

I. Einleitung

I.1. **Mehrfach ungesättigte Fettsäuren - Eicosanoide und Arachidonsäurekaskade**

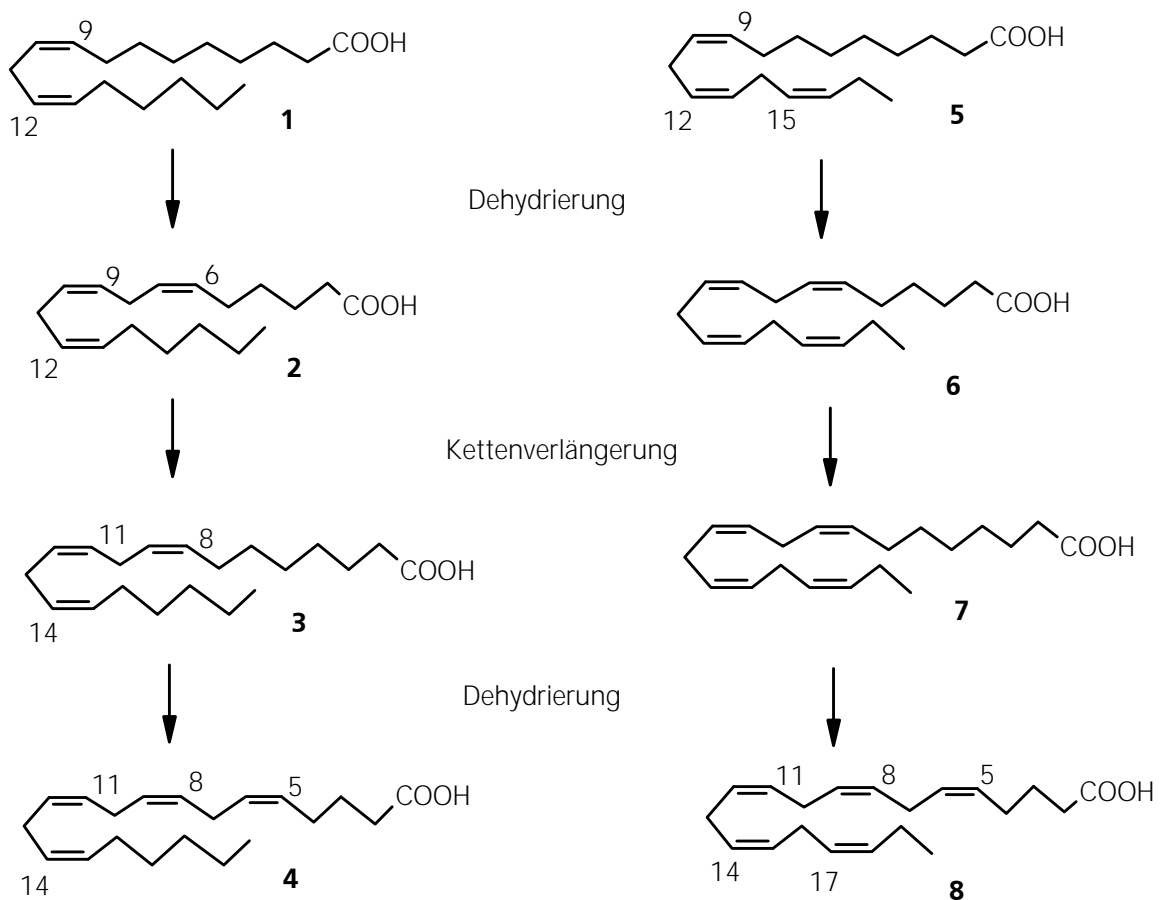
Unter dem Begriff der Eicosanoide (eicosa (griechisch): zwanzig) faßt man solche Naturstoffe zusammen, die aus C-20 Fettsäuren durch oxidativen Metabolismus im tierischen und menschlichen Organismus entstehen. Mehrfach ungesättigte Fettsäuren sind die Vorstufen von Eicosanoiden und werden ihrem Ursprung nach in vier Familien eingeteilt. Diese Fettsäurefamilien haben die ungesättigten Fettsäuren Palmitölsäure (16:1, ω -7), Ölsäure (18:1, ω -9), Linolensäure (18:2, ω -6, **1**) und α -Linolensäure (18:3, ω -3, **5**) als Ursprungssubstanz ^[A]. Die beiden Familien mit ω -3 und ω -6 Fettsäuren gelten als die essentiellen Fettsäuren (sog. Vitamin F ^[B], Nomenklatur siehe Literatur ^[1], Übersichtsartikel ^[2]). Essentielle Fettsäuren wie Linolensäure, werden dem menschlichen Körper durch Nahrungsaufnahme zugeführt und kommen bevorzugt in tierischen Fetten und Fleisch, aber auch in pflanzlichen Ölen wie Sonnenblumen-, Sojabohnen- und Weizenkeimöl vor.

Arachidonsäure (20:4, ω -6) (5,8,11,14-Eicosatetraencarbonsäure, **4**), eine mehrfach ungesättigte Fettsäure mit 20 Kohlenstoffatomen und 4 Doppelbindungen, ist die wichtigste Vorstufe für viele biologisch hoch aktive Stoffe. Arachidonsäure, im menschlichen Körper an die Membranphospholipide verestert, kann auch endogen aus Linolsäure (18:2, ω -6) nach zweifacher enzymatischer Dehydrierung über γ -Linolensäure (18:3, ω -6, **2**) und Kettenverlängerung zu Dihomo- γ -linolensäure (20:3, ω -6, **3**) aufgebaut werden. In analoger Sequenz wird aus α -Linolensäure (18:3, ω -3, **5**) über **6** und **7** auch 5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure (20:5, ω -3, **8**)

^[A] In der Kurzschreibweise wird eine (x:y, ω -z) Fettsäure bezeichnet, die x Kohlenstoffatome und y Doppelbindungen enthält. Der Termzusatz ω -z (auch n-z) bezeichnet dabei die Stellung der Doppelbindung (Familienzugehörigkeit), wobei z die Anzahl der Kohlenstoffatome ist, die zwischen der letzten Doppelbindung und der terminalen Methylgruppe liegt. Diese Nomenklatur ist nur auf solche Verbindungen anwendbar, bei denen die Doppelbindungen all-*cis* angeordnet sind und durch eine einzelne Methyleinheit voneinander getrennt (also nicht konjugiert) sind. Die hier verwendete biologische Nomenklatur (ω -Nomenklatur) ist im Widerspruch zur chemischen Nomenklatur (Δ -Nomenklatur), bei der die Zählweise an der Carboxylgruppe beginnt.

^[B] Obwohl ein echtes Vitaminkriterium fehlt, werden als Vitamin F heute im alltäglichen Gebrauch solche Fettsäuren bezeichnet, die mindestens 18 Kohlenstoffatome sowie oberhalb des Kohlenstoffatoms 9 ungesättigt sind und im menschlichen Organismus in nicht genügender Menge synthetisiert werden können. Die Fettsäurefamilien aus Palmitölsäure (16:1, ω -7) und Ölsäure (18:1, ω -9) dagegen werden nicht zu den essentiellen Fettsäuren gezählt, da sie im menschlichen Organismus aus gesättigten Vorstufen aufgebaut werden können.

aufgebaut. Dieser Anabolismus kann zu Fettsäuren mit einer noch höheren Anzahl von Kohlenstoffatomen, wie C-22, C-24 etc. führen.



Schema 1 Anabolismus essentieller Fettsäuren aus der ω -3 und ω -6 Fettsäurefamilie durch enzymatische Dehydrierung und Kettenverlängerung

Nugteren ^[3a,3b] sowie Stoffel und Ach ^[4] konnten zu Beginn der 60er Jahre zeigen, daß der endogene Aufbau von Eicosanoidvorstufen in den Mikrosomen stattfindet. Dabei ist die entsprechende Vorstufe der Carbonsäure an das Coenzym Acetyl-Co A gebunden und wird während dem Fettsäureanabolismus auf die Phospholipide übertragen (zum Metabolismus von ungesättigten Fettsäuren sie z. B. ^[5a]).

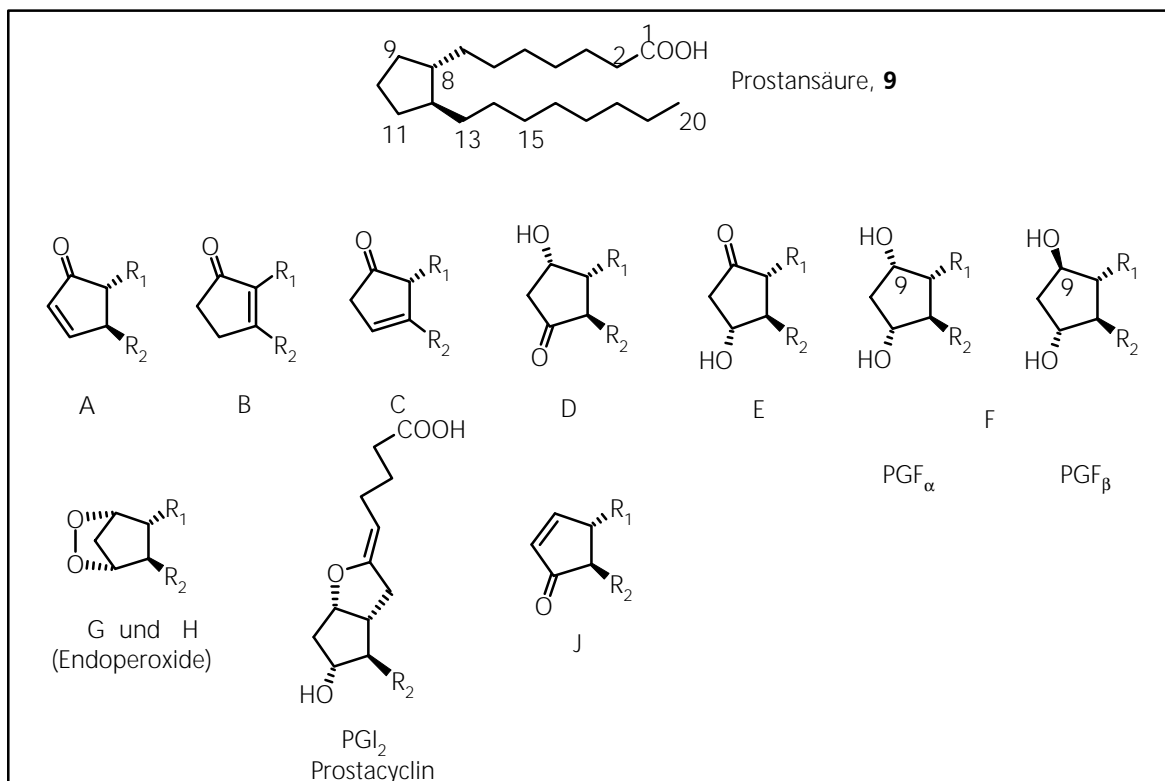
1.2. Entdeckung und Struktur von Prostaglandinen

Obwohl bereits 1931 von Gaddum und von Euler ^[6a] ein „Faktor P“ aus menschlichem Samenblasenplasma isoliert wurde, der sich später allerdings als strukturell nicht mit den Prostaglandinen verwandt herausstellte, geht die Entdeckung der Prostaglandine auf die Arbeiten von Goldblatt ^[7] und von Euler ^[6b] zurück, die dem Extrakt aus menschlichen Samenvesikel hochwirksame biologische Eigenschaften in der Blutdrucksenkung und starke Wirkung auf die glatte

Gefäßmuskulatur bezeugten. Euler nannte die wirksame Komponente „Prostaglandin“ [6c,6d,6e]. Die Struktur der darin enthaltenen Stoffe war fast 30 Jahre lang unklar. Mit Beginn der 60er Jahre befaßte sich Samuelsson mit der Isolierung [8a,8b] und Strukturfestlegung [8c,8d,8e] der Prostaglandine, bis diese von ihm im menschlichen Samenblasenplasma identifiziert wurden [8f,8g]. Fast alle Organe und Gewebe (ausgenommen Erythrozyten) können Prostaglandine synthetisieren, Samenvesikel, Nieren- und Lungengewebe haben allerdings höhere Enzymkapazitäten zur Prostaglandinsynthese [9]. Den irreführenden Namen "Prostaglandin" behielt man bei. Wegen der hohen physiologischen Wirksamkeit der Prostaglandine und der geringen vorkommenden Mengen (im menschlichen, erwachsenen Körper (70 kg) werden ca. 70 mg Prostaglandine produziert) wurden Prostaglandine anfangs aus natürlichen Quellen isoliert. Die Seekoralle *Plexaura homomalla* ist verhältnismäßig reich an PGA_2 (**13**) und seiner Ester (ca. 3 % der Trockenmasse), aus denen eine Zeit lang von Cayman Chemicals Co. viele andere PG semi-synthetisch hergestellt wurden, bis erste Totalsynthesen die Ausbeutung dieser Quellen zurückdrängten.

I.3. Nomenklatur von Prostaglandinen

Die allen Prostaglandinen gemeinsame Grundstruktur leitet sich von der Prostansäure (**9**) ab, eine C-20 Carbonsäure mit einem Cyclopentanring.



Schema 2 Nomenklatur von Prostaglandinen

Prostaglandine werden nach dem Substitutionsmuster am Cyclopentanring benannt. An die Abkürzung PG des Wortstammes werden die Buchstaben A bis J angefügt und die im Molekül enthaltenen Doppelbindungen als Suffix angegeben. Der griechische Index bei Prostaglandinen vom F-Typ weist auf die Stellung der Hydroxylgruppe an C-9 hin. Die Buchstaben G und H sind den Endoperoxiden zugeordnet, der Buchstabe I wird für das bicyclische Enolethergerüst des Prostacyclins PGI₂ (**10**) verwendet (zur Prostaglandin-Nomenklatur siehe Literatur ^[10]).

