktionsgemisches mit gesättigter NH₄Cl-Lösung vorgenommen und das Produkt erschöpfend mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden neutralgewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel chromatographiert mit einem Lösungsmittelgradient beginnend mit Toluol bis zu T : EE = 20 : 1. Es konnten 29mg (0,078 mmol, 56%) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraens (**36**) erhalten werden. Auch bei dieser Variante konnte das entsprechende 8 β -Methylprodukt (**41**) nicht nachgewiesen werden, dafür aber mittels DC-MS geringe Mengen des dimethylierten Produktes detektiert werden.

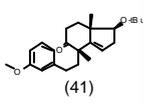
Variante C:

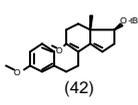
In einem ausgeheizten und sekurierten Zweihalskolben wurden 100mg (0,28 mmol) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (**35**) in 5ml absoluten DMF unter Argon gelöst und nach Zugabe von 38mg (0,337 mmol) KtB im Verhältnis 1 : 1,2 bei RT 1h gerührt. Die tiefrote Lösung wurde auf 0°C abgekühlt und mit 22 μ l (0,337 mmol) Methyljodid versetzt und für weitere 15min bei 0°C belassen und anschließend eine weitere Stunde bei RT gerührt. Nach erfolgter Umsetzung (Kontrolle mittels DC und Entfärbung der Lösung) wurde eine Hydrolyse des Reaktionsgemisches mit gesättigter NH₄Cl-Lösung vorgenommen und das Produkt erschöpfend mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden neutralgewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Die zwei entstandenen Produkte wurden mittels Flashchromatographie an Kieselgel mit Toluol als Eluent isoliert. Es wurden 36mg (34,7%) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (**36**) als farbloses Öl und 11mg (10,6%) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 β ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (**41**) als weißer Feststoff erhalten.

Variante D:

In einem ausgeheizten und sekurierten Zweihalskolben wurden 50mg (0,14 mmol) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen (**35**) in 5ml absoluten DMF unter Argon gelöst und nach Zugabe von 19mg (0,168 mmol) KtB im Verhältnis 1 : 1,2 bei -30°C 3h gerührt. Die tiefrote Lösung wurde mit 22 μ l (0,337 mmol) Methyljodid versetzt und für weitere 2h bei -30°C gerührt. Nach erfolgter Umsetzung (Kontrolle mittels DC und Entfärbung der Lösung) wurde eine Hydrolyse des Reaktionsgemisches mit gesättigter NH₄Cl-Lösung vorgenommen und das Produkt erschöpfend mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden neutralgewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Das entstandene Produkt wurde mittels Flashchromatographie an Kieselgel mit Toluol als Eluent isoliert. Es wurden 10,2mg (19,7%) 17 β -tert.-Butoxy-3,9-dimethoxy-13 β -methyl-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(9),14(15)-pentaen (**42**) erhalten.

 (36)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,16	6,69	-	6,66	-	2,44	1,97/ 1,78	-	-	6,71	2,31/ 2,62	1,68/ 1,86	-	-	5,45	2,36
Multipl.	t	d	-	s	-	m	m/m	-	-	d	m/m	m/m	-	-	s	m
δ_{C} [ppm]	129,4	111,2	159,7	114,1	143,7	30,79	40,62	52,79	214,5	120,7	34,99	34,22	46,3	151,6	122,4	38,36
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	3,77										1,23		1,20	3,76		1,17 -
Multipl.	m										s		s	s		s -
δ_{C} [ppm]	81,08										21,31		17,58	55,10		28,72 72,80
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f			[α]				
1705 → C=O		293 [M+Na] ⁺ 763 [2M+Na] ⁺				ölig			0,69 (T:EE=7:1)			19,7° (MeOH)				

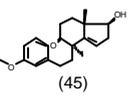
 (41)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_{H} [ppm] in CDCl_3	7,16	6,71	-	6,68	-	2,39/ 2,47	2,10/ 1,83	-	-	6,74	2,37/ 2,61	1,66/ 1,91	-	-	5,41	2,45/ 2,33
Multipl.	t	d	-	s	-	m/m	m/m	-	-	s	m/m	q/q	-	-	q	m/m
δ_{C} [ppm]	129,3	111,1	159,6	114,1	144,1	31,72	41,12	51,88	215,3	120,7	35,48	33,01	46,30	152,4	120,3	38,54
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_{H} [ppm]	3,76										1,25		1,10	3,77		1,17 -
Multipl.	m										s		s	s		s -
δ_{C} [ppm]	81,10										28,26		17,32	55,14		28,72 72,80
IR [cm ⁻¹]		MS [m/z]				F _p [°C]			R _f			[α]				
1705 → C=O		293 [M+Na] ⁺ 763 [2M+Na] ⁺				78-83			0,66 (T:EE=7:1)			14,1° (MeOH)				

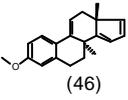
 (42)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,15	6,71	-	6,72	-	2,87	2,87	-	-	6,75	2,16/ 2,00	2,10/ 1,80	-	-	6,58	2,62/ 2,28
Multipl.	t	d	-	s	-	m	m	-	-	d	m/m	m/m	-	-	t	d/d
δ_C [ppm]	129,4	111,4	159,7	114,1	143,0	30,3	30,3	197,8	174,2	120,7	30,33	31,42	50,92	148,1	141,7	39,7
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	⁹ OCH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_H [ppm]	3,85										3,62		1,07	3,77		1,16 -
Multipl.	t										s		s	s		s -
δ_C [ppm]	75,30										51,49		19,01	55,14		28,6 73,33
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f			[α]				
						ölig			0,67 (T:EE=7:1)							

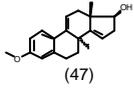
3.4.12 Ringschlussreaktion des 17b-tert.-Butoxy-3-methoxy-8a,13b-dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (36)

