

Herstellung und Charakterisierung der Sulfamate von Estra-3,17 ξ -diolen. Schnelle Umsetzung von 16 α -Fluorestradiol zum 16 α -Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat

J. Römer* und J. Steinbach

Dresden, Forschungszentrum Rossendorf, Institut für Bioanorganische und Radiopharmazeutische Chemie

H. Kasch

Jena, Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung

D. Scheller

Dresden, Technische Universität, Institut für Organische Chemie

Received January 25th, 1999, respectively June 28th, 1999

Keywords: Fluorine, Steroids, Synthetic methods, Estradiols, Sulfamate

Preparation and Characterization of the Sulphamates of Estra-3,17 ξ -diols. Rapid Conversion of 16 α -Fluoroestradiol into 16 α -Fluoroestradiol-3,17 β -disulphamate

Abstract. Estradiols are able to form two monosulphamates and one disulphamate. In the present work all the sulphamates of 17 α -estradiol, 17 β -estradiol and 16 α -fluoroestradiol were synthesized and characterized. For characterization NMR spectroscopy was used first of all. Because of its high sulphatase inhibitory efficiency 16 α -fluoroestradiol-3,17 β -disulphamate found a special interest among the new sulphamates. Just the binding between sulphamate and

sulphatase favoured 16 α -[18 F]fluoroestradiol-3,17 β -disulphamate to a new radio-pharmaceutical which should be appropriate to image the active sites of sulphatase by positron emission tomography. The preparation of 16 α -[18 F]fluoroestradiol-3,17 β -disulphamate requires a simple and rapid procedure. The conditions for such a procedure were also elaborated using non-radioactive substances.

Sulfamate von 3-Hydroxy-estra-1,3,5(10)-trienen waren erstmals in den siebziger Jahren Gegenstand von Publikationen [1–4]. Jene Untersuchungen hatten das Ziel, die orale Verfügbarkeit natürlicher und synthetischer Steroide für die Kontrazeption zu verbessern.

Bemerkenswerte Erkenntnisse rückten diese Verbindungsklasse in jüngster Vergangenheit wieder in den Blickpunkt. So wurden von Reed *et al.* [5] die Steroidsulfatasehemmende Wirkung und von Elger *et al.* [6] eine verbesserte Bioverfügbarkeit und Wirkungsverstärkung von Estrogensulfamaten festgestellt. Bei oraler Gabe wurde eine verminderte Metabolisierungsrate ermittelt [6].

Da Steroidsulfatase in entzündeten Geweben und vor allem in Krebszellen überdimensional angereichert wird, eröffnen diese Erkenntnisse neue Wege für die Therapie und Prävention, z.B. bei der Krebsbekämpfung von Mammatumoren [5], bei der Substitutionstherapie [6] und der oralen Kontrazeption mittels Estrogenen [7].

Es wurden eigene detaillierte Untersuchungen zur Estrogenität und Sulfatasehemmwirkung von Estrogensulfamaten durchgeführt. Darin wurde gezeigt, daß Verbindungen vom Typ des Estradiol-disulfamats und des 16-Halogen-estradiol-disulfamats stärkere Sulfatasehemmung aufweisen als alle bisher bekannten Sulfataseinhibitoren und darüber hinaus

keine estrogene Wirkung besitzen [8]. Diese wertvolle Kombination beeinflusste die weitere Forschungsarbeit.

Die Diagnose von Tumorerkrankungen und deren Therapiekontrolle ist die Hauptaufgabe der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) [9]. In erster Linie sind es 18 F-markierte Fluorverbindungen, vor allem 2-[18 F] Fluor-2-desoxy-D-glucose, die in diesem modernen Verfahren als Radiotracer dienen. Speziell 16 α -[18 F]Fluorestradiol erwies sich als geeignetes Radiopharmakon zur Diagnose von Brusttumoren [10]. Beide Tracer werden im PET-Zentrum Rossendorf regelmäßig hergestellt und in der Forschung eingesetzt.

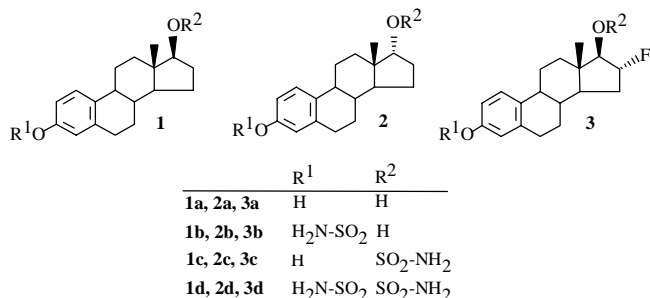
Auch 16 α -Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat gehörte zu den von uns gefundenen höchst wirksamen Sulfatasehemmstoffen. In 18 F-markierter Form sollte es die Fähigkeit besitzen, Orte hoher Sulfataseaktivität der PET-Untersuchung zugänglich zu machen.

Die Produktion von 16 α -[18 F]Fluorestradiol erfolgt in einem automatisch arbeitenden Modul [11]. Der Zeitbedarf beträgt knapp eine Stunde. Um zum 16 α -[18 F] Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat zu gelangen, muß eine Sulfamatierungsreaktion angeschlossen werden. Diese Sulfamatierungsreaktion galt es, in modulierbarer Weise auszuarbeiten.

Die Sulfamatierung eines Hydroxysteroids erfordert Sulfamidsäurechlorid (H_2N-SO_2-Cl , SSCI) als Reagenz [12]. Die

Verwendung von SSCI zur Synthese von Sulfamidsäurealkyl- und -arylestern in Phasentransfer-Methoden wurde von Spillane *et al.* [13] beschrieben. Die Autoren untersuchten übliche Flüssigphasensysteme, aber auch solche, in denen festes Na₂CO₃ statt der wäßrig-alkalischen Phase vorgelegt worden war. Die Ausbeute betrug etwa 80%. Zur Darstellung von Steroidsulfamaten wurde dieses Verfahren noch nicht angewendet. Howarth *et al.* [14], die als erste Estronatrium mit SSCI in Dimethylformamid (DMF) umgesetzt hatten, machten keine Angaben über Ausbeute und Reaktionsgeschwindigkeit. Schwarz und Elger [6, 7] arbeiteten Howarths Verfahren nach. Sie benötigten selbst mit überschüssigem Reagenz 4 h Reaktionszeit und wiesen auf die geringe Ausbeute hin. Als Methode der Wahl empfahlen sie die Umsetzung des 3-Hydroxy-estrogens mit 5 Äquivalenten SSCI in DMF ohne Zusatz jeglicher Base.

Bei Estradiolen sind jeweils drei Sulfamate denkbar. Abgesehen von Estradiol-3-sulfamat (**1b**) [7], ist ihre Herstellung bisher nicht beschrieben worden. Die vorliegende Arbeit befaßt sich daher mit der Synthese und den Eigenschaften von Estradiolsulfamaten und ferner mit der Suche von Bedingungen, die es erlauben, 16 α -Fluorestradiol in einer einfachen, schnellen Synthese mit hoher Ausbeute zum 16 α -Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat umzusetzen. Estradiol (**1a**), 17 α -Estradiol (**2a**) und 16 α -Fluorestradiol (**3a**) dienen als Ausgangsprodukte für die Synthese der Sulfamate **1b–1d**, **2b–2d** bzw. **3b–3d** (Schema 1).

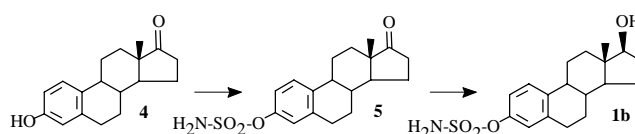


Schema 1 Syntheseweg zu Estradiol-3-sulfamat (**1b**) aus Estron (**4**)

Ergebnisse und Diskussion

1. Sulfamatierungen in Gegenwart von Na₂CO₃ als Deprotonierungsmittel

Zunächst wurden einige Sulfamatierungsvarianten [14, 15] mit Estron (**4**) als Modellsubstanz erprobt. Bei dessen Umsetzung entstand gemäß Schema 2 Estron-3-sulfamat (**5**). Reduktion mit NaBH₄ lieferte Estradiol-3-sulfamat (**1b**). Beide Sulfamate zeigten im UV ein charakteristisches Absorptionsmaximum bei 270 nm [2], welches sich für die Identifizierung ähnlich strukturierter 3-Amidosulfonyloxy-estra-1,3,5(10)-triene als sehr nützlich erwies.