1.4. Arachidonsäurekaskade

Eicosanoide werden durch den oxidativen Metabolismus von Arachidonsäure gebildet (zum Metabolismus siehe z.B. ^[5a]).

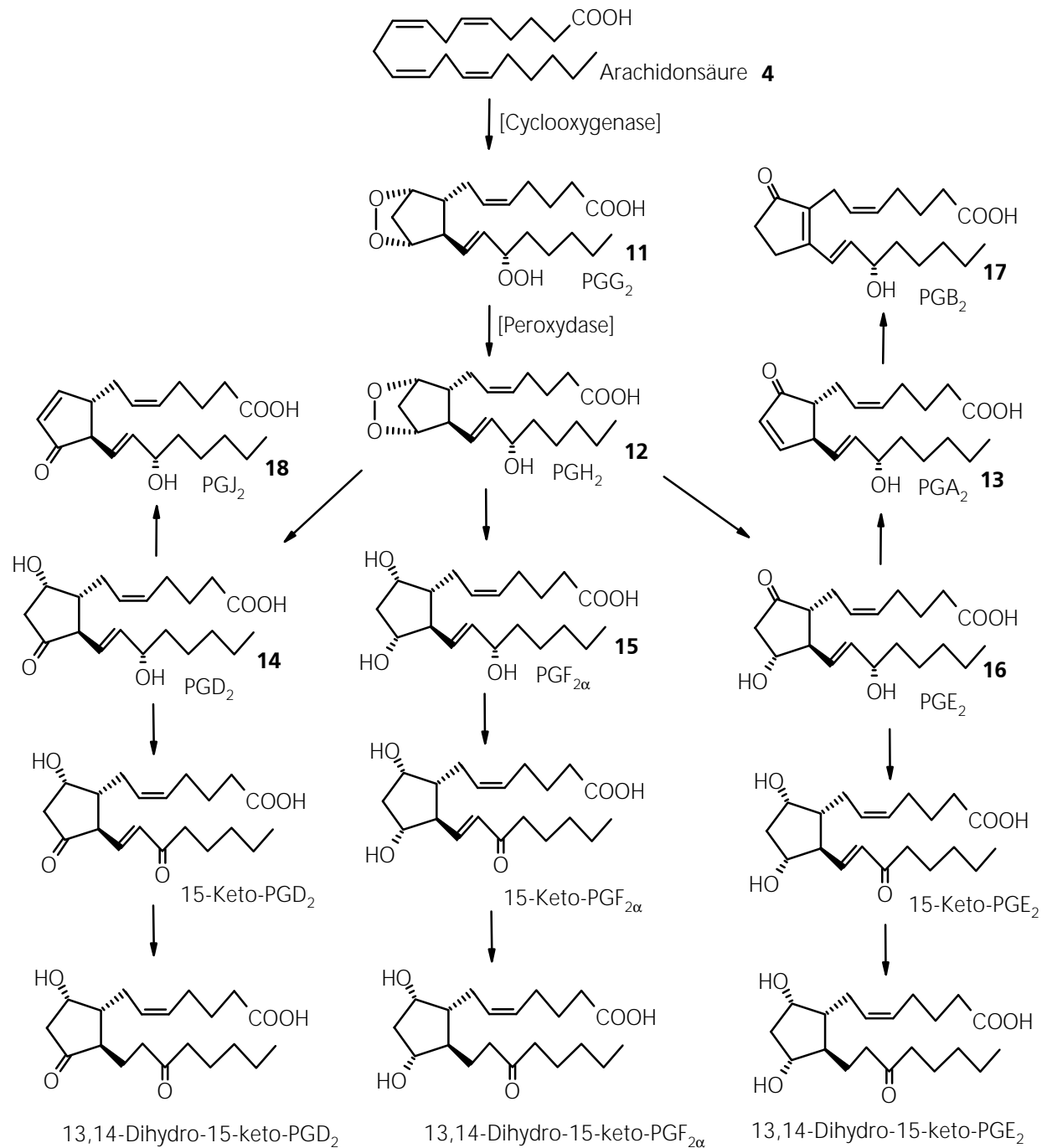
Aufgrund der Strukturähnlichkeit der Prostaglandine zu Fettsäuren wurde schon früh angenommen, daß diese aus den natürlich vorkommenden, mehrfach ungesättigten C-20 Fettsäuren wie Arachidonsäure (**4**) oder anderen wie **3** und **8** gebildet werden. Der von Nugteren ^[3c] und Samuelsson ^[8h] vorgeschlagene radikalische Bildungsmechanismus über Endoperoxide wurde erst 1973 von Samuelsson und Hamberg ^[11a] mit der Isolierung der Endoperoxide PGG₂ (**11**) und PGH₂ (**12**) bewiesen ^[11b]. Nugteren nannte die von ihm postulierten Endoperoxide PGR ^[3d].

In Schema 3 ist die heute allgemein anerkannte Entstehung von Prostaglandinen durch die Arachidonsäurekaskade angegeben. Die Entstehung der Endoperoxide erfolgt durch das Enzym Cyclooxygenase (COX), von denen nach heutigem Wissen zwei Isoformen (COX-1 und COX-2) existent sind.

Molekularer Sauerstoff wird enzymatisch an C-9, C-11 und C-15 addiert und bildet das Endoperoxid PGG₂. Rasche enzymatische Reduktion durch eine Peroxidase ^[12] produziert PGH₂. Die Endoperoxide PGG₂ und PGH₂ sind physiologisch sehr instabil. PGH₂ wird enzymatisch durch die Endoperoxidisomerase in die Prostaglandine PGD₂ (**14**), PGF₂ (**15**) und PGE₂ (**16**) umgewandelt, dies kann aber auch nicht-enzymatisch wie z. B. durch Liponsäure ^[13] geschehen. Die Peroxogruppe an C-15 wird in α -Stellung eingebracht, die Seitenketten am Cyclopentanring sind in *trans*-Stellung zueinander angeordnet. Die Anordnung der Hydroxylgruppe in 15S-Konfiguration ist für die physiologische Wirksamkeit wichtig. Der enzymatische Aufbau der Prostaglandine bewirkt den enantioselektiven Aufbau der Stereozentren (zur Nomenklatur der an der Arachidonsäurekaskade beteiligten Enzyme sowie zur Nomenklatur von Lipoxinen (LX) und Leukotrienen (LT) siehe Literatur ^[14]).

Die COX kann nur freie Fettsäuren als Substrat erkennen, Arachidonsäure wird vor ihrer Metabolisierung aus den Phospholipidverband auf Anforderung durch das Enzym Phospholipase A₂ herausgelöst ^[15]. Als Substrat für die COX dienen meist C-20 Fettsäuren mit mindestens drei Doppelbindungen in all-*cis* Konfiguration. **3** als Substrat liefert PG mit nur einer Doppelbindung

(PG₁), aus **4** entstehen PG aus der PG₂-Reihe und aus **8** werden Prostaglandine mit drei Doppelbindungen (PG₃-Reihe) erzeugt.



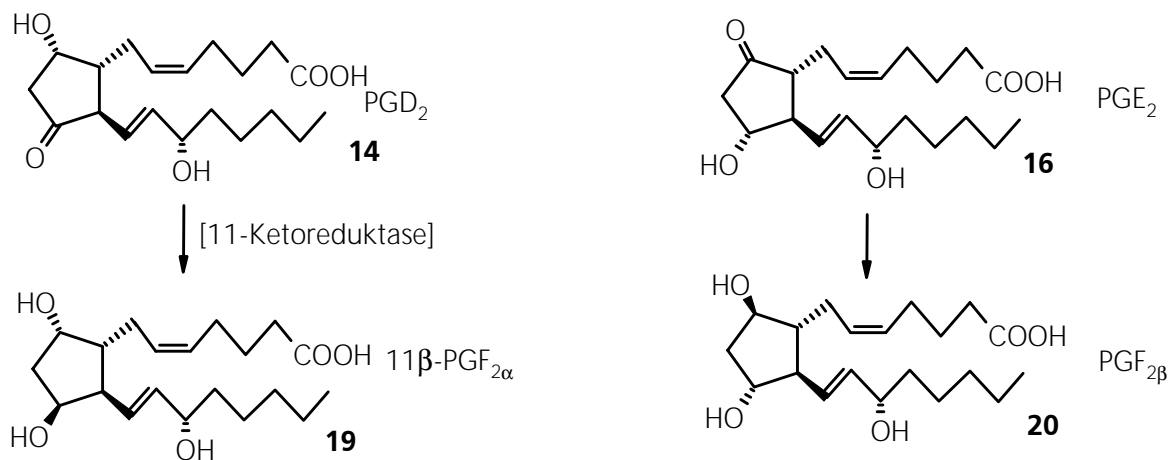
Schema 3 Metabolismus der Arachidonsäure Arachidonsäurekaskade (Teil 1)

Die Prostaglandine PGJ₂ (**18**) und PGA₂ (**13**) werden durch Dehydratisierung aus PGD₂ bzw. PGE₂ synthetisiert. PGJ₂ (**18**) wurde erst relativ spät als Metabolit von PGD₂ entdeckt ^[16a,16b], mit ihm werden anti-Tumor und anti-virale Eigenschaften verbunden ^[16c,16d]. Das physiologisch weitge-

hend inaktive PGB_2 (**17**) wird enzymatisch oder nicht-enzymatisch durch Isomerisierung der Doppelbindung aus PGA_2 (**13**) erzeugt ^[17].

Anfängliche Ergebnisse, daß PGD_2 (**14**) auch zu $\text{PGF}_{2\alpha}$ (**15**) metabolisiert wird ^[18], mußten dadurch ergänzt werden, daß die 11-Ketoreduktase neben der Bildung von PGD_2 (**14**) auch isomere Prostaglandine vom F-Typ (**19**, **20**) produziert ^[19]. Während der Entwicklung einer Methode zur quantitativen Erfassung isomerer Prostaglandine ^[20] wurden die Isoprostane entdeckt.

Die weitere Metabolisierung der Prostaglandine erfolgt durch Oxidation an C-15 zu den entsprechenden 15-Keto-PG, die an der 13,14-Doppelbindung reduziert werden. Anschließend werden Prostaglandine durch α -, β -, und ω -Oxidation an der Kohlenstoffkette abgebaut, sowie an C-19 hydroxyliert. Derartige Abbauprodukte wurden für die meisten Prostaglandintypen bereits nachgewiesen, im Besonderen diejenigen der M-Serie. Bei M-Typ Prostaglandinen ist die obere α -Seitenkette um 4 Kohlenstoffatome und die ω -Seitenkette am terminalen C-Atom zu einer Carbonsäure abgebaut worden. M-Serie Ketodicarbonsäuren werden ihrer hohen Polarität wegen leicht aus dem Körper mit dem Urin ausgeschieden und können darin nachgewiesen werden (sog. "urinary prostaglandins").



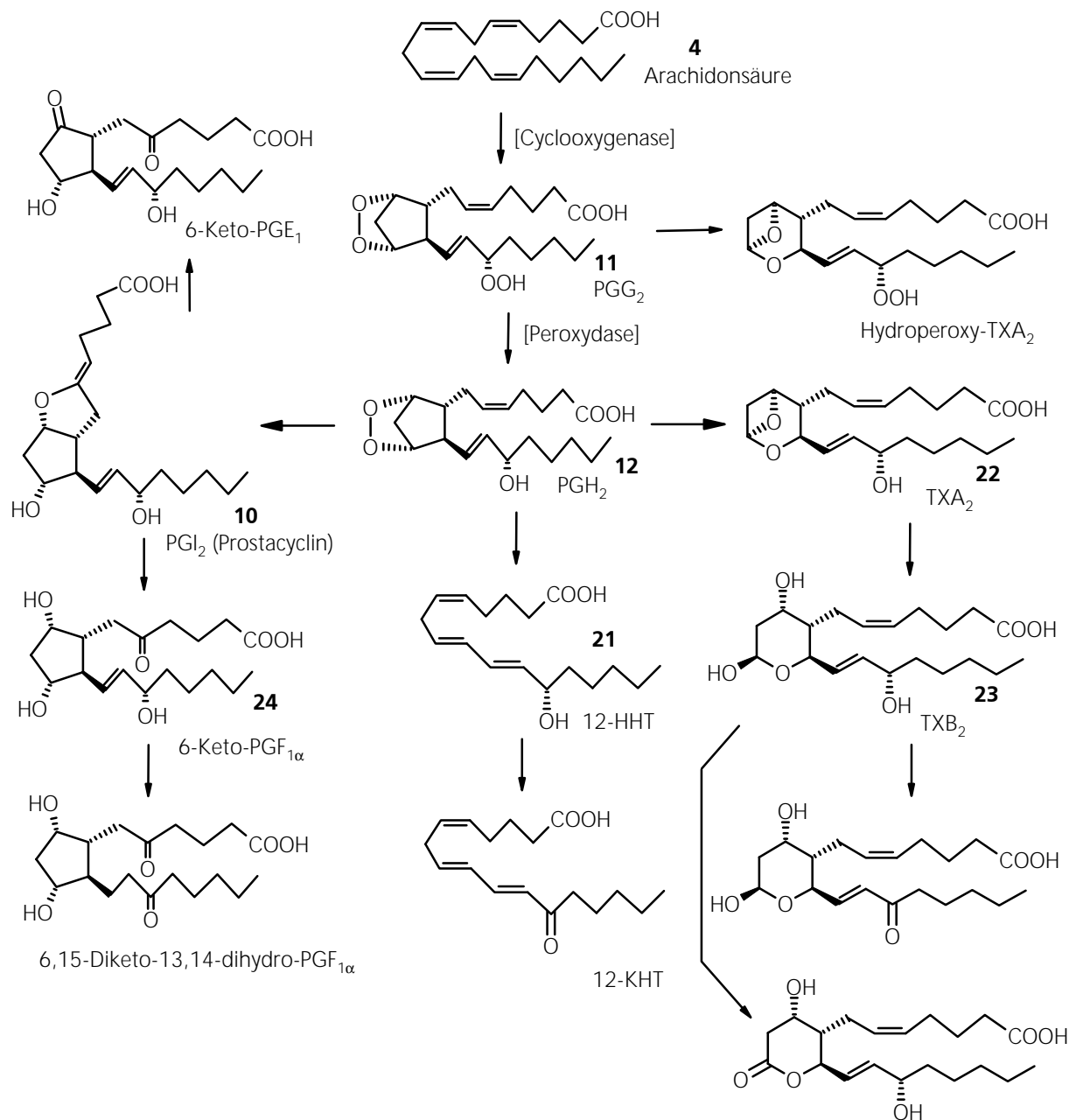
Schema 4 Entstehung isomerer F-Typ Prostaglandine aus PGD_2 und PGE_2

Bei Umwandlung von PGH_2 (**12**) in die genannten Prostaglandine bildet sich unter dem Einfluß des Enzyms Endoperoxidisomerase auch Prostacyclin PGI_2 (**10**), sowie ein C-17-Spaltungsprodukt, die (12S)-Hydroxyheptadeca-5,8,10-triencarbonsäure (12-HHT, **21**) ^[21].