31mg (0,162 mmol) p-Toluolsulfonsäure wurden in 50ml trockenen Toluol suspendiert und das Restwasser durch azeotrope Destillation bei 80°C Badtemperatur am Rotationsverdampfer entfernt. Zu der auf ca. 25ml eingegangenen Lösung wurden 50mg (0,135 mmol) des 17β-tert.-Butoxy-3-methoxy-8α,13β-dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraens (36) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch unter Rückfluss am Rotationsverdampfer mit Wasserabscheider erwärmt und das gebildete Wasser entfernt. Die Reaktion wurde mittels DC verfolgt und 4 Produkte in veränderlichen Mengenverhältnissen in Abhängigkeit vom Fortgang der Reaktion detektiert. Das unpolare Edukt wurde primär durch Hydrolyse des tert.-Butylethers in den Alkohol (45) überführt, der durch Kondensation zum Zielprodukt (47) umgesetzt werden konnte. Da die Kondensation sehr schleppend verlief, waren Reaktionszeiten >30min erforderlich. Dabei kam es zusätzlich zu einer Abspaltung der 17-OH-Gruppe. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonat nach 3,5h abgebrochen und das Reaktionsgemisch mit Toluol extrahiert, die organische Phase abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Mittels präparativer Schichtchromatographie wurden entsprechend

aufsteigender Polarität das 3-Methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11),14(15),16(17)-hexaen (**46**), 9mg 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11),14(15)-pentaen (**47**) (18,8%) und 13mg 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14(15)-tetraen (**45**) (25,6%) isoliert.

 (45)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,16	6,70	-	6,67	-	2,45	1,95/ 1,80	-	-	6,72	2,33/ 2,59	1,75/ 1,85	-	-	5,47	2,55/ 2,35
Multipl.	t	d	-	s	-	m	m/m	-	-	d	m/m	m/m	-	-	q	m/m
δ_C [ppm]	129,4	111,1	159,7	114,1	143,5	30,70	40,25	52,77	214,2	120,7	35,04	33,55	46,39	151,7	122,1	37,72
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_H [ppm]	4,02										1,23		1,20	3,77		
Multipl.	m										s		s	s		
δ_C [ppm]	81,56										21,23		16,84	55,13		
IR [cm^{-1}]		MS [m/z]			F _p [°C]			R _f			[α]					
3424 \rightarrow OH 1703 \rightarrow C=O 1603 \rightarrow Aromat		315 [M+H] ⁺ 337 [M+Na] ⁺			ölig			0,048 (T : EE = 7 : 1)								

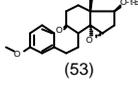
 (46)					
	IR [cm^{-1}]	MS [m/z]	F _p [°C]	R _f	[α] _D
Kein OH kein C=O 1624 \rightarrow Aromat 1606 \rightarrow Aromat	279 [M+H] ⁺ 301 [M+Na] ⁺ 317 [M+K] ⁺	ölig			
Vorhanden nach NMR in $CDCl_3$:			Nicht vorhanden:		
<ul style="list-style-type: none"> ○ CH₂-Gruppen; ○ OCH₃; ○ Aromat ○ 2 CH₃-Gruppen ○ vinyliche Protonen 			<ul style="list-style-type: none"> ○ Carbonyl ○ C-OH 		

 (47)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,48	6,72	-	6,59	-	2,97/ 2,74	1,72/ 1,91	-	-	-	6,12	2,04/ 2,40	-	-	5,44	2,59/ 2,23
Multipl.	d	d	-	s	-	m/m	m/m	-	-	-	d	m/m	-	-	t	m/m
δ_C [ppm]	126,1	112,7	158,5	113,0	135,9	26,80	37,39	138,3	138,5	128,2	117,2	37,76	47,10	156,9	117,7	38,48
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_H [ppm]	4,07										1,10		1,00	3,77		
Multipl.	t										s		s	s		
δ_C [ppm]	82,66										24,38		17,39	55,22		
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f				[α]			
3451 → OH 1602 → Aromat	319 [M+Na] ⁺ 296 Hochauflösung					71-79			0,18 (T : EE = 7 : 1)							

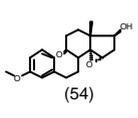
3.4.13 17b-tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien (53) und 17b-Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien (54)

In einem 25ml-Kolben wurden 130mg (0,675 mmol) m-Chlorperbenzoesäure in 5ml Methylchlorid bei 0°C gelöst und mit 50mg (0,135 mmol) des 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen (**36**) versetzt und 24h bei dieser Temperatur gerührt. Nach der kompletten Umsetzung des Eduktes wurde das Reaktionsgemisch mit gesättigter Natriumthiosulfatlösung und NaHCO₃-Lösung und zuletzt mit Wasser hydrolysiert und mehrmals mit Toluol extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mehrfach mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung neutralgewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Nach einer Flashchromatographie an Kieselgel unter Verwendung eines Lösungsmittelgradienten (T : EE = 50 : 1; T : EE = 30 : 1) wurden zwei Produkte isoliert – 29mg (53% Ausbeute der Theorie) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien (**53**) und 16mg (35%

Ausbeute) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien (**54**).

