

dynamik-Simulationen mit MacroModel^[13] (Abb. 2), daß das D_2 -symmetrische Isomer **3** um 6 kcal mol⁻¹ stabiler ist als das C_{2h} -symmetrische **4**, was die ausschließliche Bildung von **3** erklären würde.

Der Rezeptor **1** ist sehr gut wasserlöslich (6 mg mL⁻¹, 3.0 mM) und aggregiert bei Konzentrationen kleiner 2.5 mM nicht nennenswert, wie ¹H-NMR-spektroskopisch mit Verdünnungsexperimenten bewiesen wurde. Diese relativ hohe kritische Aggregationskonzentration (CAC) ist zum Teil auf das Vorhandensein von vier peripheren CH₃O-Substituenten, welche die CAC-Werte auch anderer wasserlöslicher Cyclophane erheblich erhöhen^[14], zurückzuführen. Durch die Verknüpfung zweier Cyclophane **2** über zwei Acetylenbrücken nimmt die Tiefe des Hohlraums von ca. 5 Å in **2** auf ca. 11 Å in **1** zu (Abb. 2),

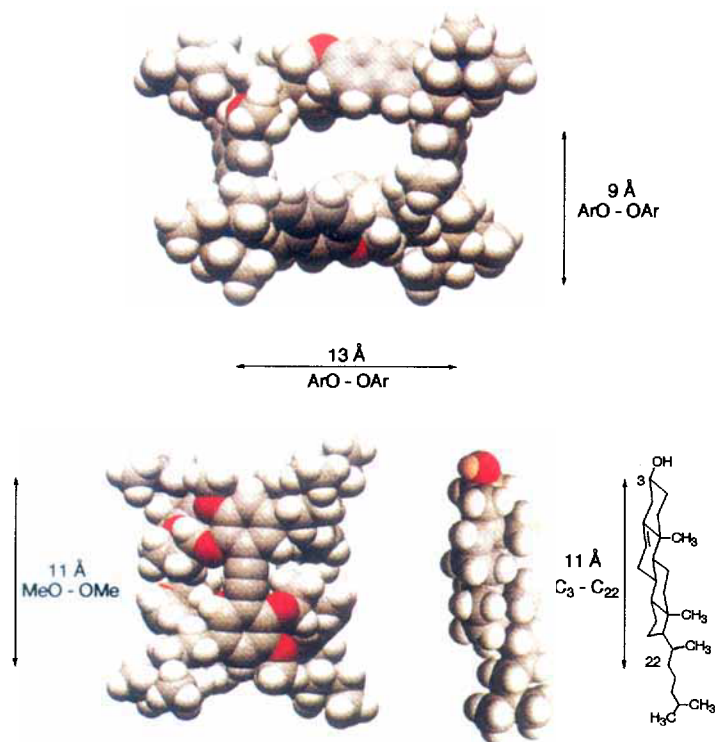


Abb. 2. Vergleich der energieminierten Strukturen von **1** (oben und unten links) und Cholesterin (unten rechts) [13]. Oben sind die Dimensionen der Hohlraumöffnung von **1** gezeigt (9 × 13 Å). Im unteren Teil ist die Tiefe des Hohlraums (11 Å) dargestellt, die ausreicht, um alle vier Ringe A–D eines axial ausgerichteten Cholesterinmoleküls sowie Teile der hydrophoben Seitenkette einzuschließen.

wodurch eine für den vollständigen Einschluß eines hydrophoben Steroids wie Cholesterin in axialer Richtung nahezu perfekte Umgebung entsteht sowohl in bezug auf die räumlichen Verhältnisse als auch auf die Hydrophobie. Bei einer Hohlraumöffnung von 9 × 13 Å können Steroide ohne nennenswerte sterische Hinderung in den Rezeptor eindringen.