Die zentrale Stellung der Endoperoxide PGG_2 (**11**) und PGH_2 (**12**) in der Synthese von Eicosanoiden wird auch darin deutlich, daß sich aus diesen durch das Enzym Thromboxansynthetase auch die Thromboxane (TX) bilden ^[11c,22]. TXA_2 (**22**) - erstmals aus Thrombozyten (Plättchen) isoliert -

ist ein Zellregulierungsmittel mit starker Plättchenaggregationsfähigkeit. Das Epoxidöffnungsprodukt von TXA₂ ist das physiologisch inaktive TXB₂ (**23**).

Dem Prostacyclin PGI₂ kommt aufgrund seiner physiologischen Eigenschaften besondere Bedeutung zu. Vane und Moncada zeigten, daß es neben dem Enzym Thromboxansynthetase ein weiteres Enzym gibt, daß die Endoperoxide PGG₂ und PGH₂ in eine Substanz unbekannter Struktur überführt, aber die Plättchenaggregation zu verhindern vermag ^[23a,23b,23c,23d,23e]. Diese unbekannte Substanz wurde anfangs PGX genannt. Nachdem man 6-Keto-PGF_{1α} (**24**) als Metabolit von PGX identifizierte, konnte die gesuchte Struktur für PGI₂ festgelegt werden ^[23f,23g].



Schema 5 Metabolismus der Arachidonsäure Arachidonsäurekaskade (Teil 2)

1.5. Entdeckung und Struktur von Isoprostanen

Isoprostane stellen eine Substanzgruppe mit Prostaglandin-ähnlicher Struktur dar. Die Entdeckung der biologischen Relevanz von Isoprostanen geht auf die Arbeiten von Morrow und Roberts zurück, die bei Untersuchungen isomerer Prostaglandine vom PGF-Typ ^[19c,19g] neue Peaks entdeckten, deren Menge zunahm, wenn die untersuchten Blutplasmaproben bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ längere Zeit lagerten. Der Vorschlag, daß diese neuen Substanzen in einem enzymunabhängigen Bildungsweg gebildet werden könnten ^[24], wurde schon bald dadurch ergänzt, daß diese neuen Substanzen *in vivo* gebildet werden ^[25]. Neben dem zuerst entdeckten 8-iso-PGF_{2 α} wurden kurz darauf auch Isoprostane vom D- und E-Typ ^[26] sowie Isothromboxane ^[27] und Isoleukotriene ^[28] entdeckt. Die Strukturaufklärung regioisomerer Isoprostane erfolgt durch massenspektroskopische Methoden ^[29] und im Vergleich mit synthetischen Isoprostanen mittels HPLC ^[30]; (Übersichtsartikel zur Anwendung gaschromatographischer und massenspektroskopischer Methoden in der Analyse von Eicosanoiden siehe ^[31]).

Bereits 1967 beobachteten Nugent ^[32] sowie Pryor ^[33] während der Autoxidation ungesättigter Fettsäuren ^[34] die Bildung Prostaglandin-ähnlicher Strukturen. Nach Isolierung der Endoperoxide PGG₂ (**11**) und PGH₂ (**12**) wurden Modelle zur Erklärung des biologischen Bildungsmechanismus entwickelt. Porter ^[35], Pryor ^[33] sowie O'Connor und Mihelich ^[36] untersuchten die Cyclisierung von α -Linolensäure (**5**) zu C-18-Prostaglandinen. Die aufgefundenen Radikalcyclisierungsprodukte waren jedoch isomer zu natürlichen Prostaglandinen. O'Connor und Mihelich wie auch Corey ^[37] zeigten, daß die Cyclisierungsprodukte der freien Radikalreaktion *cis*-Anordnung der Seitenketten am Cyclopentanring aufweisen und damit die Konfiguration der Produkte der freien Radikalreaktion von der enzymabhängigen abweicht ^[38]. In einer weiteren Veröffentlichung von Corey ^[37c] wurde die radikalinduzierte Cyclisierung von Arachidonsäure (**4**) durch Sauerstoff in Anwesenheit von Samariumdiodid untersucht, bei der ein 1:3-Gemisch (12 β :12 α) C-12-epimerer Endoperoxide gebildet wurde. Radikalcyclisierung wurden von Änggård auch an Eicosapentaensäure (**8**) durchgeführt, die zur Bildung von F₃-Isoprostanen führten ^[104]. In geringen Mengen wurde von Mihelich ^[36b] auch die Bildung 12 β -konfigurierter Prostaglandine beobachtet, darüber hinaus wurden bevorzugt diese Regioisomeren gebildet, die den Carbocyclus zwischen C-8 und C-12 aufweisen.

Während der freien Radikalcyclisierung von β,γ -ungesättigten Peroxoradikalen wurden fast ausschließlich *cis*-Dioxolanringe ^[39] aufgefunden. Nur der Cyclisierungsschritt bei der Bindungsknüpfung zwischen C-8 und C-12 unterscheidet sich von der enzymabhängigen Reaktion. Während der enzymatischen Bildung der C-8-C-12-Bindung erzwingt das Enzym COX eine Konformationsänderung im Übergangszustand, der sich vom Modell der enzymfreien Radikalcyclisierung

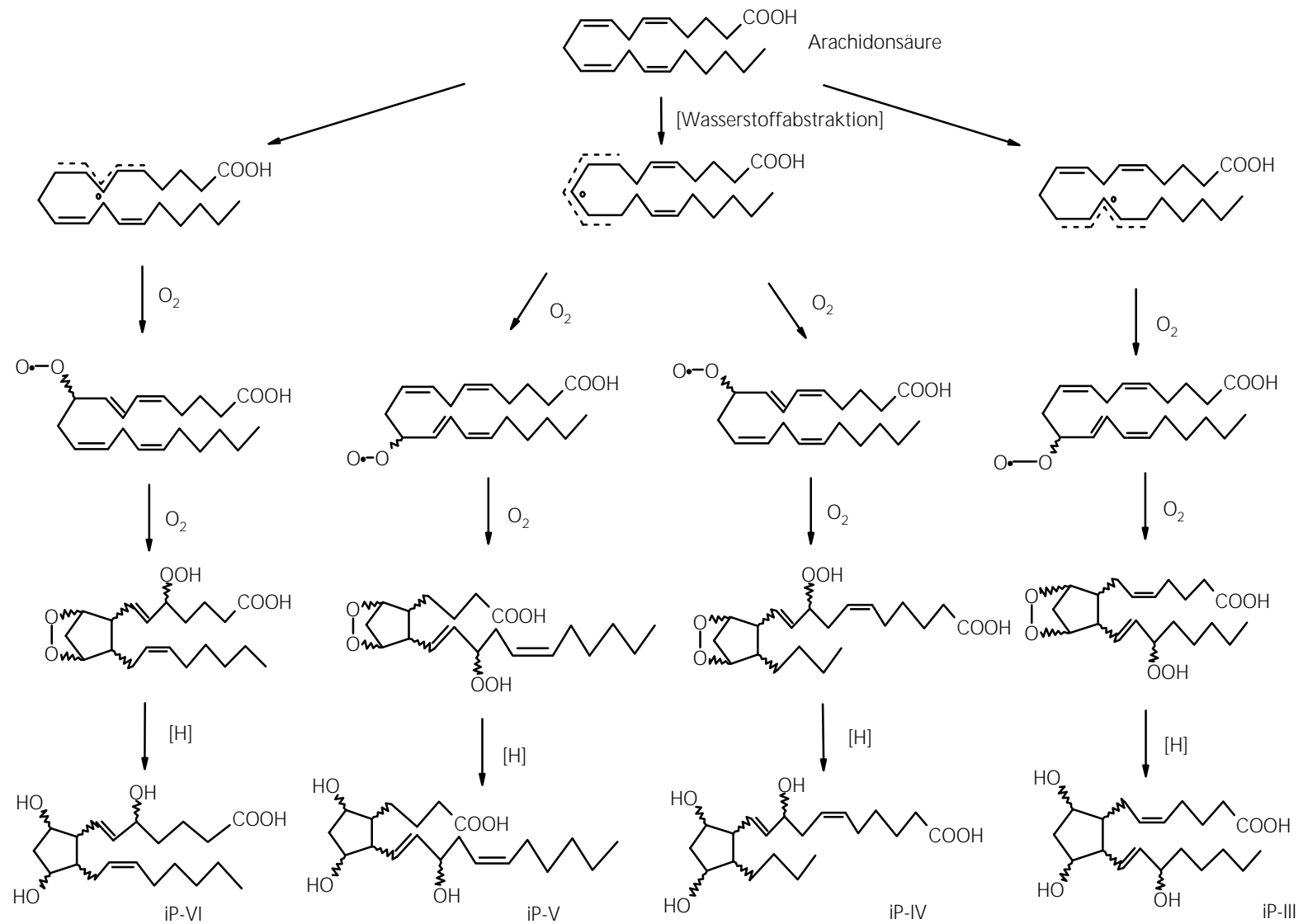
unterscheidet (zur Erklärung der Ausbildung *cis*-angeordneter Seitenketten am Cyclopentanring während freier Radikalcyclisierungen siehe ^[37b]).

Die Ergebnisse der freien Radikalcyclisierung wurden solange als Laborkuriosität abgetan, bis Morrow und Roberts ^[25] 1990 die Bildung von Isoprostanen *in vivo* entdeckten. Schema 6 gibt den von Morrow und Roberts vorgeschlagenen COX-unabhängigen Bildungsweg von Isoprostanen an. Die initiale Wasserstoffabstraktion an einer doppelt allylischen Position produziert ein Radikal. Unter doppeltem O₂-Einfang, intermediärer Cyclisierung und anschließender Reduktion werden die Isoprostane gebildet. Aus drei doppelt allylischen Positionen bei Arachidonsäure können drei regioisomere Radikale gebildet werden. Durch regioisomeren Sauerstoffeinfang gehen diese in die vier Endoperoxide und schließlich in die vier bekannten Regioisomeren der Isoprostane über.

Ob die *in vivo* gebildeten Isoprostane enantiomerenrein sind, ist noch nicht bekannt. Ob das Stereozentrum an C-2 des Glycerinteils der Phospholipide oder der Phospholipidverband als Ganzes einen enantioface Angriff des O₂ steuert ist bis jetzt noch nicht untersucht worden. Aufgrund des Abstandes zum stereogenen Zentrum kann angenommen werden, daß keine chirale Induktion erfolgt und Isoprostane wahrscheinlich racemisch gebildet werden. Insgesamt können aus Arachidonsäure 128 Stereoisomere vom iP-F-Typ gebildet werden (die mögliche *trans*-Anordnung hierbei berücksichtigt).

Bei der Bildung der Prostaglandine wird sowohl die Bildung des regioisomeren C-11-Radikals, aber auch der enantioface differenzierende O₂-Einfang und der Cyclisierungsschritt zum Cyclopentanring im COX-abhängigen Bildungsweg enzymatisch gesteuert. Durch diese Stereoselektion wird die Bildung nur jeweils eines Diastereomeren in enantiomerenreiner Form beobachtet. Ein weiterer Unterschied der enzymatischen Bildung zur freien Radikalcyclisierung besteht darin, daß diese auch dann stattfindet, wenn die Fettsäuren noch an die Phospholipide gebunden sind. Die Bildung von Prostaglandinen setzt freie Arachidonsäure als Substrat für die COX voraus. Die Freisetzung von Arachidonsäure durch Phospholipase A₂ erfolgt im Normalfall nur „auf Anforderung“ nach einer Gefäßverletzung. Die auf den Phospholipiden gebildeten Isoprostane können aber ebenso wie die Fettsäuren durch Phospholipasen freigesetzt werden.

Obwohl das Strukturmerkmal der Isoprostane hauptsächlich *cis*-Anordnung der Seitenketten am Cyclopentanring ist, werden bei der freien Radikalcyclisierung auch geringe Mengen der Diastereomere mit *trans*-Anordnung gebildet. Der Übersicht halber ist deshalb in Schema 6 keine definierte Konfiguration angegeben.



Schema 6 Postulierter Mechanismus der Bildung von Isoprostanen über Endoperoxide

I.6. Nomenklatur von Isoprostanen

Für die vier regioisomeren Strukturen der Isoprostane aus Schema 6 wurde eine Nomenklatur vorgeschlagen ^[40a,40b], die erweitert wurde, um der steigenden Anzahl der Regioisomere gerecht zu werden, die durch Radikalcyclisierung längerkettiger ungesättigter Fettsäuren entstehen ^[40b]. Als Akronym für Isoprostane wird iP (zuvor auch isoP und IP genannt) vorgeschlagen. IP wird bereits als Abkürzung für die Inositolphosphate, aber auch für Prostaglandin-Rezeptoren genutzt.