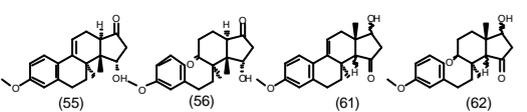
 (53)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,16	6,72	-	6,69	-	2,56	1,79/ 2,15	-	-	6,72	2,46/ 2,71	1,95/ 1,85	-	-	3,46	1,73/ 2,25
Multipl.	t	d	-	s	-	t	m/m	-	-	d	m/m	d/m	-	-	q	m/m
δ_C [ppm]	129,5	111,4	159,8	114,1	143,2	31,44	39,86	52,17	213,8	120,6	35,06	30,92	41,90	73,17	57,92	35,46
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_H [ppm]	3,49										1,00		1,26	3,77		1,12 -
Multipl.	m										s		s	s		s -
δ_C [ppm]	74,47										17,89		15,35	55,17		28,56 72,19
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]			F _p [°C]			R _f			[α]						
1703 → C=O	409 [M+Na] ⁺ 404 [M+NH ₄] ⁺ 425 [M+K] ⁺			68-73			0,58 (T:EE=7:1)			-1,25 (CHCl ₃)						

Kristallstrukturdaten für (53): C₂₄H₃₄O₄, Mr = 386.51 g mol⁻¹, farblose Quader, Kristallgröße 0.08 x 0.06 x 0.04 mm³, orthorhombisch, Raumgruppe P2₁2₁2₁, a = 6.4796(2), b = 17.8745(5), c = 19.246(3) Å, V = 2229.1(4) Å³, T = -90 °C, Z = 4, $\rho_{\text{calcd.}}$ = 1.152 g cm⁻³, μ (Mo-K α) = 0.77 cm⁻¹, F(000) = 840, insgesamt 5009 Reflexe bis h(-8/8), k(-22/22), l(-24/24) im Bereich von 2.28° ≤ Θ ≤ 27.48° gemessen, Vollständigkeit Θ_{max} = 99.1 %, davon 5009 symmetrieunabhängige Reflexe, 4185 Reflexe mit F_o > 4 σ (F_o), 253 Parameter, 0 Restraints, R1_{obs} = 0.046, wR²_{obs} = 0.108, R1_{all} = 0.061, wR²_{all} = 0.1184, GOOF = 1.001, Flackparameter 0.4(11), Differenzelektronendichte Maximum und Minimum: 0.187 / -0.151 e Å⁻³.

 (54)	Bezeichnung der C-Atome															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
δ_H [ppm] in $CDCl_3$	7,16	7,72	-	6,69	-	2,45/ 2,79	1,85/ 2,16	-	-	7,75	2,38/ 2,75	1,52/ 1,73	-	-	3,25	1,82/ 2,09
Multipl.	t	d	-	s	-	d/m	m/d	-	-	d	m/m	m/m	-	-	d	m/m
δ_C [ppm]	129,4	111,3	159	114,1	143,9	30,59	38,62	51,62	212,5	120,7	35,14	32,17	45,12	73,55	59,61	35,52
	17	20	21	22	23	24	25	26	27	4CH ₃	8CH ₃	10CH ₃	13CH ₃	OCH ₃	17OAc	tBu
δ_H [ppm]	3,58										0,99		1,12	3,77		
Multipl.	d										s		s	s		
δ_C [ppm]	78,64										17,00		28,40	55,16		
IR [cm ⁻¹]	MS [m/z]					F _p [°C]			R _f				[α]			
3649 → OH 3587 → Wasserstoffbrücke OH-Epoxid 1710 → C=O	instabil					115-121			0,42 (T:EE=7:1)				121,5 (CHCl ₃)			

3.4.14 Öffnung des 17b-tert.-Butoxy-3-methoxy-8a,13b-dimethyl-14a,15a-epoxy-9-oxo-9(10)-seco-gona-1,3,5(10)-trien (**53**) mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

12mg (0,031 mmol) des Epoxids (**53**) wurden in ca. 3 ml trockenen Toluol bei 0°C gelöst und mit 4,2ml (0,034 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ versetzt. Nach 2min Reaktionszeit war kein Edukt mehr vorhanden und das Gemisch wurde mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung hydrolysiert. Die wässrige Phase wurde erschöpfend mit Toluol extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte neutral gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernung der Lösungsmittel wurden 8mg eines öligen Rückstands erhalten.

				
IR [cm^{-1}]	MS [m/z]	F _p [°C]	R _f	[α] _D
1708 → C=O (Sekoprodukt) 1736 → C=O (Carbonyl im D-Ring) 1602 → Aromat	313 [M+H] ⁺ zu M=312 335 [M+Na] ⁺ zu M=312 331 [M+H] ⁺ zu M=330 353 [M+Na] ⁺ zu M=330	ölig		
Vorhanden nach NMR in CDCl_3 : <ul style="list-style-type: none"> ○ OCH_3; ○ Aromat ○ Carbonylfunktion ○ CH_3-Gruppen ○ vinyliche Protonen 				

4 Literaturverzeichnis

Abrahams, J.; Kraal, B.; Bosch, L.; *Nucl. Acids Res.* 16 (1988) 10099-10108

Antibiotics II; *Biosynthesis* Springer-Verlag Berlin, Heidelberg und New York (1967)

Antibiotikafibel: Steroidantibiotika / Wirkung 507

Apsimon, J. W. et al.; "The Total Synthesis of Triterpenes 1973 – 1981"; "Approaches to the Fusidic Acid Nucleus"; "Triterpenes with Nonsteroidal Skeletons"; in *Total Synthesis of Natural Products*, J. ApSimon; 6 (1984) 85-139 ; John Wiley & Sons

ApSimon, J. W.; King, R. R.; Rosenfeld, J. J.; *Can. J. Chem.* 47 (1969) 1989-1998

ApSimon, J. W.; Rosenfeld, J. M.; *Chem. Commun.* (1970) 1271

Barlough, J. E.; Shacklett, B. L.; *Vet. Rec. (England)* 135 (1994) 177-179

Barriault, L.; Deslongchamps, P.; *Bull. Soc. Chim. Fr.* 134 (1997) 969-980

Behnen, W.; Dauelsberger, Ch.; Wallbaum, S.; Martens, J.; *Synthetic Communications* 22 (1992) 2143-2153

Bell-Syer, S. E.; Hart, R.; Crawford, F.; Torgerson, D. J.; Young, P.; Tyrell, W.; Williams, H.; Russel, I.; *J. Dermatolog. Treat.* 12 (2) (2001) 69-74