Die Komplexierung der beiden in Wasser äußerst schwerlöslichen Steroide Cholesterin und Testosteron durch **1** in Wasser wurde mit der Fest-Flüssig-Extraktionsmethode^[15] untersucht (Tabelle 1). Die Löslichkeit von Cholesterin in reinem Wasser beträgt 4.7×10^{-6} M^[16]. Wird ein Überschuß an festem Cholesterin mit einer 1.0 mM Lösung von **1** in Wasser extrahiert, so kann eine Konzentration von 8.5×10^{-4} M an gelöstem Cholesterin erreicht werden. Dies entspricht einer durch die Komplexierung bedingten Erhöhung der Löslichkeit um den Faktor 190. Daraus ergibt sich für den Komplex **1** · Cholesterin in rei-

Tabelle 1. Assoziationskonstanten K_a und freie Bindungsenergien ΔG^0 der Steroidkomplexe von **1**; bestimmt durch Fest-Flüssig-Extraktion in H₂O bei 295 K [a].

Steroid	K_a [L mol ⁻¹]	$-\Delta G^0$ [b] [kcal mol ⁻¹]	Löslichkeit [M]
Cholesterin	1.1×10^6	8.2	4.7×10^{-6} [c]
Testosteron	6.8×10^4	6.5	8.3×10^{-5} [d]

[a] Siehe Experimentelles. [b] Daten aus Dreifach-Bestimmung. Reproduzierbarkeit der ΔG^0 -Werte: ± 0.4 kcal. [c] Lit. [16]. [d] Lit. [17].

nem Wasser eine Assoziationskonstante von $K_a = 1.1 \times 10^6$ L mol⁻¹ (295 K). Auch festes Testosteron wird durch Komplexbildung mit **1** in Wasser extrahiert; jedoch ist seine Affinität zum Rezeptor bei einer Assoziationskonstante von $K_a = 6.8 \times 10^4$ L mol⁻¹ wesentlich geringer. Dies kann ohne weiteres dadurch erklärt werden, daß das polarere Testosteron eine höhere Affinität zur wäßrigen Phase aufweist, was in seiner gegenüber Cholesterin höheren Wasserlöslichkeit zum Ausdruck kommt^[16, 17].

Eine detailliertere Untersuchung der Bindungseigenschaften von **1** gegenüber Steroiden wurde anhand von ¹H-NMR-Titrationen in CD₃OD, in dem sowohl die Steroide als auch deren Komplexe mit **1** in den entsprechenden Konzentrationsbereichen homogene Lösungen bilden, durchgeführt. Vergleichbar akkurate Messungen in D₂O waren aufgrund der langsamen Austauschprozesse und der geringen Löslichkeit der Steroide nicht möglich.

Obwohl der hydrophobe Effekt als Triebkraft für die Komplexierung in CD₃OD wesentlich schwächer als in D₂O ist^[18], bilden Cholesterin und seine Derivate **6a,b** sowie Testosteron **7a** stabile Komplexe mit **1** im organischen Lösungsmittel (Tabelle 2). Die relativ hohe Stabilität des Testosteronkomplexes in CD₃OD könnte durch günstige elektrostatische π - π -Wechselwirkungen zwischen der elektronenarmen α,β -ungesättigten Ketoneinheit in Ring A und den elektronenreichen Aryletherbausteinen der Hohlraumwände des Rezeptors erklärt werden^[19]. Weitere Untersuchungen ergaben, daß die Komplexe mit anderen Steroiden wesentlich schwächer sind. Der Vergleich der Komplexierungen von **6b** und **8** [$\Delta(\Delta G^0)_{6b-8} = 0.8$ kcal mol⁻¹] zeigt, daß die π -Bindung am C(5)-Atom des Steroidgerüsts wesentlich zur Komplexstabilität beiträgt. Es ist jedoch nicht geklärt, ob dieser Effekt eine Folge günstiger attraktiver Wechselwirkungen der polarisierbaren Olefingruppe mit dem Rezeptor ist oder auf unterschiedlichen räumlichen Anforderungen der beiden Gäste an den Hohlraum beruht. Im Gegensatz zu anderen Cyclophanen, die vorzugsweise aromatische Steroide binden^[9, 10], bildet der Rezeptor **1** nur einen schwachen Komplex mit **10**. Der Einfluß der aliphatischen Seitenkette auf die Komplexstabilität ist zwar deutlich erkennbar, aber klein [$\Delta(\Delta G^0)_{8-9} = 0.3$ kcal mol⁻¹]. Daraus geht hervor, daß dieser hydrophobe Rest nur teilweise in den Hohlraum von **1** eintaucht. Je polarer das Steroid ist, desto schneller nimmt die Affinität zum Rezeptor ab. Ein Vergleich der Komplexbildungskonstanten der Säuren **11a** und **11b** deutet darauf hin, daß schon eine einzige, stark solvatisierte OH-Gruppe am Steroidring B die Bildung stabiler Komplexe stark beeinträchtigt.