Bei Isoprostanen wird der Substitutionstyp in Analogie zu den Prostaglandinen benannt. Die Einteilung der Isoprostane in die regioisomeren Klassen III bis VI (bei Arachidonsäure) bzw. I bis VI (bei Eicosapentaensäure, **8**) erfolgt nach dem Ort des entstandenen Radikals und dem nachfolgenden Abfang durch Sauerstoff. Wird das primär entstandene Radikal an einer doppelt allylischen Position mit Sauerstoff im Uhrzeigersinn abgefangen, so erhalten die daraus resultierenden iP-Klassen römische ungerade Ziffern, wird das Radikal entgegen dem Uhrzeigersinn abgefangen, so wird den entsprechenden iP-Klassen eine gerade römische Zahl zugeordnet. Die römische Zahl wird aufsteigend nach der ω -Nomenklatur vergeben (siehe Fußnote ^[A]). Diese Nomenklatur wurde um weitere zwei Klassen erweitert, um die Bildung von Isoprostanen aus ungesättigten Fettsäuren mit 22 Kohlenstoffatomen zu berücksichtigen (weitere Nomenklaturmerkmale siehe ^[40b]). Es bleibt anzumerken, daß die hier angeführte Nomenklatur von Rokach vorgeschlagen wurde, aber bis jetzt nicht durch die IUPAC anerkannt wurde. Bei dieser Nomenklatur werden auch jene Isoprostane berücksichtigt, die aufgrund der *trans*-Anordnung der Seitenkette mit Prostaglandinen identisch sind, sich aber nur im Bildungsmechanismus von diesen unterscheiden.

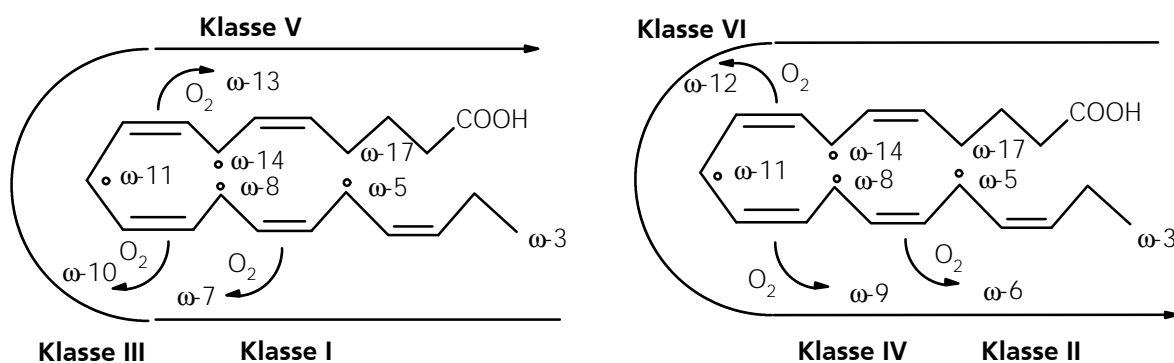


Abbildung 1 Klasseneinteilung der Isoprostane nach Rokach et al.

Durch den Bildungsmechanismus der Isoprostane ist eine hohe Anzahl von Diastereomeren möglich. Im Falle der Bildung von F-Typ-Isoprostanen aus AA ist in jeder der iP-Klassen die Bildung von 16 Diastereomeren möglich (unter Berücksichtigung der *trans*-Anordnung am Cyclopentanring). Da durch AA vier iP-Klassen gebildet werden können, sind folglich 64 diastereomere Verbindungen des iP-F-Typs möglich. Bei Radikalcyclisierung von 5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure (20:5, ω -3, **8**), wie bereits gezeigt ^[104], erhöht sich die Anzahl der möglichen regioisomeren F₃-Isoprostane.

1.7. Physiologische Eigenschaften von Prostaglandinen und Isoprostanen

Sowohl TXA₂ als auch die Prostaglandine sind enzymatisch gebildete Produkte der Arachidonsäurekaskade und erfüllen physiologische Aufgaben. TXA₂ als starker Vasokonstriktor verursacht eine starke Plättchenaggregation und verhindert durch Bildung von Gefäßverschlüssen eine Verblutung nach Gefäßverletzung.

Die oft widersprüchlichen und vielfältigen Wirkungen der meisten Prostaglandine ist stark davon abhängig, in welchem Gewebe die Untersuchungen zu deren Wirksamkeit durchgeführt wurden. Prostaglandine werden gelegentlich auch als Gewebshormone bezeichnet.

In seinen physiologischen Eigenschaften fällt besonders Prostacyclin PGI₂ (**10**) auf, das ein außerordentlich starker Vasodilatator ist und die Blutplättchenaggregation hemmt. PGI₂ wurde zeitweise als Kreislaufhormon ^[41] bezeichnet, doch muß diese Bezeichnung relativiert werden, denn im körperlichen Normalzustand findet man im Blutplasma einen zu geringen Gehalt an diesem „Hormon“ ^[42]. Eher zutreffend ist, daß PGI₂ „auf Anforderung“ hin nach einer Gefäßverletzung gebildet wird und als Gegenspieler zu TXA₂ eine Gefäßweitstellung verursacht, damit der Blutfluß gewährleistet bleibt. Intravenöse Injektion von PGI₂ im Tiermodell verursacht deshalb einen starken Blutdruckabfall ^[43].

PGI₂ kann aufgrund seiner Plättchenaggregationshemmung einen Gefäßverschluß wieder auflösen. Darauf beruht der therapeutische Ansatz, ein chemisch und physiologisch stabiles Prostaglandin in den Händen zu haben, um Gefäßverschlüsse bei krankhafter Veränderung der Blutgefäße zu verhindern oder aufzulösen. Dies ist besonders bedeutsam bei der Behandlung von Herzkranzgefäßverengungen und akutem Herzinfarkt.

Moncada und Vane haben ausführlich die biologische Bedeutsamkeit von PGI₂ beschrieben ^[44].

Spätestens 1969, als man erkannte, daß die Bildung von Prostaglandinen *in vitro* durch Aspirin und andere NSAID (engl.: nonsteroidal antiinflammatory drugs, deutsch: nichtsteroidale Antiphlogistika (Entzündungshemmer)) unterbunden wird ^[45], war abzusehen, daß die Entstehung verschiedener Krankheiten und Entzündungsprozesse mit dem Auftreten von Prostaglandinen in

Verbindung gebracht werden muß. Durch Hemmung der COX wird eine Reduzierung der Produktion von Prostaglandinen erzielt. Damit sinkt das Risiko eines Herzinfarktes oder die Wahrscheinlichkeit der Erkrankung an Gefäßentzündungen. Seit Entdeckung der zwei Isoformen der COX mutmaßt man, inwieweit diese an der Entstehung entzündlicher Prozesse beteiligt sind. Während COX-1 wahrscheinlich in die sogenannten Haushaltsregulierungsfunktionen der Prostaglandine involviert ist, scheint COX-2 bevorzugt für die Signalsetzung und –übertragung während pathologischen Mechanismen wie Entzündungen verantwortlich zu sein (Übersichtsartikel zu COX siehe Literatur ^[46]). Weltweite Anstrengungen, spezifische NSAIDs zu entwickeln, die ausschließlich COX-2, nicht aber COX-1 hemmen, werden unternommen. Dieses Ziel ist teilweise auch erreicht ^[47], doch die Anwendung verschiedener NSAIDs birgt auch größere Nachteile ^[48] (Übersichtsartikel zu Unterschieden und Ähnlichkeiten von NSAIDs siehe Literatur ^[49]).

Da durch NSAIDs auch die Bildung von PGI_2 gehemmt wird, und damit auch die gewünschten Eigenschaften der Plättchenaggregationshemmung unterbunden werden, sucht man gezielt nach selektiven Thromboxansynthetase-Hemmern, die nur die enzymatische Bildung von TXA_2 aus $\text{PGH}_2/\text{PGG}_2$ unterbinden, jedoch die Bildung von PGI_2 über die Arachidonsäurekaskade zulassen.

Da auch das zentrale Nervensystem COX enthält (Übersicht zu COX im zentralen Nervensystem (CNS) siehe ^[50]), wird das Schmerzempfinden an sich und Hyperalgesie (erhöhte Schmerzempfindlichkeit) mit der Entstehung von Prostaglandinen in Verbindung gebracht. Die vielleicht wichtigste Rolle der Prostaglandine (PGE_2) im CNS ist mit der Fieberentstehung (Hyperthermie) verbunden. Weniger dagegen ist über den Zusammenhang der Schmerzleitung im Rückenmark sowie höheren Zentren und der Entstehung von Prostaglandinen bekannt. Durch die Entdeckung von neuen PGI-Subzeptoren im CNS ^[51] erhält die Erforschung der COX-abhängigen Krankheiten und die von neurodegenerativer Krankheiten neue Impulse.

Untersuchungen zur biologischen Wirksamkeit von Isoprostanen wurden bis jetzt fast ausschließlich mit 8-*iso*- $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($\text{iPF}_{2\alpha\text{-III}}$) ausgeführt, da dieses als erstes durch Totalsynthese in größeren Mengen zur Verfügung stand. Die intensiven Forschungen mit diesem Isoprostan haben gezeigt, daß 8-*iso*- $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($\text{iPF}_{2\alpha\text{-III}}$) ebenso wie die natürlichen PGs in einem enzymabhängigen Bildungsweg gebildet wird ^[52,62]. Da die Bildung von 8-*iso*- $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($\text{iPF}_{2\alpha\text{-III}}$) durch NSAIDs weitgehend unterdrückt werden kann, nimmt man die teilweise Bildung von Isoprostanen über einen enzymatischen Bildungsweg an. Es zeigte sich, daß die COX-2-Hemmung die Bildung dieses Isoprostans nicht ganz unterbindet, so daß andere Isoprostane in dem postulierten freien Radikalmechanismus gebildet werden können. Zudem wurde nachgewiesen, daß COX-2 ein deutlich höheres Bildungspotential als COX-1 für die Bildung von 8-*iso*- $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($\text{iPF}_{2\alpha\text{-III}}$) hat. Damit wird

die Vermutung untermauert, daß eher COX-2 an der Entstehung entzündlicher Prozesse beteiligt ist.

Sowohl Prostaglandine als auch F_2 -Isoprostane werden in der Niere gebildet^[53,54] die man in erhöhtem Gehalt im Urin (ca. 2 ng/l) findet. Die Identifikation von Metaboliten der Isoprostane im Urin^[55] kann ebenso etwas über den oxidativen Streß im Körper aussagen. Ihre Quantifizierung wird deshalb als wichtig angesehen. 8,12-*iso*- $iPF_{2\alpha}$ -VI und 5-*epi*-8,12-*iso*- $iPF_{2\alpha}$ -VI werden im Urin in etwa 5-fach größerer Menge als $iPF_{2\alpha}$ -VI (~ 20-fach größere Menge als $iPF_{2\alpha}$ -III) aufgefunden^[30].

$iPF_{2\alpha}$ -III wirkt kontrahierend auf menschliches Myometrium^[56] und das menschliche Lymphgewebe^[57] und wurde auch im Tiermodell getestet. Es zeigt vasiale und bronchialkonstriktorische Eigenschaften in der Kaninchen-^[58] und Rattenlunge^[59]. Es ist daneben auch ein starker Vasokonstriktor an isolierten Lungenarterien und Aorta^[60] und in der Niere^[26], so daß die Urinausscheidung stark herabsetzt wird^[25a,61]. $iPF_{2\alpha}$ -III aber auch iPE_2 -III scheinen einen zum Thromboxan-Rezeptor ähnlichen Akzeptor zu aktivieren^[26,60,62]. Da die Aktivierung nur teilweise durch TXA_2 -Inhibitoren aufgehoben wird, nimmt man die Existenz eines zusätzlichen Isoprostanz-Rezeptors in der glatten Gefäßmuskulatur an^[63,64,65], der sich vom Thromboxan-Rezeptor unterscheidet. Deshalb kann man mit $iPF_{2\alpha}$ -III keine ausgeprägte Blutplättchenaggregation *in vivo* auslösen^[66]. Im Kaninchentest wirkt iPE_2 -III, aber nicht $iPF_{2\alpha}$ -III auf das Epithelium kontrahierend^[67]. Man diskutiert deshalb bereits die Bedeutung der Isoprostane in der Angiologie (Blut- und Lymphgefäßlehre)^[68].

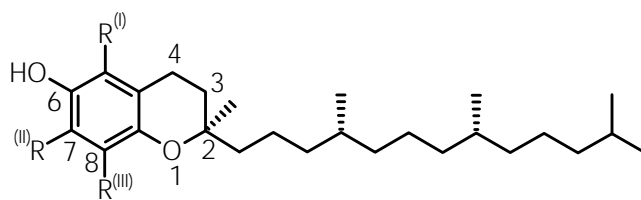
Für ein weiteres Isoprostan, 8,12-*iso*- $iPF_{2\alpha}$ -III (12-*epi*- $PGF_{2\alpha}$), konnte gezeigt werden, daß der Prostaglandin-Rezeptor im Auge^[69] aktiviert wird, ebenso wie von $PGF_{2\alpha}$.

Eine Studie zur Erforschung der Ursachen von Höhenkrankheit (u.a. mit akuten Höhenlungenödem) zeigte, daß die verminderte Kapillarmembrandurchlässigkeit bei diesen Personen in großer Höhe in keinem Zusammenhang mit dem Isoprostangehalt steht^[70].

Aufgrund der genannten Eigenschaften der Isoprostane wird die Genese verschiedener Krankheiten damit in Verbindung gebracht.