Bischofberger, K.; Bull, J. R.; *Tetrahedron* 41 (1985) 365-374

Bittner, S.; Grinberg, S.; Kartoon, I; *Tetrahedron Letters* 23 (1974) 1965-1968

Blank, J.; Grillenbeck, N.; Kreutzer, R.; Sprinzl, M.; *Protein Expr. and Purif.* 6 (1995) 637-645

Bose, A. K.; Lal, B.; Hoffman, W. A.; Manhas, M. S.; *Tetrahedron Letters* 18 (1973) 1619-1622

Bull, J. R.; Bischofberger, K.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* (1983) 2723-2727

Bull, J. R.; Floor, J.; *J. Chem. Soc. Perkin I* (1981) 437

- Cai**, Z. Y.; Ni, Y.; Sun, J. K.; Yu, X. D.; Wang, Y. Q.; *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (1985) 1277-1278
- Cannon**, J. R.; Metcalf, B. W.; *Aust. J. Chem.* 24 (1971) 1925-1931
- Cantrall**, E. W.; Littell, R.; Bernstein, S.; *J. Org. Chem.* 29 (1964) 64-68
- Carboni**, S.; Da Settimo, A.; Bertini, D.; Ferrarini, P. L.; Livi, O.; Tonetti, I.; *J. Heterocycl. Chem.* (1975) 743-747
- Caspi**, E.; „Mikrobielle Transformation von Steroiden“ *Konferenz Weimar*, 1985
- Christiansen**, K.; *Int. J. Antimicrob. Agents* 12 (1999) 73-78
- Cohen**, K. F.; Kazlauskas, R., Pinhey, J.T.; *Chem. Commun.* (1971) 1419-1420
- COLLECT**, Data Collection Software; Nonius B.V., Netherlands, 1998
- Collignon**, P.; Turnidge, J.; *Int. J. Antimicrob. Agents* 12 (1999) Suppl 2; 45-58
- Collins**, J.F.; Smith, H.; *J. Chem. Soc.* (1956) 4308-4310
- Cordeiro**, M.L.; Djerassi, C.; *J. Org. Chem.* 55 (1990) 2806-2813
- Corey**, E. J.; Virgil, S. C.; *J. Amer. Chem. Soc.* 113 (1991) 4024
- Crabbe**, P.; Casas-Campillo, C.; *J. Org. Chem.* 29 (1964) 2731-2734
- Crispin**, D.J.; Vanstone, A.E.; Whitehurst, J.S.; *J. Chem. Soc. C* (1970) 10
- Cunha**, B. A. ; *Crit. Care Clin.* 14 (2) (1998) 309-327
- Czajkowski**, H.; *J. Antimicrobiob. Chemother.* 23 (1989) 155
- Dauben**, W. G.; Ahlgren, G.; Leitereg, T. J.; Schwarzel, W. C.; Yoshioko, M.; *J. Amer. Chem. Soc.* 94 (1972) 8593-8594
- Dauben**, W. G.; Kessel, C. R.; Kishi, M.; Somei, M.; Tada, M.; Guillerm, D.; *J. Amer. Chem. Soc.* 104 (1982) 303-305
- Dauben**, W. G.; Dietsche, T. J.; *J. Org. Chem.* 37 (1972) 1212-1216;

- Diassi**, P. A.; Basco, I.; Krakower, G. W.; Ann van Dine, H.; *Tetrahedron* 22 (1966) 3459-3467
- Diassi**, P. A.; Krakower, G. W.; Basco, I.; Ann van Dine, H.; *Tetrahedron* 22 (1966) 3443-3458
- Donald**, K.; Wickham, P. P.; Potts, G.O. ; Arnold, A.; *J. Med. Chem.* 11 (1968) 924-928
- Duhamel**, P.; Leblond, B.; Bidois-Sery, L.; Poirier, J.M.; *J. Chem. Soc.* (1994) 2265-2271
- Duhamel**, P.; Leblond, B.; Poirier, J. M.; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1993) 476-477
- Duvold**, T.; Sörensen, M. D.; Björkling, F.; Henricsen, A. S.; Rastrup-Andersen, N; *J. Med. Chem.* 44 (2001) 3125-3131
- Eder**, U.; Gibian, H.; Neef, G.; Sauer, G.; Wiechert, R.; *Chem. Ber.* 109 (1976) 2948
- Eder**, U.; Haffer, G.; Neef, G.; Prezegowsky, K; Sauer, G.; Wiechert, R.; *Chem. Ber.* 111 (1978) 939
- Eder**, U.; Haffer, G.; Neef, G.; Sauer, G.; Wiechert, R.; *Patent* EP 0007516 / DE 2832604
- Eder**, U.; Sauer, G.; Wiechert, R.; *Angew. Chem.* 83 (1971) 492; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 10 (1971) 496
- Eveillard**, M.; Schmidt, J. L.; *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 23 (3) (2002) 155-158
- Faber**, V.; Dalglish, A.G.; Newell, A. et al.; *Lancet* 2 (8563) (1987) 827-828
- Faber**, V.; Newell, A.; Malkovsky, M.; *Lancet* 2 (8563) (1987) Oct.10: 827-828
- Felming**, D.; *Infect. Dis. Clin. Pract.* 2 (1998) 75-80
- Flemming**, S.; Kabbara, J.; Nickisch, K.; Neh, H.; Westermann, J.; *Synthesis* (1995) 317-320
- Fowler**, V. G.; Maxwell, G. L.; Myers, S. A.; Shea, C. R.; Livengood, C. N.; Prieto, V. G.; Hicks, C. B.; *Arch. Dermatol.* 137 (10) (2001) 1374-1376
- Fresenius**, P.; Görlitzer, K.; *Organisch-chemische Nomenklatur* Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (1998)