Schema 2 Syntheseweg zu Estradiol-3-sulfamat (**1b**) aus Estron (**4**)

Howarth *et al.* [14] sulfamatierten **4** mit SSCI bei 0 °C in DMF. Diese Verfahrensweise erforderte hohen Reagensüberschuß und war sehr zeitaufwendig. Weil DMF wegen seines hohen Siedepunktes kein geeignetes Lösungsmittel für eine Anwendung in einer automatischen Apparatur darstellte, benutzten wir MeCN bzw. Dichlormethan und erprobten erstmals das Fest-/Flüssig-Phasentransferverfahren von Spillane [13]. Einige nach [14] nicht zugängliche 3-Amidosulfonyloxy-estra-1,3, 5(10)-triene ließen sich dadurch vorteilhaft synthetisieren [15]. Das Verfahren wurde für alle im Schema 1 genannten Sulfamate verwendet.

Die Sulfamatierung von Estradiolen nach dem gewählten Verfahren lieferte Produktgemische, die anschließend getrennt werden mußten. Dabei erwies sich die HPLC als die Methode der Wahl. Die Retentionszeiten (RT) für **1a**, **2a** bzw. **3a** und für die daraus gewonnenen Sulfamate sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Für **1a** wurde die größte Retentionszeit (RT = 12,9 min) gefunden. Sie wurde gleich 1 gesetzt. Alle anderen RT-Werte in Tabelle 1 wurden auf 12,9 min bezogen.

Zur Reinheitskontrolle der synthetisierten Sulfamate wurde neben der HPLC die Dünnschichtchromatographie (TLC) herangezogen. Die gefundenen R_F-Werte sind auch in Tabelle 1 erfaßt.

Sulfamate des Estradiols (**1a**)

Rühren einer Lösung von **1a** in wasserfreiem MeCN lieferte nach Zugabe der stöchiometrischen Menge SSCI und der doppelt stöchiometrischen Menge an wasserfreiem Na₂CO₃ schon nach kurzer Reaktionszeit bei Zimmertemperatur (ZT) drei Reaktionsprodukte (siehe Abb. 1a). Eines dieser Produkte war gegenüber den beiden anderen in der Ausbeute deutlich bevorzugt und erwies sich als das Estradiol-17 β -sulfamat (**1c**). Auf die bevorzugte Sulfamatierung der 17 β -OH-Gruppe von **1a** hatten schon Schwarz *et al.* [16] hingewiesen.

Die Regioselektivität der Sulfamatierung änderte sich mit der Reagenzmenge. Bei zehnfachem SSCI-Überschuß überwog erwartungsgemäß die Bildung von Estradiol-3,17 β -disulfamat (**1d**). Die Ausbeute an Estradiol-3-sulfamat (**1b**) blieb immer die niedrigste. Zur Gewinnung von **1c** in Substanzmengen von etwa 50 mg waren Reaktionsansätze von 100 mg **1a** und der dreifachen stöchiometrischen Menge an SSCI geeignet. Günstige

Tabelle 1 Schmelzpunkte, R_f -Werte, spezifische Retentionszeiten und Absorptionsmaxima für **1a–d**, **2a–d** und **3a–d**

Steroid	Fp. (°C)	R_f -Wert ^{a)}	RT(spez.) ^{b)}	UV _{max} (nm)
1a	177–179	0,27	1,000	284
1b	170–172	0,16	0,791	270
1c	158–161	0,29	0,729	282
1d	189–194	0,21	0,674	270
2a	223–226	0,30	0,922	284
2b	183–186	0,14	0,767	270
2c	^{c)}	0,28	0,721	282
2d	171–176	0,21	0,667	270
3a	199–202	0,32	0,775	284
3b	183–189	0,17	0,698	270
3c	141–143	0,27	0,698	282
3d	179–184	0,21	0,651	270

^{a)} Kieselgelplatten als Träger und Toluol/Ethylacetat (3:1) als Laufmittel ^{b)} $RT(\text{spez.}) = RT(\text{Steroid})/RT(\mathbf{1a})$ ^{c)} lagerte sich während des Erhitzens um und lieferte den Schmelzpunkt des Umlagerungsprodukts (siehe Abschnitt 3)

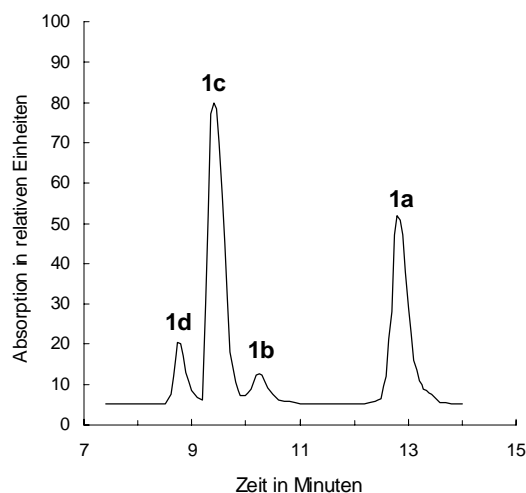


Abb. 1a HPLC-Aufnahme nach unvollständiger Sulfamierung von 17β -Estradiol (**1a**). Elutionsmittel: Acetonitril
1b – 17β -Estradiol-3-sulfamat
1c – 17β -Estradiol- 17β -sulfamat
1d – 17β -Estradiol-3, 17β -disulfamat

Bedingungen zur Darstellung von **1b** bot die Sulfamierung von **1a** nicht.

In einem Alternativverfahren zur Gewinnung von **1b** gemäß Schwarz und Elger [7] wurde das aus **4** bequem zugängliche **5** in Tetrahydrofuran/MeOH mit NaBH_4 reduziert. Die Reaktionsfolge ist im Schema 2 dargestellt und lieferte reines **1b**.

Die Retentionszeiten der Estradiolsulfamate stiegen in der Reihenfolge **1d** < **1c** < **1b** an. Die TLC ergab aber eine von den Retentionszeiten abweichende Reihenfolge für die R_f -Werte: **1b** < **1d** < **1c**.

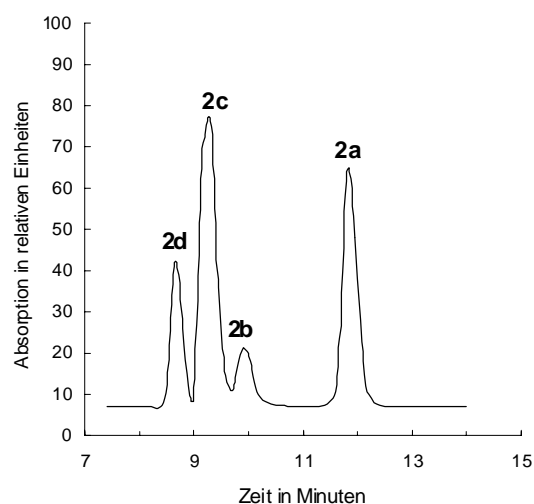


Abb. 1b HPLC-Aufnahme nach unvollständiger Sulfamierung von 17α -Estradiol (**2a**). Elutionsmittel: Acetonitril
2b – 17α -Estradiol-3-sulfamat
2c – 17α -Estradiol- 17α -sulfamat
2d – 17α -Estradiol-3, 17α -disulfamat

Sulfamate des 17α -Estradiols (**2a**)