Im Gegensatz zu Prostaglandinen ist die Bildung von Isoprostanen *in vivo* nicht an das Auftreten von Entzündungsprozessen oder Gefäßverletzungen gebunden. Die Entstehung freier Radikale ist vor allem mit reaktiven Sauerstoffradikalen verbunden. Freie Radikale können mit oder ohne Beteiligung an pathophysiologischen Vorgängen auftreten, aber auch durch metallkatalysierte Elektronenübergänge. Im gesunden Körper ist es Teil einer „anti-oxidativen“ Strategie aerober Zellen, potentiell toxische Sauerstoffspezies und deren Derivate auf verschiedenen Stufen ihrer Entstehung zu hemmen oder zu beseitigen. Eine zentrale Rolle bei der Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies spielt das Enzym Superoxiddismutase (SOD) und die Katalase. Die SOD

beschleunigt die Dismutation von $O_2^{\bullet-}$ zu Wasserstoffsuperoxid, während die Katalase letzteres durch Disproportionierung wieder zerstört. Daneben haben kleine Moleküle Schutzfunktionen übernommen, dazu gehören insbesondere Ascorbinsäure (Vitamin C) und die Tocopherole (Vitamin E). Sehr viele Krankheiten werden mit der Entstehung freier Radikale in Verbindung gebracht. Hierzu gibt es gute Übersichtsartikel wie die von Halliwell & Gutteridge ^[71] oder Freeman et al. ^[72]. Die zweibändige Monographie von Elstner ^[73] behandelt ausführlich die Zusammenhänge der biologischen Funktion des Sauerstoffs sowie der Entstehung von sauerstoffabhängigen Erkrankungen. Sowohl der Alterungsprozeß als auch das Auftreten von degenerativen Krankheiten und die Aufnahme von Carcinogenen mit Nahrungsmitteln ^[74] ist mit dem Auftreten freier O_2 -Radikale verbunden ^[75]. Mit der Nahrung aufgenommene Antioxidantien (Vitamin C, E, die Flavonoide (Vitamin P), etc.) spielen deshalb bei der Krankheitsvorbeugung eine große Rolle ^[76]. Zahlreiche Studien versuchen den Zusammenhang zwischen dem Vitamin E Verbrauch und dem Risiko von Herzkrankheiten bei Frauen ^[77a] und Männern ^[77b] aufzuzeigen. Eine Studie von Minotti et al. zeigte, daß Vitamin E eine erhöhte Isoprostanbildung bei Patienten mit Hypercholesterinämie hemmt ^[78]. In Ratten mit einer Vitamin E und Selen-defizitären Nahrungsaufnahme zeigte sich ein Anstieg der Isoprostanbildung ^[79]. Endotheliumzellen der Rinderaorta zeigten bei Selendefizit eine erhöhte Isoprostanbildung ^[80]. Auch die Vitamin C Aufnahme ^[81] wird im Zusammenhang mit dem Auftreten von raucherabhängigen Krankheiten untersucht.



Vitamin E

Sammelbegriff für die Tocopherole,
Bezeichnung meist für α -Tocopherol

R ^(I)	R ^(II)	R ^(III)	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	α - Tocopherol
CH ₃	H	CH ₃	β - Tocopherol
H	CH ₃	CH ₃	γ - Tocopherol
H	H	CH ₃	δ - Tocopherol
CH ₃	H	H	ϵ - Tocopherol
CH ₃	CH ₃	H	ζ - Tocopherol
H	CH ₃	H	η - Tocopherol

Mangelscheinungen: Störungen des Fettsäurestoffwechsels, Infertilität

Abbildung 2 Formeln natürlicher, fettlöslicher Antioxidantien

Da Rauchen oxidativen Streß für den Körper bedeutet, wird das Auftreten von Gefäßkrankheiten mit der Bildung von Isoprostanen in Verbindung gebracht ^[82]. Tatsächlich zeigt sich, daß Raucher einen deutlich erhöhten Gehalt an freien bzw. veresterten Isoprostanen im Blutplasma aufweisen ^[83]. Der Gehalt an Isoprostanen (frei bzw. verestert) beträgt in dieser Gruppe 242 ± 147 und 574 ± 217 pg/ml gegenüber einer Kontrollgruppe mit 103 ± 19 und 345 ± 65 pg/ml.

Die durch Alkohol oder Tetrachlormethan verursachten Leberschäden ^[84,85] verursachen im Tierversuch einen erhöhten Isoprostangehalt im Blutplasma. Raucher und Alkoholranke haben nachweislich ein deutlich erhöhtes Risiko, an Artherosklerose zu erkranken. Die Artherosklerose (Gefäßverkalkung), in deren Folge solche Krankheitserscheinungen wie Herzinfarkt, Schlaganfall und Raucherbein auftreten, trägt zu ca. 50 % zur Sterblichkeit in westlichen Industrieländern bei. Ein Artikel von Singh et al. ^[86] zeigt Zusammenhänge zwischen oxidativem Streß und Herzversagen auf. Zur Pathogenese der Artherosklerose ist ein hervorragender und illustrierter Übersichtsartikel erschienen ^[87].

Diabetes mellitus ist ein Risikofaktor, an Artherosklerose zu erkranken ^[88]. Hier zeigt sich bei *in vitro* Versuchen an glatten Gefäßmuskulaturzellen von Schweinen, daß in solchen Zellkulturen, die unter höherem Glucosegehalt kultiviert werden, eine höhere Produktion von $iPF_{2\alpha}$ -III (8-*iso*-PGF_{2 α}) auftritt ^[89].

Als eine der Hauptursachen der Artherosklerose wird ox-LDL angesehen ^[90]. OX-LDL (oxidiertes low-density-lipoprotein) ist die durch die Einwirkung von reaktiven Sauerstoffstoff- und Stickstoffspecies entstandene Form des LDL ^[91,92]. LDL selbst ist eines von fünf Lipoproteinen, die nach ihrer Dichte und ihrem elektrophoretischem Verhalten eingeteilt werden. Die Bildung von nicht-COX-abhängigen Isoprostanen im Blutplasma und im LDL nach oxidativem Streß wurde *in vitro* ^[93] und im Tierversuch ^[94] gezeigt. Die durch Sauerstoff- und andere Radikale (NO-Radikal) ^[95] aber auch durch Metallionen ^[96] verursachte LDL-Oxidation bewirkt eine erhöhte Bildung von Isoprostanen. Menschen mit artherosklerotischen Gefäßveränderungen weisen ebenso erhöhte Isoprostanspiegel auf ^[97]. Dagegen wirken sich Antioxidantien, wie Hydroxytyrosol (3,4-Dihydroxyethanol), das als natürlich vorkommender Oxidationshemmer z. B. in Olivenöl vorkommt, oxidationshemmend auf LDL aus ^[98]. Der Gehalt an Antioxidantien (Vitamin C, E) im LDL wird als wichtiger Parameter bei Erkrankung an Artherosklerose u. ä. diskutiert.

Eine wohl etablierte klinische Behandlungsmethode, die Dextran-Sulfat LDL-Apherese Behandlung, wird bei schwerer Hypercholesterinämie (erhöhter Serumgehalt an Cholesterin; gilt als Risikofaktor an Artherosklerose zu erkranken) angewendet, um eine schnelle Verbesserung des Patientenzustandes zu erreichen. Obwohl der genaue Wirkungsmechanismus dieser Behandlung in Fachkreisen kritisch diskutiert wird, kann zumindest der Lipoproteingehalt deutlich gesenkt werden. Während der klinischen Anwendung konnte an Patienten beobachtet werden, daß die Oxidierbarkeit des Patienten LDL nach der Behandlung stark gesunken war, eine Senkung des Isoprostangehaltes aber nicht nachgewiesen werden konnte ^[99].

Beim Hepatorenal-Syndrom, einer meist tödlich verlaufenden Krankheit mit akutem Leber- und Nierenversagen unbekannter Ursache konnte gezeigt werden, daß Isoprostane in einem deutlich erhöhten Gehalt auftreten (113 ± 30 pg/ml gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe 19 ± 7 pg/ml) ^[100]. Die gebildeten Isoprostane sind wahrscheinlich nicht das Produkt einer reduzierten

Leber- oder Nierenausscheidung, scheinen aber zumindest die Ausscheidungsleistung der Niere herabzusetzen.

Bei einer Acetaminophen-Vergiftung (Schmerzmittel Paracetamol®) infolge von Überdosierung tritt ein zum Hepatorenal-Syndrom ähnliches klinisches Bild auf. Da bei der Metabolisierung von Acetaminophen als reaktives Zwischenprodukt N-Acetyl-p-benzochinonimin nachgewiesen wurde ^[101], das nach Michael-Addition einer freien Thiolgruppen dazu beiträgt, daß Enzyme irreversibel gehemmt werden, nimmt man an, daß auch dessen Bildung in einem SET-Mechanismus unter Mitwirkung von Radikalen erfolgt. Man findet bei diesen Patienten einen deutlich erhöhten Isoprostangehalt, der nach intravenöser Gabe von exogener SOD um ca. 50 % sinkt. Die intravenöse Gabe von Acetylcystein als Thiolspender wirkt sich deutlich verbessernd auf den Patientenzustand aus ^[102].

Bei der Amyotrophen Lateralsklerose, eine neurodegenerative Krankheit die innerhalb 3 bis 5 Jahren zum Tode führt, ist als molekulare Ursache eine (zumindest bei der familiären Variante genetisch verursachte) Fehlfunktion der Zn/Cu-SOD ausgemacht worden. Als Folge davon treten gehäuft Radikale auf, die durch den verursachten oxidativen Streß zum Zellsterben führt. Oxidativer Streß ist auch die Ursache anderer neurodegenerativer Krankheiten wie Alzheimer'sche Erkrankung, Parkinsonismus und Huntington'scher Krankheit ^[103]. Es wurde deshalb angenommen, daß im Gehirngewebe erkrankter Menschen Isoprostane nachgewiesen werden können. Im Gehirn sind erhöhte Mengen an 5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure (20:5, ω -3, **8**) aber auch Docosahexaensäure (22:6, ω -3) vorhanden. Änggård konnte nachweisen, daß aus **8** durch Radikalcyclisierung auch F₃-Isoprostane gebildet werden ^[104]. Es wurde die *in vivo* Bildung Isoprostan-ähnlicher Produkte aus Docosahexaensäure (für C-22 Isoprostane wird der Begriff Neuropropane vorgeschlagen) in der Gehirnflüssigkeit nachgewiesen ^[105]. Alzheimer Patienten wiesen einen deutlich erhöhten Gehalt auf (110 ± 12 pg/ml gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe mit 64 ± 8 pg/ml). Die aus Docosahexaensäure gebildeten F₄-Isoprostane könnten als spezifischer Marker für neurodegenerative Krankheiten dienen ^[106]. Da solche Befunde sehr neu sind, kann eine Bewertung im Zusammenhang mit dem Auftreten dieser Krankheiten nicht gegeben werden.

Neben den genannten Zusammenhängen zwischen dem Auftreten bestimmter Krankheiten und dem Isoprostangehalt ist die Entdeckung der Isoprostane vor allem als verlässlicher Parameter des *in vivo* vorherrschenden oxidativen Stresses bedeutsam. Die bisherigen klinischen Methoden beruhen auf der Messung von konjugierten Dienen, des TBARS (Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen) Tests, der Messung des Aldehyd-Gehaltes, des Fettsäuregehaltes in LDL oder der iodometrischen Bestimmung von Lipidperoxiden u. a.. Die am häufigsten angewandte Methode ist die Messung von konjugierten Dienen. Dieser Test vereint einfache Durchführung bei geringem apparativen Aufwand und bester Aussagekraft. Vor- und Nachteile der Test sind bei Jialal

diskutiert ^[92]. Mit Entdeckung der Isoprostane wurden Methoden entwickelt, um eine verlässliche Aussage über den oxidativen Streß *in vivo* zu erlauben. Von Nachteil ist allerdings der hohe apparative Aufwand dieser Methode und die Möglichkeit der Verfälschung bei entsprechend unvorsichtiger Bereitung oder Lagerung der Untersuchungslösungen. Mehrere Arbeitsgruppen widmen sich der Quantifizierung und Verbesserung in der Messung der Isoprostane als Index des oxidativen Stresses *in vivo* ^[107,108,109,110,111]. Neue Möglichkeiten, oxidative Veränderungen zu erfassen, sind bei FitzGerald diskutiert ^[112]. Ein Übersichtsartikel von Zwart et al. befaßt sich mit dem Nachweis von Biomarkern als Folge von oxidativen Streß ^[113].

Von Morrow & Roberts sind inzwischen umfassende Übersichtsartikel über die Bildung und Wirkung von Isoprostanen erschienen ^[114]. Die Firmen Cayman Chemical ^[115] und Oxford Biomedical Research Ltd. ^[116] bieten seit Kurzem auch immuno-assays zur Quantifizierung von Isoprostanen an.

Selbst in Pflanzen werden Dinor-Isoprostane gefunden, die durch Radikalcyclisierung von α -Linolensäure (**5**) entstehen ^[117].

1.8. Synthese von 12-iso-Carbaprostacyclinen – Konzept und Zielsetzung

Nahezu alle Prostaglandine werden im Gewebe schnell zu physiologisch inaktiven Substanzen metabolisiert (Übersicht zum PG-Metabolismus z. B. ^[5b]). Die chemische Instabilität ist besonders ausgeprägt für Prostaglandine vom E-Typ, die basen- oder säurekatalysierte Umlagerungen oder Eliminierungen zu Prostaglandinen vom A- bzw. B-Typ geben. Diese Instabilität schränkt die therapeutische Anwendung ein.

Beim Prostacyclin PGI₂ (**10**) ist der Wunsch nach therapeutischer Anwendung aufgrund der gewünschten vasodilatorischen Wirkung besonders groß. Allerdings sind wegen der hohen chemischen und physiologischen Instabilität von PGI₂ einer Anwendung sehr enge Grenzen gesetzt. Als Grund der Instabilität gilt die Enolethereinheit ^[118] und die Anwesenheit der Carboxylgruppe ^[119]. Deshalb begann man schon bald nach seiner Entdeckung mit der Synthese von chemischen Derivaten, die stabiler sein und eine therapeutische Anwendung ermöglichen sollten. Durch Ersatz der Enolethereinheit durch andere Atomgruppierungen wurden eine Vielzahl von künstlichen, chemischen Analoga geschaffen ^[120].