Gaidanovich, P.; Torgov A. V.; *Izv. Acad. Nauk SSSR* (1964) 1311; *C.A. U* (1964) 8203; *Organic Reactions* **16**, 52

Godfredsen, W. O; *Nature* 193 (1962) 108

Golinski, M.; Vasudevan, S.; Floresca, R.; Brock, C. P.; Watt, D. S.; *Tetrahedron Letters* 34 (1993) 55-58

Gottlieb, D.; Shaw, P. D.; *Antibiotics II, Biosynthesis*; (1967) Springer Verlag

Gräfe, U.; *Biochemie der Antibiotika* Spektrum-Verlag (1992)

Groen, M. B.; Zeelen, F. J.; *Tetrahedron Letters* 23 (1982) 3611-3614

Hajos, Z. G.; Micheli, R. A.; Parrish, D. R.; Olivero, E. P.; *J. Org. Chem.* 32 (1967) 308

Hajos, Z. G.; Parrish, D. R.; *J. Org. Chem.* 39 (1974) 1615

Harada, N.; Sugioka, T.; Uda, H.; Kuriki, T.; *Synthesis* (1990) 53-56

Henschler; Fusidinsäureresistenz; *Pharmakologie und Toxikologie* S.652 ff

Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B.; *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie* Thieme-Verlag (1995), 5. Auflage

Hill, R. A.; Kirk, D. N.; Makin, H. L. J.; Murphy, G. M.; *Dictionary of Steroids* Chapman & Hall Ltd. (1991)

Hryniewicz, W.; *Infection* 27 (1999) 13-16

Ihara, M.; Takahashi, T.; Shimizu, N.; Ishida, Y.; Sudow, I.; Fukumoto, K.; *J. Chem. Soc.* (1989) 529-535

Ireland, R. E.; Beslin, P.; Giger, R.; Hengartner, U; Kirst, H.A.; Maag, H.; *J. Org. Chem.* 42 (1977) 1267-1275

Ireland, R. E.; Giger, R; Kamata, S.; *J. Org. Chem.* 42 (1977) 1276-1282

Ireland, R. E.; Hengartner, U.; *J. Amer. Chem. Soc.* 94 (1972) 3652

Justice, M. C.; Hsu, M-J.; Tse, B.; Ku, Th.; Balkovec, J.; Schmatz, D.; Nielsen, J.; *J. Biol.*

Chem. 273 (1998) 3148-3151

Kametani, T.; Nemeto, H.; Tsubaki, M.; Purvaneckas, G. E.; Aizawa, M., Nishiuchi, M.; *J. Chem. Soc. Perkin I* (1979) 2830-2835

Kasch, H.; Bertram, G; *Patent* WP C07 J / 213575 (15.06.79)

Kasch, H.; *Tetrahedron Letters* 37 (1996) 8349-8350

Kazlauskas, R.; Pinhey, J.T.; *Chem. Commun.* (1969) 945-946

Kazlauskas, R.; Pinhey, J. T.; Simes, J. J. H.; *J. Chem. Soc. Perkin I* (1972) 1243-1247

Kiesewetter, O.; Katzenellenbogen, J. A.; Kilbourn, M. R.; Welch, M. J.; *J. Org. Chem.* 49 (1984) 4900-4905

Kirk, N. D.; Hartsburn, M. P.; *Steroid Reaction Mechanism*; Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New York (1968), 6. Enolisation of Steroid Ketones; 154 ff; 8. Alkylation of Ketones 168 ff

Koning, S.; Lisette, W.; van Suijlekom-Smit, A.; Nouwen, J. L.; Verduin, C. M.; Bernsen, R. M. D.; Oranje, A. P.; Thomas, S.; van der Wouden, J. C; *BMJ* 324 (2002) 203

Krohn, K.; Krist, H. A.; Maag, H.; *Antibiotics and Antivirals Compounds* VCH Verlagsgesellschaft mbH (1993)

Künzer, H.; Thiel, M.; *Tetrahedron Letters* 36 (1995) 1237-1238

Lemoine, S.; Adam, P.; Albrecht, P.; Connan, J.; *Tetrahedron Letters* 37 (1996) 2837-2840

Liou, Y. F.; Tanaka, N.; *Biochem. Biophysics Res. Commun.* 71 (1976) 477-483

Murphy, W. S.; Cocker, D.; *J. Chem. Soc. Perkin I* (1977) 2565-2571

Nicoletti, F.; Patti, F.; Nicoletti, A.; L'Espiscopo, M. R.; Di Marco, R.; Bendtzen, K.; Reggio, A.; *Mult. Scler.* (1999) 377

Organikum, Autorenkollektiv, Deutscher Verlag der Wissenschaften (1990)

Otwinowski, Z.; W. Minor, W.; „Processing of X-Ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode“, in *Methods in Enzymology*, Vol. 276, *Macromolecular Crystallography, Part A*, edited

by C.W. Carter & R.M. Sweet, pp. 307-326, San-DiegoAcademic Press **1997**

Paryzek ; « Fusidane und Cucurbitane durch Umlagerung“; XVII. *Conference on Isoprenoids* (1997) 21.-26.9.