Wenn man 17α -Estradiol (**2a**) unter oben genannten Bedingungen mit der stöchiometrischen Menge SSCI behandelte, erhielt man ebenfalls drei Reaktionsprodukte (Abb. 1b). Man erhielt auch ähnliche Regioselektivität (17α -Estradiol- 17α -sulfamat (**2c**) als Hauptprodukt, 17α -Estradiol-3-sulfamat (**2b**) als Minorkomponente) und gleiche Elutionsfolge **2d** < **2c** < **2b**. Überschüssiges SSCI ergab schon nach 1 h kräftigen Rührens quantitative Umsetzung von **2a** unter Bildung von **2c** und 17α -Estradiol-3, 17α -disulfamat (**2d**). Abweichende Be-

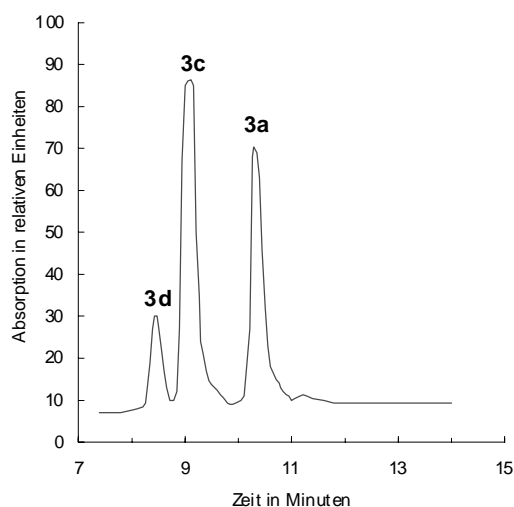


Abb. 1c HPLC-Aufnahme nach unvollständiger Sulfamierung von 16α -Fluorestradiol (**3a**). Elutionsmittel: Acetonitril
3c – 16α -Fluorestradiol- 17β -sulfamat
3d – 16α -Fluorestradiol-3, 17β -disulfamat

dingungen (beispielsweise Dichlormethan statt MeCN als Reaktionsmedium, höhere Temperatur, lange Reaktionszeit) lieferten außerdem ein unpolares Nebenprodukt mit $RT = 15,8$ min. Dessen Bildung blieb nur aus, wenn das Sulfamatieren in MeCN bei Zimmertemperatur durchgeführt wurde.

Während die Sulfamate von **1a** und auch **2b** und **2d** stabile Verbindungen darstellen, war **2c** temperaturempfindlich. Die Untersuchung zeigte, daß **2c** das gleiche, soeben erwähnte unpolare Nebenprodukt schon beim Stehen seiner Lösung an der Luft zu bilden vermochte.

TLC-Untersuchungen der drei Sulfamate von **2a** ergaben für die R_f -Werte ebenfalls eine von den Retentionszeiten abweichende Reihenfolge. Mit $2b < 2d < 2c$ glich die Reihenfolge jener der Sulfamate **1b–1d**. Die TLC zeigte ferner, daß das oben erwähnte Nebenprodukt auch auf der TLC-Platte ($R_f = 0,61$) sichtbar wird.

Die hohe Empfindlichkeit ließ es sinnvoll erscheinen, den Luftkontakt von **2c** zu vermeiden. Wir lagerten deshalb **2c** als MeCN-Lösung oder Feststoff unter Argon im Kühlschrank.

Sulfamate des 16 α -Fluorestradiols (**3a**)

Reines **3a** wurde nach einer Vorschrift von Lim *et al.* [17] hergestellt.

Die Sulfamatierung von **3a** schien zunächst nur zwei Produkte zu liefern (Abb. 1c). Es stellte sich aber heraus, daß 16 α -Fluorestradiol-3-sulfamat (**3b**) und 16 α -Fluorestradiol-17 β -sulfamat (**3c**) die gleiche Retentionszeit ($RT = 9,0$ min) besaßen.

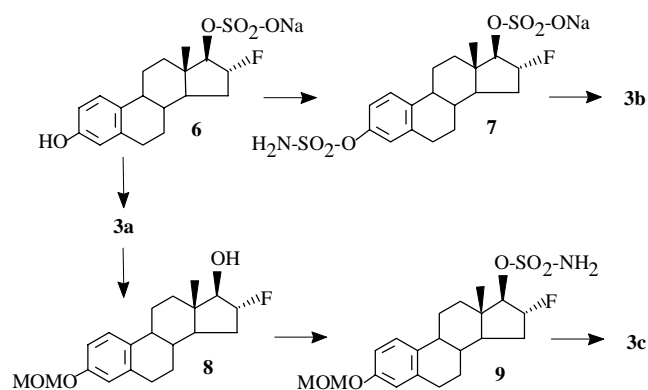
Einige Optimierungsversuche in wasserfreiem Dichlormethan sind in der Tabelle 2 beschrieben. Bei gleicher Substratmenge wurden die Menge an Reagenz und wasserfreiem Na_2CO_3 variiert. Jeder Ansatz wurde in einem auf 50 °C eingestellten Bad gerührt und mittels HPLC untersucht. Der geringe Anteil von **3b** in **3c** wurde nicht berücksichtigt.

In den Versuchen 1, 2 und 3 wurde die etwa gleiche Menge Substrat **3a** vorgelegt und überschüssiges Reagenz ($m(\text{SSCl}) : m(\mathbf{3a}) \sim 10 : 1$) eingesetzt. Wenn außerdem genügend Alkali anwesend war wie im Versuch 1 ($m(\text{Soda}) : m(\text{SSCl}) \sim 2 : 1$), wurde **3a** völlig umgesetzt. Die Ausbeute an Disulfamat **3d** war hoch. Bei Anwendung von unterschüssigem Alkali (Versuch 2) wurde nur ein Teil von **3a** sulfamatiert, vorzugsweise

nur bis **3c**. Auch ohne Alkali lief eine teilweise Umsetzung ab (Versuch 3). Disulfamat **3d** wurde dabei praktisch nicht gebildet. War bei der Sulfamatierung nur die doppelt molare Menge an Reagenz eingesetzt worden (Versuch 4), so fand trotz Gegenwart von überschüssigem Alkali nur teilweise Sulfamatierung statt, und das Ergebnis ähnelte dem in Versuch 2.

Die in Versuch 1 verwendeten Bedingungen waren zur Darstellung von Disulfamat geeignet, während sich die Sulfamatierung in Abwesenheit von Alkali zur Darstellung von **3c** anbot. Dabei gilt aber die Einschränkung, daß **3c** immer geringe Mengen an **3b** enthält.

Zur Darstellung der reinen Monosulfamate **3b** und **3c** wurden zwei Alternativverfahren erarbeitet. Sie gingen von 16 α -Fluorestradiol-17 β -natriumsulfat (**6**) bzw. 3-O-Methoxymethyl-16 α -fluorestradiol (**8**) aus (siehe Schema 2). Das Startmaterial **6** war aus 16 α -Fluorestradiol-17 β -hydrogensulfat, einer Zwischenverbindung bei der Synthese von **3a** [18], gewonnen worden.



Schema 3 Synthese von 16 α -Fluorestradiol-3-sulfamat (**3b**) und 16 α -Fluorestradiol-17 β -sulfamat (**3c**)

Die Sulfamatierung von 16 α -Fluorestradiol-17 β -natriumsulfat (**6**) lieferte 3-O-Amidosulfonyl-16 α -fluorestradiol-17 β -natriumsulfat (**7**). Die nachfolgende Hydrolyse wurde nach einer Vorschrift [17] durch Rückflußkochen einer Lösung von **7** in wasserfreiem MeOH in Gegenwart von H^+ -beladenem Kationenaustauscher durchgeführt. In der Hydrolysereaktion reagierte vorhandenes Sulfamat **7** quantitativ zu **3b**, nichtumgesetz-

Tabelle 2 Optimierte Reaktionsbedingungen zur Synthese von 16 α -Fluorestradiol-17 β -sulfamat (**3c**) und 16 α -Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat (**3d**). Lösungsmittel: Dichlormethan. Rührzeit: 4 h bei 50 °C

Versuch	Reaktionsbedingungen			Produktverteilung		
	Vorlage 3a (mg)/(mmol)	SSCl (mg)/(mmol)	Na_2CO_3 (mg)/(mmol)	3d (%)	3c (%)	Nichtumgesetztes 3a (%)
1	15 / 0,052	62 / 0,54	100/0,94	80	9	0
2	14 / 0,048	66 / 0,57	19/0,18	12	40	45
3	17 / 0,059	62 / 0,54	0/0	3	30	65
4	17 / 0,059	13 / 0,11	106/1,00	8	38	50

tes **6** lieferte **3a**.