Stabiler als PGI₂ sind z. B. 9(O)-Thiaprostacyclin (**25**), für das Synthesen von Nicolaou ^[121] und Ikegami ^[140] entwickelt wurden und ähnliche vasodilatorische Eigenschaften besitzt ^[122]. Deutlich stabiler sind Carbaprostacyclin (**26**) und Isocarbacyclin (**27**) ^[123]. Carbacyclin (**26**) besitzt zwar nur ca. 3 % der Wirkpotenz von PGI₂ z. B. im Plättchenaggregationstest ^[124] (vgl. hierzu Kapitel V,

Seite 215), doch ist es immer noch wirksam genug, um eine therapeutische Anwendung zu ermöglichen. Strukturelle Veränderungen zeigten, daß z. B. auch 13,14-Dehydroprostacyclin (**28**) ein wirksamer Plättchenaggregationshemmer ist ^[125]. Deshalb wurden auch Prostaglandine und Carbacycline in der ω -Seitenkette chemisch verändert ^[126]. Zusätzliche Veränderungen in der ω -Seitenkette verhindern einen schnellen enzymatischen Abbau.

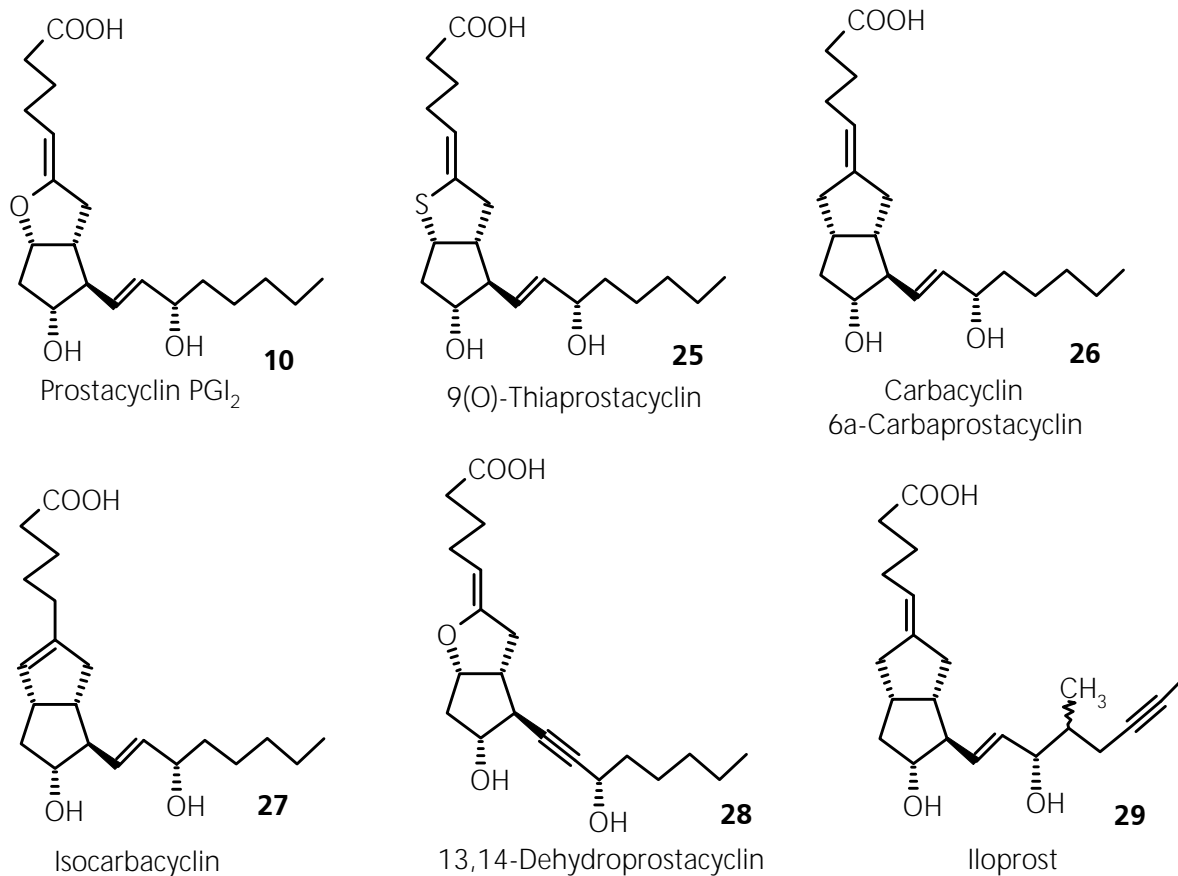


Abbildung 3 Formeln künstlicher Prostacyclin und Carbacyclinderivate

Solche chemischen Veränderungen haben bei der Schering AG zur Entwicklung des Medikamentes Iloprost® (**29**) geführt, das bei ischämischen Herzkrankheiten und peripheren Gefäßkrankheiten angewendet wird. Der therapeutische Einsatz von Iloprost dient der Verbesserung der Durchblutung bei arteriellen Gefäßverengungen und beim Raynaud-Syndrom. Letzteres ist ein durch Vasokonstriktion verursachter ischämischer, meist anfallsweise und an den Arterien der Finger auftretender Zustand, der sich durch Ischämie (Blässe), dann auch Zyanose und schmerzhafter Hyperämie äußert. (Übersicht zur Synthese von therapeutisch wichtigen Prostaglandin- und Prostacyclin-Analoga ^[127], Übersicht zur Synthese von PGI₂ und synthetischer Analoga ^[128,129]).

Die Strukturanforderungen der meisten Prostacyclinanaloga erfordern für Ihre Wirksamkeit folgende Bedingungen:

- Die Δ^5 -Bindung sollte, sofern ungesättigt, E-Konfiguration aufweisen
- Die Hydroxylgruppe an C-11 sollte α -Konfiguration aufweisen, wenn F- oder I-Typ Eigenschaften gewünscht sind
- Die ω -Seitenkette muß in β -Anordnung und *trans*-Stellung zur α -Seitenkette am Cyclopentanring stehen
- Die Δ^{12} -Bindung sollte wegen gewünschter Metabolisierungseigenschaften ungesättigt sein
- Die Hydroxylgruppe an C-15 muß α -Konfiguration (15S) aufweisen

Für Übersichten bezüglich Struktur-Wirkungs-Beziehungen an Prostaglandinen siehe ^[5c,130].

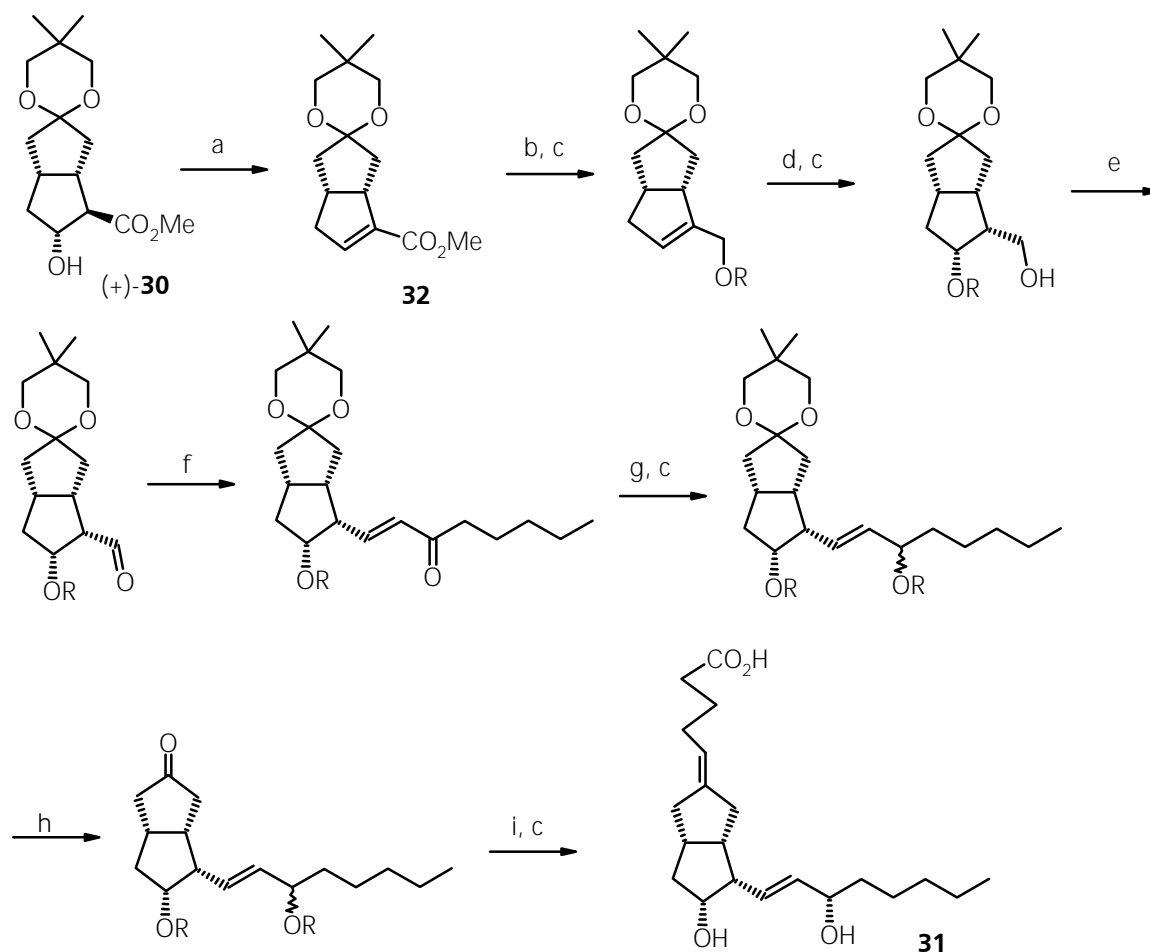
Ziel dieser Arbeit war es, Synthesemöglichkeiten zu Carbacyclinen aufzuzeigen, die sich strukturell von den herkömmlichen Carbacyclinen in der Stellung der ω -Seitenkette am Cyclopentanring unterscheiden. Die gewünschten Strukturen sollen *cis*-Anordnung der Seitenketten am Cyclopentanring aufweisen und sind bezüglich des Stereozentrums an C-12 epimer zu herkömmlichen Prostaglandinen. Zugänge zu dieser Stoffklasse sind nur wenige bekannt und in Kapitel II.2 aufgezeigt. Als Nachteil herkömmlicher Synthesen sind vor allem die geringe Effizienz und die hohen Kosten zu erwähnen, die mit dem stöchiometrischen Einsatz von Palladiumsalzen verbunden sind.

Die Synthese sollte von leicht verfügbaren Vorstufen beginnen, deren Bereitstellung in größeren Mengen gewährleistet ist.

Die folgenden beiden Synthesekonzepte wurden erarbeitet:

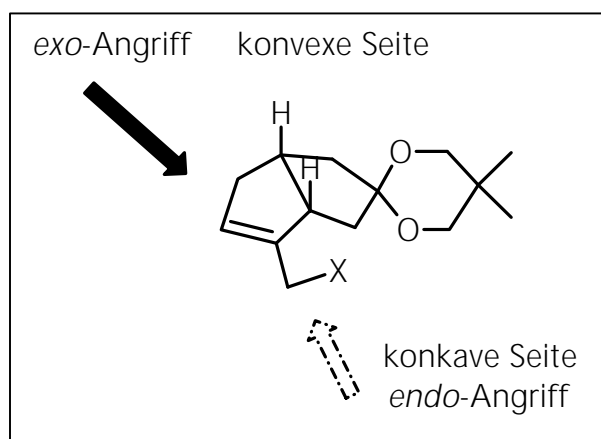
Das Konzept (I) startet vom Synthesebaustein (+)-**30**, der bei der Schering AG in größeren Mengen zur Synthese des Medikamentes Iloprost® und anderer Carbacycline mit natürlicher Konfiguration an den Seitenketten in größeren Mengen in enantiomerenreiner Form hergestellt wird (zur Synthese von (+)-**30** siehe Schema 19 und Schema 20). Das Konzept (I) beruht auf der Konfigurationsinversion an C-12 und kann somit als Umkehrung früherer Prostaglandinsynthesen angesehen werden, bei denen eine Inversion der Konfiguration an C-12 teilweise bewußt eingeplant wurde, sofern Zwischenstufen mit 12α -Konfiguration auftraten. Die 12α -Konfiguration der ω -Seitenkette ist thermodynamisch ungünstig und unterliegt einer schnellen Epimerisierung zur stabileren 12β -Konfiguration. In Folge der *trans*-Anordnung von C-11-Hydroxylgruppe und dem Wasserstoffatom an C-12 bei 12α -Konfiguration tritt als weiterer Nachteil die leicht erfolgende Wassereliminierung auf.