Pataki, J.; Siade, G.; *J. Org. Chem.* 37 (1972) 2127-2131

Pechmann, Reaktion mit Acetessigester; *Houben Weyl*, Reaktionen in der Organischen Chemie Bd. VI / 2 S. 641

Ponsold, K.; Schubert, G.; Wunderwald, M.; Tresselt, D.; *J. prakt. Chem.* 323 (1981) 819-821

Reeves, D. S.; *J. Antimicrob. Chemother.* 20 (1987) 467

Rehm, H.-J.; Reed, G.; *Biotechnology* VCH Verlagsgesellschaft mbH (1997)

Reiners, I.; Martens, J.; Schwartz, S.; Henkel, H.; *Tetrahedron Asymmetry* 7 (1996) 1763-1770

Reiners, I.; Wilken, J.; Martens, J.; *Tetrahedron Asymmetry* 6 (1995) 3063-3070

Richman, D. D.; Mitsuya, H.; Broder, S. et al.; *Lancet* 1 (8593) (1988) 1051-1052

Roempp, *Chemielexikon* Thieme-Verlag

Rote Liste

Ruhland, T.; Thiel, M.; Künzer, H.; *Tetrahedron Letters* 36 (1995) 7651-7652

Schneider, Gy.; XVI. *Conference on Isoprenoids* **1995**

Schönecker, B.; Ponsold, K.; Große P.; *Z. Chem.* 14 (1974) 472-473

Schreiber, K.; Osske, G.; *Tetrahedron Letters* 20 (1964) 1803 – 1805

Schubert, G.; Ponsold, K.; *Pharmazie* 34 (1979) 323-325

Schubert, G.; Schneider, Gy.; Schade, W.; Domby ,Gy.; *Acta Chim. Academiae Scientiarum Hungaricae* 111 (1982) **2** 173 - 187

- Shah, S. S.;** *Pediatr. Infect. Dis. J.* 4 (2001) 445-448
- Sharpless, K. B.;** Behrens, C. H.; Katsuki, T.; Lee, A. W. M.; Martin, V. S.; Takatani, M.; Viti, S. M.; Walker, F. J.; Woodward, S; *Pure and Applied Chem.* 55 (1983) 589
- Sheldrick, G.M.;** *Acta Crystallogr. Sect. A* 46 1990 467-473
- Sheldrick, G. M.;** SHELXL-97, University of Göttingen, Germany, 1993
- Shimizo, N.;** Itoh, T.; Saito, M.; Matsumoto, T.; *J. Org. Chem.* 49 (1984) 709-712
- Snyder, L.;** Meyers, A.I.; *J. Org. Chem.* 58 (1993) 7507-7515
- Sonnie, C.;** *Bull. Soc. Chim. France* (1956) 1435
- Stork, G.;** Brizzolara, A.; Landesman, H.; Szmukovicz, J.; Terell, R.; *J. Amer. Chem. Soc.* 85 (1963) 207
- Tanaka, N.;** "Fusidic Acid"; in Corcoran, J. W.; F.E. Hahn, F. E.; *Antibiotics III. Mechanism of action of antimicrobial and antitumor agents*; Springer-Verlag (1975) 436-447
- Tapolcsanyi, P.;** Wölfling, J.; Rosza-Tarjani, M.; Schneider, Gy.; "The Mitsunobu Inversion Reaction of Sterically Hindered 17 α -Steroid Alcohols"; *Conference on Isoprenoids* (1997), Abstract Paper 49
- Taub, D.;**"The Total Synthesis of Aromatic Steroids 1972-1981"; Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Rahway, New Jersey; in *Total Synthesis of Natural Products*, J.ApSimon; 6 (1984) 85-139 ; John Wiley & Sons
- Torlontano, G.;** Di Bartotomeo, P.; Di Girolamo, G.; Angrilli, F.; Verani, P.; Magiorella, T.; Dragani, A.; Iacone, A.; Papalinetti, G.; Oliosio, P. et al.; *Haematologica* 77 (1992) 287-297
- Turnidge, J.;** Collignon, P.; *Int. J. Antimicrob. Agents* 12 (1999) 35-44
- Turnidge, J.;** *Int. J. Antimicrob. Agents* 12 (1999) 23-34
- Tyrell, D.A.;** *Sci. Basis Med. Annu. Rev. (England)* (1969) 294-319
- Voet, D.;** Voet, J. G.; *Biochemie* VCH Verlagsgesellschaft mbH (1994)

von Daehne, W.; *Drugs Pharm. Sci.* 22 (1984) 427

von Daehne, W.; Godtfredsen, W. O.; Leo Pharmaceutical Products, DK-2750 Ballerup, Denmark; "Isolation and Chemical Transformation of New Metabolite of *Fusididium Coccineum*"; XVI. *Conference on Isoprenoids* **1995**

von Daehne, W.; Godtfredsen, W. O.; Rasmussen, P. R.; *Advances in Applied Microbiology* 25 (1979) 95-146

von der Haar, B. Rosenberg, D.; Dittrich, W.; Schrempf, H.; *J. Antibiot.* 44 (1991) 785-792

von der Haar, B.; Schrempf, H.; *J. Bacteriol. (United States)* 177 (1995) 152-155

von der Haar, B.; Walter, St.; Schwapenheuer, S; Schrempf, H; *Microbiology (England)* 11 (1997) 867-874

Wagner, H.; Römer, J.; Kasch, H.; *J. Lab. Comp. XVIII* (1980) 1611-1618

Walker, A. C.; Walsh, M. L.; Pennica, D; Cohen, P. S.; Ennis H. L.; *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 73 (1976) 1126-1130

Wallbaum, S.; Martens, J.; *Tetrahedron Asymmetry* 2 (1991) 1093-1096

Weber, W.; Kraus, W.; Spitzner, D.; *Chem. Ber.* 113 (1980) 385-390

Welankiwar, S. S.; Morphy, W. S.; *J. Chem. Soc. Perkin I* (1976) 710-712

Whitby, M.; *Int. J. Antimicrob. Agents* 12 (1999) 67-71

Woodward, R. W.; Patchett, A. A.; Barton, D. H. R. J.; Ives, D. A. J.; Kelly, R. B.; *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 2852