3-*O*-Methoxymethyl-16 α -fluorestradiol (**8**) wurde aus **3a** synthetisiert. Die Sulfamatierung von **8** verlief quantitativ zum 3-*O*-Methoxymethyl-16 α -fluorestradiol-17 β -sulfamat (**9**). Nachfolgende Hydrolyse lieferte reines **3c**, dessen Reinheit durch HPLC, TLC und MS bestätigt wurde.

2. Sulfamatierungen von 16 α -Fluorestradiol (**3a**) in Gegenwart von 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methyl-pyridin als Deprotonierungsmittel

Höhere Radioaktivitätsmengen (> 1 GBq) ^{18}F -markierter PET-Tracer (^{18}F Fluorodesoxyglucose, ^{18}F Fluor-DOPA, 16 α - ^{18}F Fluorestradiol [11]) werden in automatischen Syntheseapparaturen, sogenannten Modulen, hergestellt. Die zugrunde liegenden Reaktionen sollen möglichst einfach sein sowie schnell und in guter Ausbeute ablaufen.

Beim Übertragen einer Synthesevorschrift in ein Modul ist der Handlungsspielraum erheblich eingeschränkt. So sind in solchen Apparaturen Extraktionen nicht und Dosierungen von Feststoff nur schlecht durchzuführen. Lösungsmittel sollten, falls sie nach der Reaktion verdampft werden müssen, nicht zu hoch siedend sein. Für abschließende Reinigungen werden Kartuschen favorisiert.

Diese Vorbedingungen veranlaßten uns bereits, die oben beschriebenen Sulfamatierungen in Dichlormethan oder Acetonitril durchzuführen. Sie bewogen uns vor der Ausarbeitung eines modulgerechten Darstellungsverfahrens für **3d** ferner, als Deprotonierungsmittel das gut lösliche 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methyl-pyridin (DBMP) anstelle von festem Na_2CO_3 einzusetzen. Und sie zwan-

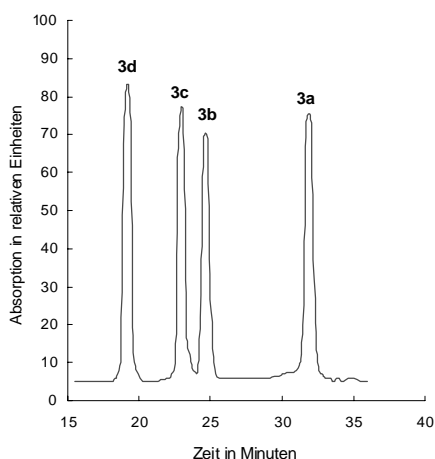


Abb. 2 HPLC-Aufnahme eines Testgemischs aus 16 α -Fluorestradiol (**3a**) und seinen drei Sulfamaten **3b–3d**
Elutionsmittel: 55% Ethanol

3b - 16 α -Fluorestradiol-3-sulfamat

3c - 16 α -Fluorestradiol-17 β -sulfamat

3d - 16 α -Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat

gen uns schließlich drittens, ein leistungsfähiges Endreinigungsverfahren auszuarbeiten.

In unserem Modul wird 16 α - ^{18}F Fluorestradiol in einem Eintopfverfahren hergestellt [11]. Zur Endreinigung wird eine semipräparative RP_{18} -Säule benutzt. Mit 55%-igem EtOH als Elutionsmittel wird chemisch und radiochemisch reines 16 α - ^{18}F Fluorestradiol gewonnen. Wenn man diesen Tracer noch zum Disulfamat umsetzen will, wäre es sehr vorteilhaft, das Eintopfverfahren um diesen Schritt erweitern und zur Reinigung des Endprodukts die gleiche Säule und das gleiche Elutionsmittel verwenden zu können.

In isokratischen HPLC-Versuchen mit Testgemischen aus **3a**, **3b**, **3c** und **3d** wurde festgestellt, daß 55%iges EtOH alle vier Verbindungen sehr gut zu trennen vermag. In der Abb. 2 ist diese Trennmöglichkeit demonstriert. Allerdings ließ sich unter diesen Bedingungen das DBMP nicht eluieren. Dazu mußte auf absolutes EtOH umgestellt werden.

Die Versuche zur Ausarbeitung optimaler Synthesebedingungen wurden mit Mikromengen **3a** durchgeführt. Mit überstöchiometrischen Mengen an SSCl und DBMP wurde in wenigen Minuten **3d** gebildet. Erhitzen des Reaktionsansatzes war nicht nötig. Jedoch traten im Unterschied zur Umsetzung in Gegenwart von Na_2CO_3 bei dieser Reaktion auch sehr polare steroidale Produkte auf.

Mit Blindversuchen wurde die Bildung der polaren Nebenprodukte untersucht. Dazu wurde eine MeCN-Lösung, die überschüssige äquimolare Mengen an DBMP und SSCl enthielt, hergestellt und zur Sulfamatierung von **3a** verwendet. Die erste Sulfamatierung

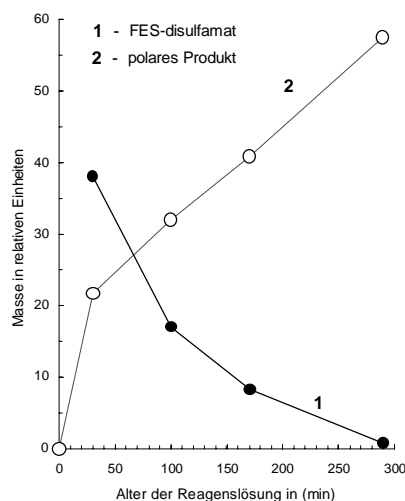


Abb. 3 Abhängigkeit der Bildung von polarem Produkt vom Alter der Reagenslösung, die durch Zusammengeben einer Lösung von 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridin in Acetonitril und einer Lösung von Sulfamidsäurechlorid in Acetonitril zum Zeitpunkt $t = 0$ hergestellt worden war
Kurve 1 - 16 α -Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat (**3d**)
Kurve 2 - polares Nebenprodukt

Tabelle 3 Optimierte DBMP-Konzentration zur Synthese von 16 α -Fluorestradiol-3,17 β -disulfamat (**3d**)

Versuch	Reaktionsbedingungen				Produktverteilung			
	Vorlage 3a (μmol)	SSCI (μmol)	DBMP (μmol)	m(DBMP)/m(3a)	3d (%)	3c (%)	3b (%)	Nichtumgesetztes 3a (%)
1	6,9	170	15	2,17	32	1	–	–
2	6,9	173	2,9	0,42	79	3	–	–
3	6,5	216	1,0	0,15	88	2	–	–
4	6,5	165	0,5	0,08	93	2	–	–
5	6,5	190	0,1	0,02	3	29	6	61

wurde unmittelbar nach der Herstellung dieser MeCN-Lösung, drei weitere Versuche wurden in gewissen Zeitabständen danach angesetzt und die Reaktionsprodukte mittels HPLC getrennt. Die Ergebnisse der HPLC sind in Abb. 3 dargestellt. Sie demonstrieren, daß mit der Kontaktzeit von DBMP und SSCI die Ausbeute an polarem Nebenprodukt anstieg und sich gleichzeitig die Ausbeute an gewünschtem Disulfamat **3d** verringerte. Im Versuch nach 5 h Kontaktzeit war fast das gesamte Steroid zu einem polaren Produkt umgesetzt worden.