Die Untersuchungen zur Bindung von Steroiden durch **1** zeigen, daß dieser Rezeptor die nötige Affinität und Spezifität aufweist, um in bezug auf das Auflösen fester Cholesterin-Ablagerungen unter biologischen Bedingungen getestet zu werden. Auf diese Weise könnte eine neue, auf dem Einsatz synthetischer Rezeptoren beruhende Therapie gegen Arteriosklerose entwickelt werden.

Tabelle 2. Assoziationskonstanten K_a und freie Bindungsenergien $-\Delta G^0$, erhalten aus ^1H -NMR-Titrationsen für 1:1-Steroid-Komplexe des Rezeptors 1 in CD_3OD bei 298 K. Ebenfalls gezeigt sind die aus dem Titrationsverlauf abgeschätzten komplexierungsbedingten Änderungen der chemischen Verschiebung $\Delta\delta_{\text{est}}$ der CH_3 -Protonen (Position 18) bei der Sättigungskonzentration [a].

	Steroid	X	Y	Z	K_a [L mol $^{-1}$]	$-\Delta G^0$ [kcal mol $^{-1}$]	$\Delta\delta_{\text{est}}$ CH $_3$ (18)
	6a Cholesterylacetat	OCOCH $_3$			4800	5.0	1.95
	6b 5-Cholesten	H			3200	4.8	1.19
	6c Cholesterin	OH			1500	4.3	1.70
	7a Testosteron	OH	H	H $_2$	2100	4.5	1.69
	7b Cortison	COCH $_2$ OH	OH	O	150	3.0	2.16
	7c Hydrocortison	COCH $_2$ OH	OH	α -H, β -OH	110	2.8	0.60
	8 5- α -Cholestan				870	4.0	1.57
	9 5- α -Androstan				500	3.7	1.74
	10 β -Östradiol				390	3.5	2.04
	11a Lithocholsäure	H			310	3.4	0.57
	11b Chenodesoxycholsäure	OH			40	2.2 [b]	

[a] Die Assoziationskonstanten wurden anhand von 500 MHz- ^1H -NMR-Titrationsen durch nichtlineare Kurvenanpassung nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate bestimmt. Die Signale der diastereotopen Methylgruppen CH $_3$ (18) wurden nicht aufgelöst, und die gezeigten Assoziationskonstanten stellen einen Mittelwert für beide diastereomere Komplexe dar. Diese Näherung wird durch das Fehlen nennenswerter differentieller komplexierungsinduzierter Verschiebungen bei den diastereomeren Komplexen gerechtfertigt. Reproduzierbarkeit der K_a -Werte: $\pm 10\%$. [b] Geschätzter oberer Grenzwert.

Experimentelles

Bestimmung von K_a und ΔG^0 : Lösungen von 1 (1–2 mM) in H_2O wurden in Gegenwart eines Überschusses an festem Steroid während 45 min beschallt und anschließend 2 h zur Gleichgewichtseinstellung bei 295 K ruhen gelassen. Die erhaltene Suspension wurde nach Zentrifugieren über eine Celluloseacetat-Membran mit einer Porengröße von 0.45 μm filtriert. Nach Entfernen des Wassers im Wasserstrahlvakuum wurde CD_3OD zugegeben und der Anteil an extrahiertem Steroid durch Integration der ^1H -NMR-Signale ermittelt. Zur Berechnung von K_a siehe Lit. [15]. Die aufgelisteten Assoziationskonstanten stellen einen Mittelwert für die beiden diastereomeren Komplexe, die vergleichbare Stabilität zeigen, dar (siehe Tabelle 2).