Zheng, V.J. et al.; *J. Amer. Chem. Soc.* 114 (1992) 10498

5 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Wirkmechanismus der Fusidinsäure (schematisch)	5
Abb. 2: Der translationale Elongationszyklus	6
Abb. 3: Retrosynthese des totalsynthetischen Zielmoleküls	8
Abb. 4: Biosynthese der Fusidinsäure im Vergleich zu den Steroiden.....	8
Abb. 5: Struktur der Fusidinsäure	9
Abb. 6: Inaktivierung der Fusidinsäure durch Fus H	10
Abb. 7: Totalsynthese nach Dauben.....	11
Abb. 8: Totalsynthesevorschlag nach Barriault.....	12
Abb. 9: Inaktivierung durch Fus H.....	13
Abb. 10: Untersuchung von Metaboliten der Fusidinsäure.....	14
Abb. 11: Intramolekulare Umesterung	14
Abb. 12: Bezifferung der Atome im Molekül	17
Abb. 13: HPLC-Chromatogramm der Metabolite des γ -Lacton	18
Abb. 14: stabiles Metabolisierungsprodukt (3) des Fusidinsäurelactons (2)	19
Abb. 15: instabiles Metabolisierungsprodukt (4)	20
Abb. 16: Instruktive C,H-Kopplung im HMBC-Spektrum von (4) und (2)	21
Abb. 17: Methylgruppentransfer von C-13 nach C-14 (Wagner-Meerwein-Umlagerung) ...	24
Abb. 18: Synthesewege der 17-Hydroxy-14,15-epoxide	24
Abb. 19: Mitsunobu-Reaktion.....	25
Abb. 20: Mögliche Produkte der Epoxidöffnung	26
Abb. 21: Öffnung der Epoxyacetate (17) und (18)	28
Abb. 22: Öffnung des 17 α -OH-14 α ,15 α -Epoxids (11)	29
Abb. 23: Öffnung des 17 β -OH-14 α ,15 α -Epoxids (9)	31
Abb. 24: Energieoptimierte Struktur des Wagner-Meerweinproduktes (28) (Alchemy 2000).....	32

Abb. 25: Diagnostische Kopplungen im HMBC-Spektrum von (28) als Strukturbeweis	33
Abb. 26: Öffnung des 17 β -OH-14 β ,15 β -Epoxids (10) unter Bildung des 14 β -Fluorproduktes (30)	34
Abb. 27: Vorschlag für den Fluorierungsmechanismus von (10) mit BF ₃ *Et ₂ O.....	35
Abb. 28: ¹⁹ F-NMR-Spektrum von (30)	35
Abb. 29: ¹ H, ¹⁹ F-HOESY von (30) in CDCl ₃	36
Abb. 30: Massenspektrum des 15 β ,17 β -Dihydroxy-14 β -fluor-3-methoxy-13 β -methylgona-1,3,5(10)-triens (30)	37
Abb. 31: Öffnung des Epoxids (12)	38
Abb. 32: Synchronmechanismus der Gerüstumlagerung zum Spiroprodukt (57)	38
Abb. 33: Röntgenkristallstruktur des Spiroproduktes (57)	40
Abb. 34: Energieoptimierte Konformation des Spiroproduktes (57) mit Alchemy 2000	41
Abb. 35: Vorschlag zum Synchronmechanismus bei Epoxidöffnungen.....	42
Abb. 36: Totalsynthetischer Grundbaustein 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethylgona-1,3,5(10),9(11)-tetraen (55)	43
Abb. 37: TotalsyntheseKonzeption für (55)	45
Abb. 38: Reaktionsmöglichkeiten des Wiechert-Ketons mit Alkylanzien.....	48
Abb. 39: Alternativen zur Enolatbildung	49
Abb. 40: Gleichgewicht der Dienolat-Ionen des Wiechert-Ketons	49
Abb. 41: 3D-Optimierung des Alkylierten Wiechert-Ketons (35) (Alchemy 2000).....	52
Abb. 42: Dialkyliertes Wiechert-Keton (40)	53
Abb. 43: 8 α -Methylierung.....	55
Abb. 44: IR-Spektren von (34) , (35) , (36) , (40) , (53) , und (54) in CHCl ₃ -Lösung	57
Abb. 45: Zielmolekül (44) der Aldolkondensation (3D-Optimierung mit Alchemy 2000)...	59
Abb. 46: Ringschlussreaktion und daraus resultierende Produkte	60
Abb. 47: Grundbaustein (55) für die Synthese Fusidinsäureanaloga	62
Abb. 48: Alternativer Synthesevorschlag für den Grundbaustein.....	63

Abb. 49: Produkte der Epoxidierung.....	64
Abb. 50: Darstellung des abschirmenden Effektes der β -ständigen Substituenten am C-8 und am C-13 (3D-Optimierung von (36) und (53) nach Alchemy 2000)	65
Abb. 51: Ringinversion am C-Ring bei (53) (3D-Optimierung nach Alchemy 2000) und Röntgenkristallstruktur.....	66
Abb. 52: Kristallstruktur des Epoxids (53)	66
Abb. 53: Öffnung des Secoepoxids (53)	68
Abb. 54: Kurzübersicht zur geplanten und alternativ durchgeführten Synthese	71
Abb. 55: Bezifferung der Atome der Terpengrundstruktur	73

6 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Substituentenvariation in Position 16	15
Tabelle 2: NMR-Daten in CDCl_3 des Transformationsprodukt (4) und Lacton (2); chemische Verschiebung δ in ppm.....	21
Tabelle 3: Öffnung mit p-Toluolsulfonsäure / Öffnung mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in Toluol.....	29
Tabelle 4: Variationen der Reaktionsbedingungen bei der Umsetzung des WK mit Alkylierungsreagenzien.....	51

7 Substanzverzeichnis

Nr. Bezeichnung nach IUPAC, angefertigt mit dem Programm Autonom des Beilsteins 6.0 bzw. den für Steroide international üblichen Konventionen [Hill, 1991; Fresenius, 1998]