Nach diesen Erkenntnissen wurde nach der optimalen DBMP-Konzentration gesucht. Es wurden Versuche mit abnehmender DBMP-Menge durchgeführt. Die HPLC-Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 3 zusammengestellt.

Zur Synthese von **3d** in hoher Ausbeute war keine überstöchiometrische Menge an DBMP notwendig. Als günstig erwies sich ein molares Verhältnis m(DBMP) : m(**3a**) = 1 : 10.

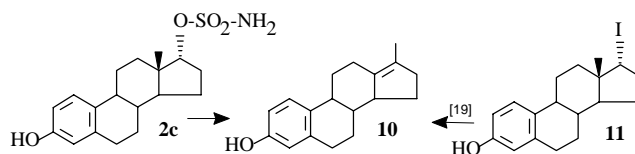
Die Versuche zum Konzentrationseinfluß von SSCI zeigten, daß ein hoher SSCI-Überschuß sehr wichtig ist. Im Versuch 3 von Tabelle 3 war beispielsweise mit der gegenüber **3a** 33fachen SSCI-Menge sulfamatiert worden. Ein analoger Versuch mit der 10fachen SSCI-Menge ergab nur eine Ausbeute von 21% **3d**.

Es sollte möglich sein, kleine Mengen an **3a** unter den gefundenen optimalen Bedingungen auch in einer automatisch arbeitenden Apparatur nahezu vollständig zum Disulfamat **3d** umzusetzen. Die besten Ergebnisse erreicht man, wenn **3a** in wasserfreiem MeCN mit der gegenüber **3a** zwanzigfachen molaren Menge an SSCI und in Gegenwart von DBMP (wobei das molare Verhältnis m(DBMP) : m(**3a**) nur etwa 1 : 10 sein soll) bei Zimmertemperatur gerührt wird.

3. Zur Struktur des unpolaren Produkts, das aus **2c** gebildet wird: 17-Methyl-gona-1,3,5(10),13(17)-tetraen-3-ol(**10**)

Die Struktur des unpolaren Produkts, das bei der Sulfamatisierung von **2a** anfiel und durch bloßes Erhitzen einer MeCN-Lösung von **2c** gebildet werden konnte, wurde vor allem durch ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie (siehe Abschnitt 4) bestimmt. Es handelt sich dabei um 17-Methyl-gona-1,3,5(10),13(17)-tetraen-3-ol (**10**)

(siehe Schema 4). Von Arunachalam *et al.* [19] war **10** erstmals durch 24-stündiges (!) Rückflußkochen von 17 α -Iodestra-1,3,5(10)-trien-3-ol (**11**) in 2-Propanol in Gegenwart von NaI hergestellt worden und gaben als Schmelzpunkt nur 95 °C an. Wir fanden schnelle und vollständige Umsetzung **2c** \rightarrow **10** und ein bei 132–135 °C schmelzendes reines Produkt. Gegenüber dem Substituenten 17 α -I stellt die 17 α -O-SO₂-NH₂-Gruppe also eine wesentlich günstigere Abgangsgruppe dar. Dieses Verfahren könnte präparative Bedeutung erlangen [20].



Schema 4 17-Methyl-gona-1,3,5(10),13(17)-tetraen-3-ol (**10**) – ein Umwandlungsprodukt von 17 α -Estradiol-17 α -sulfamat (**2c**) und 17 α -Iodestra-1,3,5(10)-trien-3-ol(**11**)

4. Auswertung der NMR-Spektren

Verbindungen **1a–d**, **2a–2d** und **3a–d**

Die chemischen Verschiebungen der Verbindungen **1a**, **2a**, **3a** und die von deren Sulfamaten sind in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Eine 3-Sulfamatgruppe beeinflusst insbesondere die chemischen Verschiebungen der Ring-A-Kohlenstoffatome. Wir fanden deutliche Hochfeldverschiebung des Signals von C(3) und deutliche Tieffeldverschiebungen der Signale von C(2) und C(4). Die Signale der Atome C(1) und C(5) blieben nahezu unbeeinflusst. Bemerkenswert war dagegen die entschirmende Wirkung der 3-Sulfamatgruppe auf C(10), die dazu führte, daß die Signale von C(5) und C(10) nebeneinander zu liegen kamen. Diese Nachbarschaft ist ein charakteristisches Merkmal für das Vorliegen eines 3-Amidosulfonyloxyestra-1,3,5(10)-trien.

Eine 17 ξ -Sulfamatgruppe beeinflusst im wesentlichen nur die chemische Verschiebung von C(17), im Gegen-

Tabelle 4 Chemische Verschiebungen von Estradiol (**1a**), 17 α -Estradiol (**2a**) und 16 α -Fluorestradiol (**3a**) und von deren Sulfamaten **1b–1d**, **2b–2d** und **3b–3d**

C-Atom	1a	1b	1c	1d	2a	2b	2c	2d	3a	3b	3c	3d
1	126,1	126,9	127,2	127,0	127,1	127,6	127,1	127,1	126,0	126,4	126,0	126,3
2	112,5	119,5	113,8	119,6	113,5	120,1	113,5	119,7	112,6	118,9	112,6	118,9
3	154,0	148,7	156,0	148,9	155,1	149,4	155,2	149,0	154,3	148,0	154,3	148,1
4	115,0	122,4	116,1	122,6	116,0	123,1	116,0	122,6	115,1	121,9	115,0	121,8
5	137,8	139,6	138,7	139,2	138,8	139,7	138,7	139,0	137,7	138,7	137,4	138,2
6	29,4	29,9	30,6	29,9	30,6	30,7	30,5	30,0	29,4	29,2	29,1	29,0
7	27,1	27,4	28,4	27,4	29,0	28,9	28,8	28,3	27,1	26,8	26,9	26,6
8	38,7	39,0	40,2	38,8	40,0	40,0	39,9	39,4	38,1	37,6	37,8	37,4
9	43,7	44,6	45,2	44,5	44,5	45,0	44,2	44,3	43,7	43,8	43,3	43,5
10	131,6	139,0	132,3	138,9	132,7	140,3	132,3	139,3	131,2	138,4	130,6	138,1
11	26,1	26,7	27,3	26,5	27,1	27,3	26,9	26,5	25,7	25,5	25,4	25,2
12	36,5	37,1	37,7	36,8	32,7	32,9	32,5	32,2	36,4	36,2	35,9	35,9
13	43,0	43,5	44,3	43,6	46,3	46,5	46,3	45,9	43,8	43,7	43,9	43,9
14	49,8	50,5	50,5	49,8	49,0	48,9	49,4	49,3	47,7	47,7	47,2	47,2
15	22,8	23,4	24,0	23,5	25,1	25,3	24,9	24,6	31,5	31,5	31,3	31,4
16	29,7	30,1	28,9	28,2	32,3	32,6	31,0	30,7	101,1	101,0	97,9	97,8
17	81,3	81,7	90,2	89,9	80,5	80,6	91,2	90,3	87,0	86,9	94,0	93,8
18	10,8	11,3	12,2	11,9	17,8	17,9	17,3	16,8	12,0	12,0	12,4	12,4

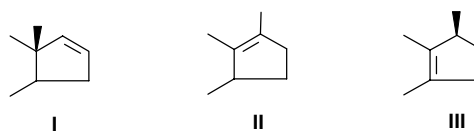
satz zur 3-Sulfamatgruppe allerdings durch Tieffeldverschiebung des Signals. In den 3,17 ξ -Disulfamaten addierten sich die erwähnten Einflüsse.