Eine Epimerisierung an C-12 kann erfolgen, wenn eine Carbonylgruppe in α -Stellung zum Stereozentrum auftritt. Frühere Prostaglandinsynthesen, bei denen derartige Epimerisierungen unter Nutzung einer Carbonylgruppe an C-13 durchgeführt wurden, sind in Kapitel II.3.



allgemeine Angaben zu Reaktionen: a) H_2O -Eliminierung; b) Reduktion; c) Hydroxylschutzgruppenmanipulation; d) Hydroborierung; e) Oxidation; f) Horner-Wadsworth-Emmons-Olefinierung; g) Reduktion; h) Entketalisierung; i) Wittig-Reaktion;

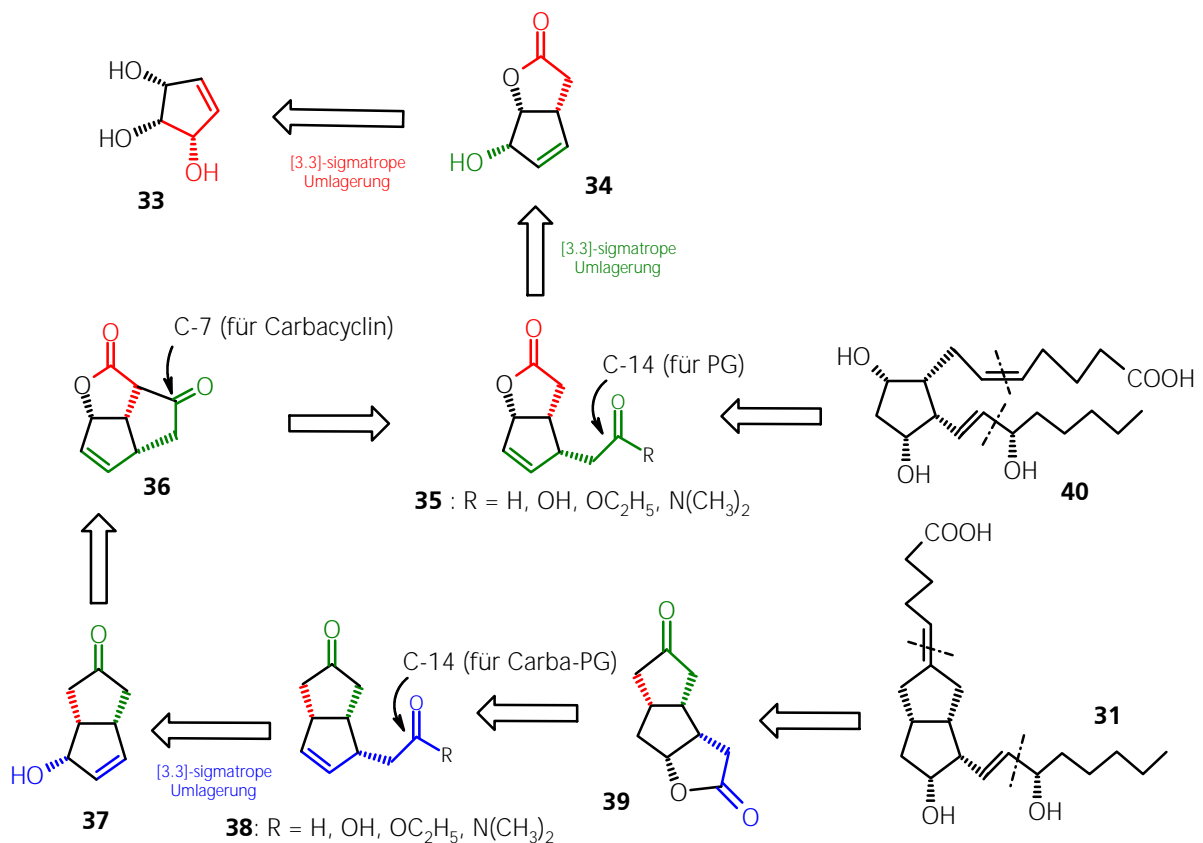
Schema 8 Synthesepfad des all-cis-Carbacyclins 31



Durch Angriff eines Reagenzes (hier BH_3) von der sterisch weniger gehinderten Seite (exo-Angriff von konvexer Seite), werden hohe Anteile der Stereoisomere mit 12α -Konfiguration gebildet. Die Funktionalisierung der $\Delta^{11,12}$ -Doppelbindung gelingt unter Ausnutzung des open-book-Struktur des bicyclischen Gerüsts. Die Anbringung der unteren ω -Seitenkette sollte nach herkömmlichen Methoden der Prostaglandinchemie durch Horner-Wadsworth-Emmons-Olefinierung erfolgen. Ist die Konfiguration an C-12 eingestellt, so kann die Anbringung der oberen α -Seitenkette mit konventionellen Methoden (z. B. Wittig-Reaktion) erfolgen.

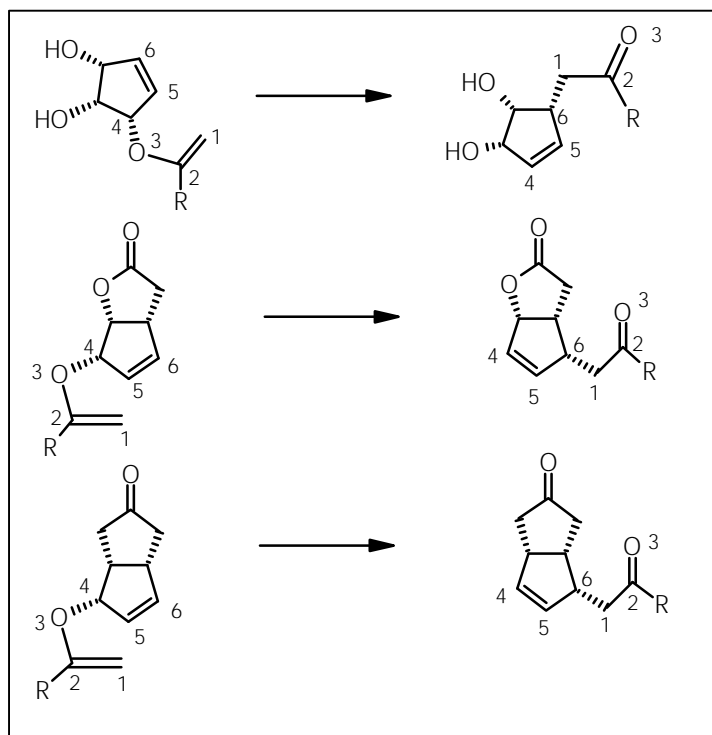
thoden der Prostaglandinchemie durch Horner-Wadsworth-Emmons-Olefinierung erfolgen. Ist die Konfiguration an C-12 eingestellt, so kann die Anbringung der oberen α -Seitenkette mit konventionellen Methoden (z. B. Wittig-Reaktion) erfolgen.

Synthesekonzept (II) (Schema 9) kann die mit Konzept (I) verbundenen Schwierigkeiten (Epimerisierung, Eliminierung) umgehen, da die Anbringung der ω -Seitenkette nicht über eine Carbonylgruppe an C-13 erfolgen soll. Es ist eine Homologisierung um ein C-Atom vorgesehen. Damit ist C-14 bei Anbringung der restlichen ω -Seitenkette involviert, eine Epimerisierung an C-12 kann verhindert werden. Diese Ansprüche erfüllen die Essigsäurederivate **35** und **38**, die durch [3.3]-sigmatrope Umlagerung aus den Allylalkoholen **34** und **37** hergestellt werden können. [3.3]-sigmatrope Umlagerungen sind teilweise zum Aufbau entsprechender Synthone in bisherigen Prostaglandinsynthesen angewandt worden (siehe hierzu Kapitel II.1 und III.12). Die retrosynthetische Betrachtung zeigt, daß dieser Syntheseweg dazu geeignet sein könnte, sowohl Prostaglandine, epimere Prostaglandine als auch Carbacycline aufzubauen.



Schema 9 retrosynthetisches Konzept (II) zum Aufbau von 12-iso-Prostaglandinen und 12-iso-Carbacyclinen aus dem Cyclopententriol 33

Kern des Synthesekonzeptes (II) ist eine dreifache [3.3]-sigmatrope Umlagerung, die sich durch die jeweils nacheinander entstehenden allylischen Systeme anbietet. Da eine sigmatrope Umlagerung unter Stereokontrolle abläuft, bietet dieser Zugang den vollständig stereokontrollierten Aufbau der meisten Stereozentren an.



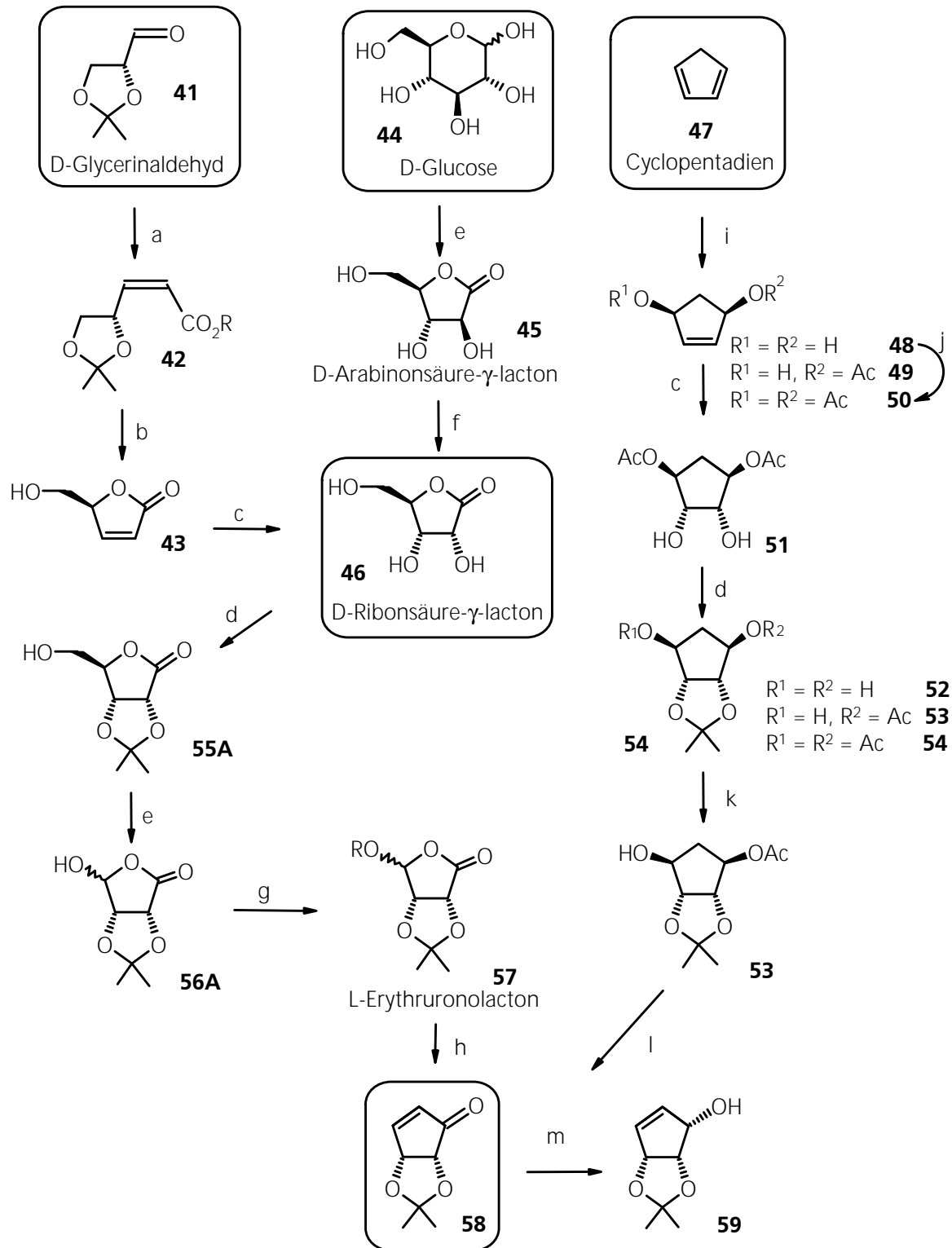
Die Bezeichnung einer [3.3]-sigmatropen Umlagerung als {m,n}- (hier {4,6}-) Umlagerung ^[131b] kann nach Ziegler ^[131b] angewandt werden, wenn die beteiligten Atome Teil eines Ringsystems sind. Die Zahlen beschreiben, wie viele Ringatome Teil des pericyclischen Systems sind. Die Kohlenstoffatome des pericyclischen Systems, von denen eines auch die an den Ring zu heftende Kette trägt, werden nach Ziegler in der Form {m,n;o,p;...} angegeben. Die erste Ziffer nennt das Atom, an dem die Kette vor der sigmatropen Umlagerung hing,

die zweite Ziffer, das Atom, an dem sich die Kette nach der Umlagerung befindet. Bei mehreren beteiligten Ringsystemen werden auch die beteiligten Atome des zweiten Rings angegeben (Übersichten zu [3.3]-sigmatropen Umlagerung siehe ^[131,132,133,134, 135]).

In Schema 9 treten als Schlüsselbausteine die Allylalkohole **33**, **34** und **37** auf, **34** und **37** sind dabei auch aus dem Allylalkohol **33** zugänglich. Der für diese Synthese notwendige Startbaustein, das Cyclopententriol **33**, kommt natürlich als C-2-Epimer in *Ceratiosicyos laevis* vor ^[136]. Sowohl **33** als auch sein C-2-Epimer sind *meso*-Formen. Es sind einige Synthesen dieser Cyclopententriole mit diversem Schutzgruppenmuster beschrieben. Diese Synthesen nutzen Cyclopentadien (**47**) als billiges Startmaterial. Nachteil der meisten Synthesen ist die geringe Stereoselektivität mit der das Cyclopententriol aufgebaut werden kann.

Im folgenden Syntheseplan sind deshalb Möglichkeiten der stereoselektiven, geplanten Synthesen von **33** aufgezeigt. **33** wiederum ist durch Reduktion des Enons **58** zugänglich. Es war deshalb vorrangiges Ziel, den zentralen Baustein **58** darzustellen. Durch entsprechende Differenzierung der Hydroxylgruppen in **33**, z. B. durch Schutz vincinaler Hydroxylgruppen, ließe sich **58** bzw. **59** auch in enantiomerenreiner Formen gewinnen.