- (1) Fusidinsäure [2-(16-Acetoxy-3,11-dihydroxy-4a,8,10,14-tetramethyl-hexa-decahydro-cyclo-penta[a]phenanthren-17yliden)-6-methyl-5-enon-säure]
- (2) Fusidinsäure- bzw. γ -Lacton [1,4a,10a,10b-Tetra-methyl-7-(4-methyl-pent-3-enyl)-2,3,4,4a,4b,5,6,6a,8,9a,10,10a,10b,11,12,12a-hexadecahydro-1H-9-oxa-pentaleno[2,1-a]phenanthren-2,5diol]
- (3) Hydroxymethyl-Fusidinsäurelacton [1-Hydroxymethyl-4a,10a,10b-trimethyl-7-(4-methyl-pent-3-enyl)-2,3,4,4a,4b,5,6,6a,8,9a,10,10a,10b,11,12,12a-hexadeca-hydro-1H-9-oxa-pentaleno[2,1-a]phenanthren-2,5-diol]
- (4) Hydroperoxo-Fusidinsäurelacton [7-(4-Hydroperoxy-4-methyl-pent-2-enyl)-1,4a,10a,10b-tetramethyl)-2,3,4,4a,4b,5,6,6a,8,9a,10,10a,10b,11,12,12a-hexadecahydro-1H-9-oxa-pentaleno-[2,1-a]phenanthren-2,5-diol].
- (5) 17-Keto-3-methoxy-13 β methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen
- (6) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen
- (7) 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15)-tetraen
- (8) 17-Keto-3-methoxy-13 β methyl-gona-1,3,5(10)-(14 β ,15 β)-epoxid
- (9) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-(14 α ,15 α)-epoxid
- (10) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-(14 β ,15 β)-epoxid
- (11) 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-(14 α ,15 α)-epoxid
- (12) 17 α -Hydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-(14 β ,15 β)-epoxid
- (13) 3-Methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),14(15),16(17)-pentaen

- (17) 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 α ,15 α -epoxid
- (18) 17 β -Acetoxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien-14 β ,15 β -epoxid
- (19) 17 β -Acetoxy-15-keto-14 β -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien
- (20) 17 β -Acetoxy-15 α -hydroxy-14 β -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),8(9)-tetraen
- (21) 17 β -Acetoxy-15-keto-14 α -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien
- (22) 17 α -Hydroxy-15-keto-14 β -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien
- (23) 15-Keto-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),16(17)-tetraen
- (24) 17 α ,15 α -Dihydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),8(9)-tetraen
- (25) 17 β -Hydroxy-15-keto-14 β -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien
- (26) 15-Keto-14 β -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10),16(17)-tetraen
- (27) 17 β ,15 α -Dihydroxy-3-methoxy-13 β -methyl-14 β -H-gona-1,3,5(10),8(9)-tetraen
- (28) 15 α -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-14 β -methyl-gona-1,3,5(10)-triens
- (29) 17 β -Hydroxy-15-keto-14 α -H-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien
- (30) 17 β ,15 β -Dihydroxy-14 β -fluor-3-methoxy-13 β -methyl-gona-1,3,5(10)-trien
- (31) 3-Methoxyphenyllessigsäure
- (32) 2(3-Methoxy-phenyl)ethanol
- (33) 2(3-Methoxy-phenyl)-ethyl-tosylat
- (33a) (3-Methoxyphenyl)-ethyl-bromid
- (34) Wiechert-Keton [(1S, 7aS)-1-tert.-Butoxy-1,2,3,6,7,7a-hexahydro-7a-methyl-5H-inden-5-on]

- (34a) $\Delta^{6(5),4(3a)}$ -Dienolat des Wiechert-Ketons
- (34b) $\Delta^{5(4),3(3a)}$ -Dienolat des Wiechert-Ketons
- (35) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(14)-tetraen
- (35a) $\Delta^{8(9),14(15)}$ -Dienolat von (35)
- (36) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen
- (37) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9(11),14(15)-gona-1,3,5(10)-pentaen
- (38) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 ξ ,15 ξ -epoxy-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen
- (40) Dialkyliertes Wiechert-Keton [17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α -methoxyphenylethyl-13 β -methyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen]
- (41) 3-Methoxy-8 β ,13 β -dimethyl-17 β -tert.-butoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14-tetraen
- (42) 17 β -tert.-Butoxy-3,9-dimethoxy-13 β -methyl-9(10)-secogona-1,3,5(10),8(9),14(15)-pentaen
- (44) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl--gona-1,3,5(10),9(11),14(15)-pentaen
- (45) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14(15)-tetraen
- (46) 3-Methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11),14(15),16(17)-hexaen
- (47) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11),14(15)-pentaen
- (48) 3-Methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10),14(15),16(17)-pentaen
- (49) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 ξ ,15 ξ -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien

- (50) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 ξ ,15 ξ -epoxy-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen
- (51) 15 ξ -Hydroxy-13 ξ -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen
- (52) 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien
- (53) 17 β -tert.-Butoxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien
- (54) 17 β -Hydroxy-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-14 α ,15 α -epoxy-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien
- (55) 15 ξ -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen
- (55a) 15 α -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen
- (56) 15 α -Hydroxy-13 α -H-17-keto-3-methoxy-8 α ,14 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien
- (57) Spiro-[2,3,3a,4,5,9b-Hexahydro-7-methoxy-1H-cyclopenta[a]naphthalen]-3,1'-[2'-S-methyl,3'-oxo-5'-R-hydroxy]-pentan]
- (61) 17 ξ -Hydroxy-14 ξ -H-15-keto-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-gona-1,3,5(10),9(11)-tetraen
- (62) 17 ξ -Hydroxy-14 ξ -H-15-keto-3-methoxy-8 α ,13 β -dimethyl-9-oxo-9(10)-secogona-1,3,5(10)-trien