Ein Vergleich der Spektren von Estradiol (**1a**) und 16 α -Fluorestradiol (**3a**) zeigt, daß Fluor als Substituent vor allem die Ring-D-Kohlenstoffatome beeinflusst. Einen Beweis für die 16 α -Orientierung lieferten die Kopplungskonstanten. Es war zu erwarten, daß in den Spektren der Fluorsteroiden **3a–d** die Signale der Ring-D-Kohlenstoffatome in Dubletts aufgespalten sind. Für die Kopplungskonstante $^1J(C,F)$ wurden $-178,5$ Hz gefunden, was mit dem Literaturwert von Fluorcyclopentan ($-173,5$ Hz) übereinstimmt [21]. Die Kopplungskonstanten $^2J(C,F)$ betragen für C(17) 21,7 Hz und für C(15) 23,1 Hz. Die Kopplungskonstanten $^3J(C,F)$ ergaben sich für C(14) zu 4,9 Hz und für C(13) zu 6,1 Hz. Der größere Wert für C(13) kann mit Hilfe der Karplus-Beziehung wegen des größeren Diederwinkels nur durch 16 α -F erklärt werden. 16 β -F hätte einen größeren Wert bei C(14) veranlassen müssen.

17-Methyl-gona-1,3,5(10),13(17)-tetraen-3-ol (**10**)

Da 17 α -Sulfamat als Abgangsgruppe fungierte, lag als Ergebnis eine Δ^{16} -Struktur I nahe. Struktur I schied aber aus, weil im ^{13}C -NMR-Spektrum ein viertes quaternä-

res C-Atom auftauchte. Damit käme eine der denkbaren Strukturen II ($\Delta^{13(17)}$ -Steroid) oder III (Δ^{13} -Steroid) in Frage.



Das 1H -NMR-Spektrum verneinte ebenfalls die Δ^{16} -Struktur I, weil die zusätzlichen olefinischen Protonen fehlten. Es enthielt aber eine Methylgruppe bei 1,65 ppm als Singulett. Lage, fehlende Aufspaltung und HMBC wiesen auf eine Methylgruppe an einer Doppelbindung hin. Mit diesem Ergebnis stand Struktur II im Einklang.

Die Annahme der Struktur II und die gefundenen chemischen Verschiebungen im ^{13}C -NMR-Spektrum lieferten die in Tabelle 5 notierten Zuordnungen.

Wenn man die chemischen Verschiebungen der sechs Ring-A-Kohlenstoffatome aus Tabelle 5 mit den entsprechenden Werten für 3-Hydroxy-estra-1,3,5(10)-trien vergleicht, stellt man erwartungsgemäß eine gute Übereinstimmung fest. Auch für C(6) und C(7) stimmten die Werte überein. Von dieser sicheren Zuordnung ausgehend, konnte mit Hilfe der zweidimensionalen

Tabelle 5 Zuordnung der chemischen Verschiebungen im ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **10**

C-Atom	δ (ppm)	C-Atom	δ (ppm)	C-Atom	δ (ppm)
1	127,9	7	28,3	13	136,7
2	113,5	8	49,8	14	53,1
3	154,8	9	42,9	15	28,4
4	115,8	10	132,1	16	37,8
5	139,2	11	32,2	17	129,1
6	30,9	12	26,4	17-CH ₃	14,0

Tabelle 6 Zuordnung der chemischen Verschiebungen der H-Atome im ^1H -NMR-Spektrum des Produkts **10**

H-Atom	δ (ppm)	H-Atom	δ (ppm)	H-Atom	δ (ppm)
1-H	7,18	8 β -H	1,00	14 α -H	2,30
2-H	6,65	9 α -H	2,39	15 α -H	1,39
4-H	6,56	11 α -H	2,46	15 β -H	2,13
6 α -H } 6 β -H }	2,77 ^{a)}	11 β -H	1,14	16 α -H } 16 β -H }	2,26 ^{b)}
7 α -H	1,39	12 α -H	1,98	17-CH ₃	1,65
7 β -H	1,94	12 β -H	2,67		

^{a)} Lage des Schwerpunkts; es gilt: $\delta(6\beta) > \delta(6\alpha)$. ^{b)} Lage des Schwerpunkts.

Spektren die Zuordnung der Protonen an den Kohlenstoffketten 7 – 8 – 14 – 15 – 16 und 9 – 11 – 12 eindeutig geklärt werden. Die zweifelsfreie Zuordnung der Protonen wies ebenfalls auf das Vorliegen der $\Delta^{13(17)}$ -Struktur **II** hin. In der Tabelle 6 sind die Zuordnungen der Protonen von Verbindung **10** zusammengestellt.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung des vorliegenden Forschungsvorhabens. Unser Dank gilt ferner Herrn Peter Mäding aus unserem Institut für wertvolle Diskussionen.

Beschreibung der Versuche

Kommerziell zugängliche Reagenzien und Lösungsmittel wurden von Aldrich, Fluka und Sigma bezogen. SSCI wurde nach [12] aus Chlorsulfonylisocyanat, 16 α -Fluorestradiol (**3a**) nach einer modifizierten Vorschrift von [17] aus Estra-1,3,5(10)-trien-3,16 β ,17 β -triol hergestellt.

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Original-Kofler-Mikroheiztisch "GalenTMIII" (Reichert Division der Leica AG Wien) mit digitaler Temperaturmeßeinrichtung bestimmt. ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem DRX500 Spektrometer (Bruker) aufgenommen. Von 17-Methyl-gona-1,3,5(10), 13(17)-tetraen-3-ol (**10**) wurde außerdem ein ^1H -NMR-Spektrum angefertigt und zur Aufklärung der Struktur die zweidimensionalen Verfahren COSY, HSQC, HMBC und NOESY eingesetzt. EI-Massenspektren wurden mit dem hochauflösenden Massenspektrometer AMD Intectra 402, die ES-Spektren (Elektrospray) mit einem VG Quattropol-Spektrometer der Fa. Fisons Instruments aufgenommen. Für die chromatographischen Untersuchungen wurde eine HPLC-Anlage von Merck-Hitachi benutzt. Dazu gehörten eine Gradientpumpe L-6200A, ein Rheodyne-Injektor mit einer 500- μl -Schleife, eine RP-Säule SP 250/21 Nucleosil 100-7C₁₈ (Macherey & Nagel) und ein Diodenarray-Detektor L-4500 DAD. Als Elutionsmittel diente reines MeCN, der Fluß betrug 7 ml/min. Die UV-Absorption wurde bei $\lambda = 275$ nm gemessen. Zur Ermittlung optimaler Reaktionsbedingungen für die automatische Produktion wurde eine semipräparative Säule SP 250/10 Nucleosil 100-7C₁₈ benutzt. Elutionsmittel war hier 55%-iges Ethanol mit $v = 1,5$ ml/min.

Vorschrift zur Sulfamatisierung

Das gewählte Substrat (**1a** oder **2a** oder **3a**) wurde im geeigneten Lösungsmittel (MeCN oder CH_2Cl_2) gelöst und danach zur Lösung frisch erhitztes und wieder abgekühltes Na_2CO_3 (wasserfrei, zehnfache molare Menge in Bezug auf das Substrat) zugegeben. Unter kräftigem Rühren wurde SSCI (die mindestens 2-fache bis höchstens 8-fache molare Menge in Bezug auf das Substrat) zugefügt und einige Stunden bei ZT oder höherer Temperatur weitergerührt. Durch HPLC-Kontrolle wurde das Ende der Reaktion festgelegt. Danach wurde der gesamte Ansatz in verdünnte HCl eingerührt, die Lösung zweimal mit Ethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und der Ethylether am Rotationsverdampfer (RV) vertrieben. Nach Aufnahme des Rückstands im geeigneten Volumen MeCN wurde die präparative HPLC-Trennung mit MeCN als Elutionsmittel angeschlossen. Das Injektionsvolumen hing von der Trenngüte ab. Pro 0,1 mmol vorgelegtes Substrat wurde das extrahierte Stoffgemisch mit etwa 1 ml MeCN versetzt und das Injektionsvolumen zwischen 0,2 und 0,5 ml gewählt. Zur Produktgewinnung wurde das Eluat der interessierenden Peaks getrennt in Bechergläsern gesammelt. Auf der Heizplatte wurde das MeCN bis auf 10 ml eingengt. Eine Ausnahme bildete die MeCN-Lösung von **2c**. Diese Lösung wurde am RV bei max. 45 °C vorsichtig eingengt, die Lösung dann mit Argon überschichtet und der verschlossene Kolben im Kühlschrank aufbewahrt. Die anderen Lösungen wurden offen stehen gelassen. Das zurückbleibende feste, kristalline Produkt wurde ausgewogen.