Analytische Daten von 1: Schmp. 250–252 °C (Zers.); ^1H -NMR (500 MHz, CD_3SO_3 , 400 K, Numerierung der Atome in Formel von 3): δ = 1.22–1.33 (m, 24H, NCH_2CH_3), 1.92–2.05 (2 m, 16H, CH_2CH_2), 2.55–2.91 (br., 3 m, 16H, NCH_2CH_2), 3.13–3.52 (br., 5 m, 32H, NCH_2CH_2 , NCH_2CH_3), 3.88 (s, 12H, OCH_3), 4.08–4.14 (2 m, 16H, PhOCH_2 , NaphOCH_2), 6.87 (br. s, 8H, $\text{Ph H-C}(6)$), $\text{Ph H-C}(2)$), 7.06 (br. s, 4H, $\text{Naph H-C}(5)$), 7.14 (br. s, 4H, $\text{Naph H-C}(8)$), 7.21 (br. s, 4H, $\text{Naph H-C}(3)$), 7.39–7.48 (m, 8H, $\text{Naph H-C}(4)$, $\text{Naph H-C}(7)$), 7.49–7.63 (m, 4H, $\text{Naph H-C}(1)$); ^{13}C -NMR (125.8 MHz, CD_3OD , 300 K) δ = 7.27, 7.51, 7.83, 7.90, 26.90, 27.67, 29.82, 30.72, 44.61, 52.78, 56.85, 59.04, 68.68, 74.05, 91.16, 107.44, 112.88, 119.51, 120.44, 124.32, 125.24, 126.09, 129.01, 130.16, 130.75, 134.61, 141.68 (2 \times), 148.95, 154.51, 158.58. Matrix-assistierte Laserdesorptions-Flugzeitmassenspektrometrie (MALDI-TOF, Sinapinsäure): m/z : 2029 (M^+ , $\text{C}_{124}\text{H}_{148}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Cl}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), ber. 2024.98. Korrekte C,H,N-Analyse für $\text{C}_{124}\text{H}_{148}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Cl}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (2172.52).

Eingegangen am 6. April 1994 [Z 6829]

- [8] D. R. Carcanague, F. Diederich, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 836–838; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 769–771.
- [9] S. Kumar, H.-J. Schneider, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1989**, 245–250.
- [10] C. S. Wilcox, T. H. Webb, F. J. Zawacki, N. Glagovich, H. Suh, *Supramol. Chem.* **1993**, 1, 129–137.
- [11] B. R. Peterson, P. Wallimann, D. R. Carcanague, F. Diederich, *Tetrahedron*, im Druck.
- [12] K. C. Nicolaou, T. K. Chakraborty, A. D. Piscopio, N. Minowa, P. Bertinato, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4419–4420.
- [13] MacroModel V4.0; F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still, *J. Comput. Chem.* **1990**, 11, 440–467. Eine 500ps-Äquilibration der D_2 - und C_{2h} -Isomere 3 und 4 (AMBER*, 300 K, CHCl_3) wurde gefolgt von 200ps-Simulationsschritten bis zur Konvergenz der Gesamtenergien.
- [14] S. B. Ferguson, E. M. Seward, F. Diederich, E. M. Sanford, A. Chou, P. Inocencio-Szweda, C. B. Knobler, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 5593–5595.
- [15] F. Diederich, K. Dick, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 8024–8036.
- [16] M. E. Haberland, J. A. Reynolds, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1973**, 70, 2313–2316.
- [17] E. B. Kabasakalian, M. D. Yudis, *J. Pharm. Sci.* **1966**, 55, 642.
- [18] D. B. Smithrud, F. Diederich, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 339–343.
- [19] S. B. Ferguson, E. M. Sanford, E. M. Seward, F. Diederich, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 5410–5419.

- [1] M. S. Brown, J. L. Goldstein, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 579–599; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 583–602.
- [2] R. Ross, *Nature* **1993**, 362, 801–809.
- [3] A. Endo, *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 401–405.
- [4] H. R. Casdorph in *Lipid Pharmacology*, Vol. 2(2) (Hrsg.: R. Paoletti, C. J. Glueck), Academic Press, New York, **1976**, S. 222–256.
- [5] P. Claudy, J. M. Létoffé, P. Germain, J. Bastide, A. Bayol, S. Blasquez, R. C. Rao, B. Gonzalez, *J. Therm. Anal.* **1991**, 37, 2497–2506.
- [6] F. Djedaini, B. Perly, *J. Pharm. Sci.* **1991**, 80, 1157–1161.
- [7] H. Kawakami, O. Yoshino, K. Odashima, K. Koga, *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33, 5610–5613.