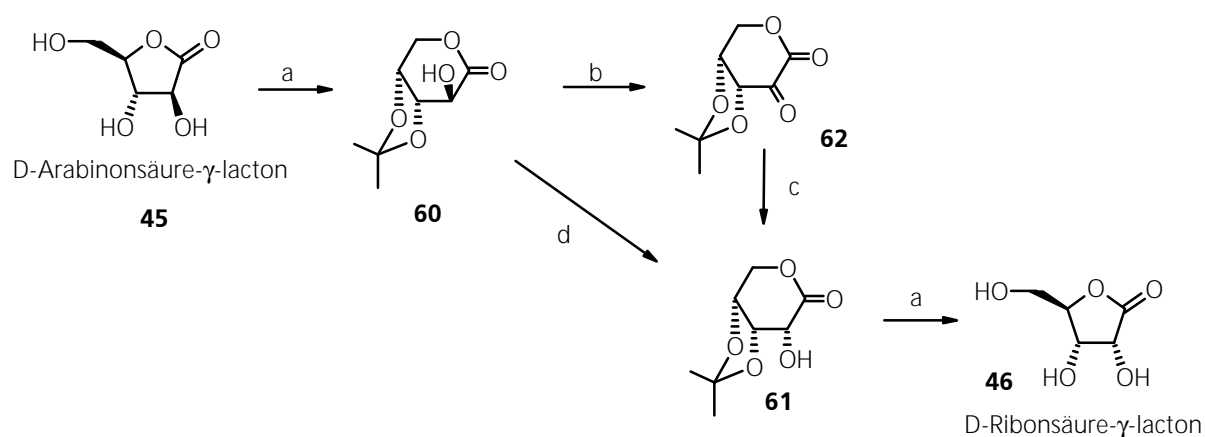
Der enantiomerenreine Aufbau entsprechend geschützter Derivate von **33** bzw. **58** gelingt durch enzymatische Methoden oder durch ex-chiral-pool Synthesen. Die Synthesemöglichkeiten von **33** bzw. **58** sind in Kapitel II.6.2 zusammengefaßt. Auch der möglichen Funktionalisierung von Cyclopentadien (**47**) ist wegen der Fülle der Arbeiten und der Bedeutung in der synthetischen organischen Chemie ein eigenes Kapitel II.5 gewidmet.



allgemeine Angaben zu Reaktionen: a) Homologisierung um 2 C-Atome; b) Lactonisierung; c) *cis*-Dihydroxylierung; d) Schutz der vincinalen Hydroxylfunktionen; e) oxidativer Abbau um ein C-Atom; f) Konfigurationsinversion an C-2; g) Glycosidierung; h) Cyclopentaanellierung durch Fujimoto-Belleau-Reaktion; i) oxidative 1,4-Addition; j) Acetylierung; k) selektive (z.B. enzymatische) Verseifung; l) oxidative Eliminierung; m) Reduktion;

Schema 10 Synthesepfad für das Cyclopentanon 58 bzw. Cyclopententriol 59

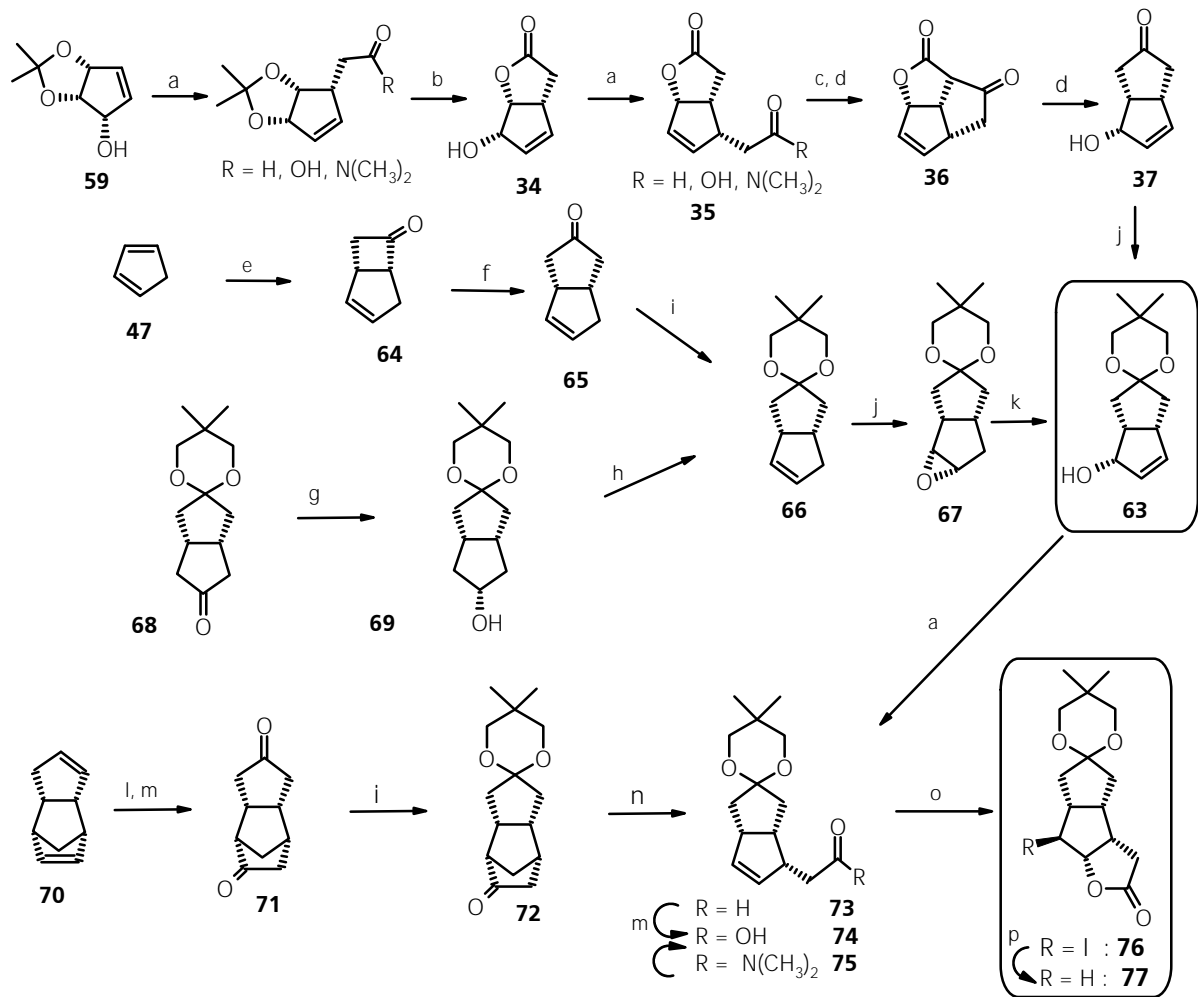
Einige der bekannten ex-chiral-pool-Synthesen von **58** starten von D-Ribonsäure- γ -lacton (**46**). Da **46** jedoch ein teurer chiraler Synthesebaustein ist, sollte dieser aus billigen Alternativen aufgebaut werden. Dazu könnte sich Glycerinaldehyd (**41**) oder D-Glucose (**44**) eignen. D-Glucose läßt sich einfach zu D-Arabinonsäure abbauen. Die Konfigurationsinversion der C-2 Hydroxylfunktion an D-Arabinonsäure- γ -lacton (**45**) ließe sich durch die in Schema 11 ange deutete Reaktionssequenzen erzielen. Diese Überlegungen münden in einer Oxidations-Reduktions-Sequenz oder direkten Konfigurationsinversion unter S_N2 -Substitution an C-2 der Aldopentonsäure.



allgemeine Angaben zu Reaktionen: a) Hydroxylschutzgruppenmanipulation; b) Oxidation; c) Reduktion; d) S_N2 -Substitution;

Schema 11 Synthesepfad für D-Ribosyl- γ -lactone aus D-Arabinonsäure

In Schema 12 schließlich ist die geplante Synthese mit allgemeinen Reaktionsbedingungen angegeben. Als zentrale Synthesebausteine tritt der Allylalkohol **37** bzw. dessen Ketal **63** auf, von denen bereits Literatursynthesen, beginnend von Cyclopentadien (**47**) als auch dem Monoketal **65** von Bicyclo[3.3.0]octan-3,7-dion (**86**) bekannt sind. Ein Schlüsselstellung nimmt auch der tricyclische Baustein **39** bzw. dessen Ketal **77** ein, für die bereits 1978 von Deslongchamps Synthesen aus Dicyclopentadien (**70**) veröffentlicht wurden^[137] (siehe Kapitel III.19, Seite 175). Die in Schema 12 angegebenen Syntheseschritte sind teilweise einfach und leicht in größerem Maßstab durchführbar. Die angestrebte konvergente Synthese des Lactons **77** aus den Startmaterialien **47**, **68** und **70** sollen den geplanten, linearen Zugang aus dem Cyclopententriol **33** bzw. dessen Ketal **59** ergänzen.



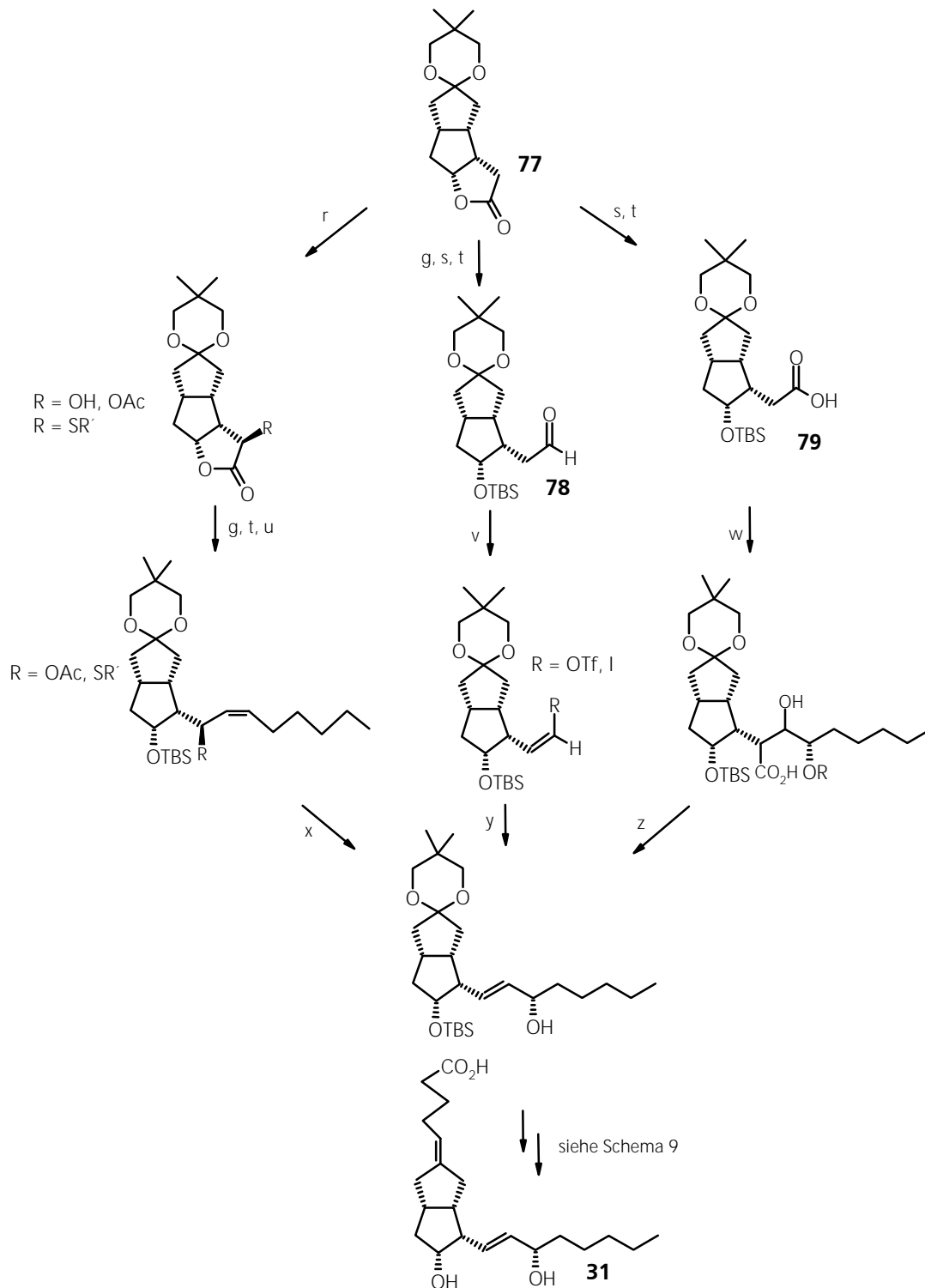
Schema 12A Synthesepfad für all-*cis*-Carbacyclin **31** über Deslongschamps' Lacton **77**

Als Fortsetzung von Schema 12A werden in Schema 12B Schritte vorgeschlagen, über die die angestrebte Synthese des all-*cis*-Carbacyclins **31** abgeschlossen werden könnte.

In der in Schema 12 angedeuteten Synthese treten Bausteine auf, die sehr vielfältig in anderen Synthesen genutzt werden könnten.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb:

- Die in Schema 8, Schema 10, Schema 11 und Schema 12 angedeutete Synthesesequenz auf ihre Durchführbarkeit zu überprüfen
- Die Bausteine der Synthese in enantiomerenreiner Form darzustellen (vorzugsweise der selben enantiomeren Reihe natürlicher Prostaglandine)
- 12-*iso*-Carbacycline zu synthetisieren, damit diese auf ihre biologische Wirkung untersucht werden können.



allgemeine Angaben zu Reaktionen: r) Enolat- α -Hydroxylierung (-Acetylierung) bzw. -Thiolierung; s) Lactol-/Lactonöffnung t) Hydroxylschutzgruppenmanipulation; u) Wittig-Reaktion; v) Enolat-Fixierung bzw. Pd-katalysierte Vinyljodid-Bildung; w) Aldoladdition; x) [3.3]- bzw. [2.3]-sigmatrope Umlagerung (Overman- bzw. Mislow-Umlagerung); y) Hiyama-Nozaki-Reaktion; z) reduktive Decarboxylierung;

Schema 12B - Fortsetzung Synthesepfad für all-cis-Carbacyclin 31 über Deslongschamps' Lacton 77