1. Estradiol-3-sulfamat (**1b**), Estradiol-17 β -sulfamat (**1c**) und Estradiol-3,17 β -disulfamat (**1d**)

(a) In einem Rundkolben wurde **1a** (85 mg, 0,3 mmol) in MeCN (wasserfrei; 15 ml) gelöst. Nach Zugabe von Na_2CO_3 (wasserfrei; 265 mg, 2,5 mmol) wurde unter hoher Rührgeschwindigkeit SSCI (116 mg, 1 mmol) zugefügt. Bei ZT wurde 2 h gerührt und die Umsetzung durch HPLC kontrolliert. Nach üblicher Aufarbeitung wurde der Rückstand mit 2 ml MeCN aufgenommen. Die präparative HPLC-Trennung wurde mit $8 \times 0,25$ ml Injektionslösung durchgeführt. Das Eluat der Peaks von **1d**, **1c** und **1b** wurde in drei Bechergläsern gesammelt und etwas eingengt. Die Gläser blieben offen stehen. Weiße Kristalle. Auswaagen: **1d** (11 mg = 25,6 μmol), **1c** (38 mg = 108 μmol), **1b** (6 mg = 17 μmol).

(b) Ein ähnlich großer Ansatz von **1a** in MeCN wurde mit 500 mg Na_2CO_3 (4,7 mmol) und 350 mg SSCI (3 mmol) versetzt und sonst wie oben behandelt. HPLC zeigte kein **1a** und sehr wenig **1b** an. Auswaagen: **1d** (68 mg = 158 μmol), **1c** (25 mg = 71 μmol).

HREI-MS **1b**: m/z : 351,151 (ber., 1504 für $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{S}$)

HREI-MS **1c**: m/z : 351,1539 (ber., 1504 für $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{S}$)

HREI-MS **1d**: m/z : 333,1370 ($\text{M} - \text{H}_2\text{N} - \text{SO}_3\text{H}$, ber., 140 für $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{S}$); ESI-MS **1d**: m/z : 452,9 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 469,0 $[\text{M} + \text{K}]^+$

2. Estradiol-3-sulfamat (**1b**) aus Estron (**4**)

In einem Rundkolben wurde **4** (135 mg, 0,5 mmol) in MeCN (wasserfrei, 15 ml) gelöst und mit Na_2CO_3 (wasserfrei; 510 mg, 5 mmol) und SSCI (310 mg, 2,7 mmol) versetzt. Es wurde 6 h kräftig bei ZT gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung, präparativer HPLC-Reinigung und üblicher Produktgewinnung wurden 92 mg **5** (0,26 mmol = 52%) ausgewogen. Das weiße Produkt **5** wurde in einem Gemisch aus THF (2,5 ml) und EtOH (2,5 ml) gelöst, dieser Ansatz in einem Eisbad mit NaBH_4 (20 mg, 0,5 mmol) versetzt und 2 h gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung, präparativer HPLC-Reinigung und üblicher Produktgewinnung wurden 52 mg **1b** (0,15 mmol = 30%, bezogen auf **4**) ausgewogen.

3. 17α -Estradiol-3-sulfamat (**2b**), 17α -Estradiol- 17α -sulfamat (**2c**) und 17α -Estradiol-3, 17α -disulfamat (**2d**)

(a) In einem Rundkolben wurde **2a** (90 mg, 0,33 mmol) in MeCN (wasserfrei; 15 ml) gelöst. Nach Zugabe von Na_2CO_3 (wasserfrei; 370 mg, 3,5 mmol) wurde unter hoher Rührgeschwindigkeit SSCI (230 mg, 2 mmol) zugefügt. Bei ZT wurde 1 h gerührt und die Umsetzung durch HPLC kontrolliert. Nach üblicher Aufarbeitung wurde der Rückstand mit 2,5 ml MeCN aufgenommen. Die präparative HPLC-Trennung wurde mit $10 \times 0,25$ ml Injektionslösung durchgeführt. Das Eluat der Peaks von **2d**, **2c** und **2b** wurde in drei Bechergläsern gesammelt. Die Lösungen, die **2b** und **2d** enthielten, wurden etwas eingengt. Nach üblicher Produktgewinnung wurden die folgenden Auswaagen erzielt: **2d** (17 mg = 39,5 μmol), **2b** (9 mg = 25,6 μmol). Die MeCN-Lösung von **2c** wurde am RV bei 45 °C bis auf 2 ml eingengt, das restliche MeCN wurde mit Argon vertrieben. Als Rückstand blieb lohfarbnes Produkt (48 mg = 136,7 μmol).

(b) Ein Ansatz aus 83 mg (0,305 mmol) **2a**, 10 ml MeCN, 507 mg (4,8 mmol) Na_2CO_3 und 290 mg (2,5 mmol) SSCI wurde bei ZT 2 h kräftig gerührt. Die HPLC wies nur die zwei Peaks von **2d** und **2c** mit Produktanteilen von 70 bzw. 30% aus. Nach üblicher Aufarbeitung und präparativer HPLC-Reinigung wurden **2d** und **2c** wie oben angegeben gewonnen. Auswaagen: **2d** (81 mg = 188 μmol) und **2c** (20 mg = 57 μmol).

HREI-MS **2b**: m/z : 351,200 (ber., 1504 für $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{S}$);

333,2 ($\text{M} - \text{H}_2\text{O}$, ber., 140 für $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{S}$)

HREI-MS **2c**: m/z : 351,155 (ber., 1504 für $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{S}$);

ESI-MS **2c**: m/z : 350,4 $[\text{M} - \text{H}]^-$

ESI-MS **2d**: m/z : 429,4 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 883 $[\text{2M} + \text{Na}]^+$

4. 16α -Fluorestradiol-3, 17β -disulfamat (**3d**)

In einem Rundkolben wurde **3a** (110 mg, 0,38 mmol) in Di-

chlormethan (wasserfrei, 40 ml) gelöst und wasserfreies Na_2CO_3 (600 mg, 5,65 mmol) zugegeben. Unter kräftigem Rühren in einem auf 50 °C gebrachten Bad wurde SSCI (480 mg, 4,15 mmol) zugesetzt und der Ansatz 4 h lang weitergerührt. Nach Reaktionskontrolle durch HPLC wurde das Lösungsmittel im RV vertrieben und die übliche Aufarbeitung angeschlossen. Der Rückstand wurde in 5 ml MeCN aufgenommen. Die präparative HPLC-Reinigung wurde mit $10 \times 0,5$ ml Injektionslösung durchgeführt. Es wurde nur das Eluat des Peaks von **3d** gesammelt. Nach üblicher Produktgewinnung wurden 108 mg **3d** (251 μmol = 66%) als weißes, kristallines Produkt erhalten.

ESI-MS **3d**: m/z : 447,4 ($\text{M} - \text{H}$), 894,7 $[\text{2M} - \text{H}]^-$, 471,2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 919,2 $[\text{2M} + \text{Na}]^+$, 695,6 $[\text{3M} + \text{2Na}]^{++}$

5. 16α -Fluorestradiol- 17β -sulfamat (**3c**)

In einem 15-ml-Rundkolben wurde **3a** (87 mg, 0,3 mmol) in THF (wasserfrei; 5 ml) gelöst und NaH (60%ige Suspension in Mineralöl, 30 mg, 0,75 mmol; mit Hexan vom Mineralöl befreit, dann in 3 ml THF suspendiert) zugefügt. Methoxymethylchlorid (0,04 ml, 0,5 mmol) wurde zu 0,5 ml THF gegeben und diese Reagenslösung in den Ansatz eingerührt. HPLC zeigte nach 2 h Rühren entsprechende Umsetzung. Nach üblicher Aufarbeitung hinterließ das Vertreiben des THF 3-*O*-Methoxymethyl- 16α -fluorestradiol (**8**) als gelbes Öl.

Das Öl wurde mit Dichlormethan (wasserfrei, 5 ml), wasserfreiem Na_2CO_3 (150 mg, 1,42 mmol) und SSCI (110 mg, 0,95 mmol) versetzt. In einem auf 50 °C gebrachten Bad wurde der Ansatz 2,5 h lang kräftig gerührt. Die HPLC wies fast vollständige Umsetzung zum 3-*O*-Methoxymethyl- 16α -fluorestradiol- 17β -sulfamat (**9**) aus. Der Ansatz wurde filtriert und Filter und Soda gründlich mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wurde am RV eingengt.

Der Rückstand aus dem Sulfamaterungsschritt mit dem enthaltenen **9** wurde mit 1 ml 0,1M salzsaurer MeCN-Lösung versetzt und am RV zur Trockne gebracht [18]. Dieser Prozeß wurde dreimal wiederholt. Der feste Rückstand wurde wie üblich aufgearbeitet und der Rückstand mit MeCN (2,5 ml) aufgenommen. Die präparative HPLC-Reinigung wurde mit $10 \times 0,25$ ml Injektionslösung durchgeführt. Das Eluat des Peaks von **3c** wurde gesammelt. Nach üblicher Produktgewinnung wurden 55 mg **3c** (150 μmol = 50%, bezogen auf eingesetztes **3a**) als weißes, kristallines Produkt erhalten. ESI-MS (**3c**): m/z : 368,5 $[\text{M} - \text{H}]^-$

6. 16α -Fluorestradiol-3-sulfamat (**3b**)

In einem Rundkolben wurde ein Ansatz aus 16α -Fluorestradiol- 17β -natriumsulfat (**6**) (93 mg, 0,237 mmol), MeCN (30 ml), wasserfreiem Na_2CO_3 (510 mg, 4,8 mmol) und SSCI (510 mg, 4,4 mmol) 1 h lang bei ZT kräftig gerührt. Das MeCN wurde am RV vertrieben, 10 ml frisches MeCN zugegeben und wieder vertrieben und diese Prozedur noch fünfmal mit je 10 ml MeCN wiederholt. Stets blieb an der Kolbeninnenwand weißer, festgebackener Rückstand zurück. Kationenaustauscher (KAT; H^+ -Form, neutralgewaschen, 12 mmol Kapazität) wurde mit 4 Portionen MeOH (wasserfrei, je 10 ml) behandelt und der KAT danach mit 3 Portionen MeOH (je 10 ml) in den Kolben mit dem festgebakenen Rückstand überführt. Unter kräftigem Rühren wurde der Ansatz in ei-

nem Bad (95–100 °C) 2 h lang unter Rückfluß gekocht. Die methanolische Lösung war danach sehr schwach gelb gefärbt und klar. Sie reagierte sauer und enthielt **3b** und **3a** im Verhältnis 1 : 2. Die methanolische Lösung wurde abfiltriert. Das Filter mit dem KAT wurde mehrmals mit je 10 ml MeOH gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden am RV eingengt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde der Rückstand des eingengten Etherextrakts mit 3 ml MeCN versetzt. Die HPLC-Reinigung wurde mit 6 \times 0,5 ml Injektionslösung durchgeführt. Es wurde nur das Eluat des Peaks von **3b** gesammelt. Nach der üblichen Produktgewinnung wurden 21 mg **3b** (60 μ mol = 25,2%, bezogen auf eingesetztes **6**) als weißes Produkt erhalten. – ESI-MS (**3b**): m/z : 368,5 [M – H][–], 77,6 (NSO₂-Tochterion)

7. 17-Methyl-gona-1,3,5(10),13(17)-tetraen-3-ol (**10**)

17 α -Estradiol-17 α -sulfamat **2c** (HPLC-gereinigt, 13 mg, 39 μ mol) wurde mit MeCN (5 ml) versetzt. Die klare Lösung wurde auf der Heizplatte langsam bis auf 1 ml eingengt und wieder mit MeCN auf 5 ml gebracht. HPLC zeigte die vollständige Umsetzung von **2c** und die Bildung eines unpolaren Produkts mit $RT = 15,6$ min an. Verdunsten des MeCN bei ZT lieferte **10** als weißes, feines Produkt. Auswaage: 8,5 mg (33,5 μ mol = 86%), bezogen auf eingesetztes **2c**. ESI-MS (**10**): m/z : 253,1 [M – H][–]

Literatur

- [1] S. Schwarz, G. Weber, F. Kühner, *Z. Chem.* **1970**, *10*, 299
 [2] S. Schwarz, G. Weber, *Z. Chem.* **1974**, *14*, 15
 [3] S. Schwarz, G. Weber, *Z. Chem.* **1975**, *15*, 270
 [4] S. Schwarz, G. Weber, M. Schreiber, *Pharmazie* **1975**, *30*, 17
 [5] M. J. Reed, A. Purohit, N. M. Howarth, B. V. L. Potter, *Drugs Future* **1994**, *19*, 673
 [6] W. Elger, S. Schwarz, A. Hedden, G. Reddersen, B. Schneider, *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **1995**, *55*, 395
 [7] S. Schwarz, W. Elger, *Drugs Future* **1996**, *21*, 49
 [8] H. Kasch, W. Schumann, J. Römer, J. Steinbach, Steroidsulfamate, Verfahren zu ihrer Herstellung und Anwendung derselben. Dt. Offenl. DE 19712488 A 1, 1998; Chem. Abstr.
 [9] G. J. Meyer, S. L. Waters, H. H. Coenen, A. Luxen, B. Mazziere, B. Langström, *Eur. J. Nucl. Med.* **1995**, *22*, 1420
 [10] F. Dehtashti, J. E. Mortimer, B. A. Siegel, L. K. Griffith, T. J. Bonasera, M. J. Fusselman, D. D. Detert, P. D. Cutler, J. A. Katzenellenbogen, M. J. Welch, *J. Nucl. Med.* **1995**, *36*, 1766
 [11] J. Römer, F. Füchtner, J. Steinbach, B. Johannsen, *Nucl. Med. Biol.* **1999**, *26*, 473
 [12] R. Appel, G. Berger, *Chem. Ber.* **1958**, *91*, 1339
 [13] W. J. Spillane, A. P. Taheny, M. M. Kearns, *J. Chem. Soc., Perkin I* **1982**, 677
 [14] N. M. Howarth, A. Purohit, M. J. Reed, B. V. L. Potter, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 219
 [15] H. Kasch, Publikation in Vorbereitung
 [16] S. Schwarz, I. Thieme, M. Richter, B. Undeutsch, H. Henkel, W. Elger, *Steroids* **1996**, *61*, 710
 [17] J. L. Lim, Lei Zheng, M. S. Berridge, T. J. Tewson, *Nucl. Med. Biol.* **1996**, *23*, 911
 [18] J. Römer, J. Steinbach, H. Kasch, *Appl. Radiat. Isot.* **1996**, *47*, 395
 [19] T. Arunachalam, Ch. Longcope, E. Caspi, *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 5900
 [20] H. Kasch, Publikation in Vorbereitung
 [21] H.-O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun; ¹³C-NMR-Spektroskopie, 1. Aufl., Georg-Thieme-Verlag Stuttgart 1984, S.520

Korrespondenzanschrift:

Dr. Johannes Römer

Forschungszentrum Rossendorf

Institut für Bioorganische und Radiopharmazeutische Chemie

Postfach 510119

D-01314 Dresden

Fax: Internat. code (0)351 260 2915

e-Mail: J.Roemer@fz-rossendorf.de