

TOTALSYNTHESE VON NATÜRLICHEM
ÖSTRADIOLMETHYLÄTHER

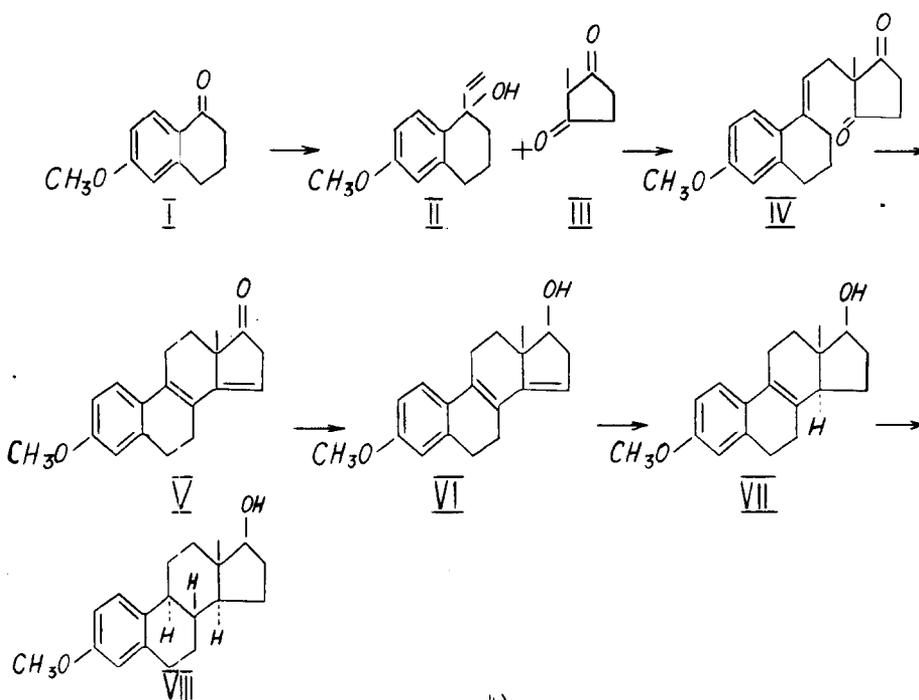
H. Gibian, K. Kieslich, H.-J. Koch, H. Kosmol,
C. Rufer, E. Schröder und R. Vössing

Schering AG, Hauptlaboratorium
Berlin-West

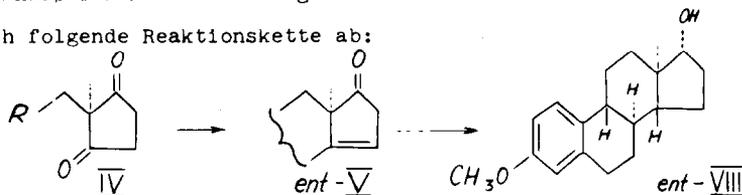
(Received 25 March 1966)

8.14-Seco-1.3.5(10).9(11)-estratetraen-3-ol-14.17-dione-3-methyl-
ether is microbiologically reduced to form an asymmetric center at
C₁₃. This stereospecifically results in 8.14-seco-1.3.5(10).9(11)-
estratetraen-3.17β-diol-14-one-3-methylether with the configuration
of natural steroids. The latter compound can be transformed into
nat. estradiol methylether with good yield. The formation of 13α-
8.14-seco-1.3.5(10).9(11)-estratetraen-3.17β-diol-14-one-3-methyl-
ether is also possible in the same way using the conditions of the
microbiological reaction.

Alle bisherigen Steroidtotalsynthesen¹⁻⁹⁾ führen zu Racematen,
die mit Hilfe üblicher chemischer Methoden in die optischen Anti-
poden zerlegt werden müssen. Bei der Spaltung können optimal nur
50 % der gewünschten Verbindung erhalten werden; praktisch beträgt
die erreichbare Ausbeute jedoch etwa 35 %, maximal etwa 45 %.



Bei der in Analogie zu Smith et al.⁴⁾ durchgeführten Totalsynthese (I - VIII) des Östradiol-3-methyläthers (VIII) wird das C₁₃ während der Cyclisierungsstufe IV → V zum ersten Asymmetriezentrum und damit Anlaß zur Racematbildung. Parallel zu vorstehender Reihe läuft nämlich folgende Reaktionskette ab:

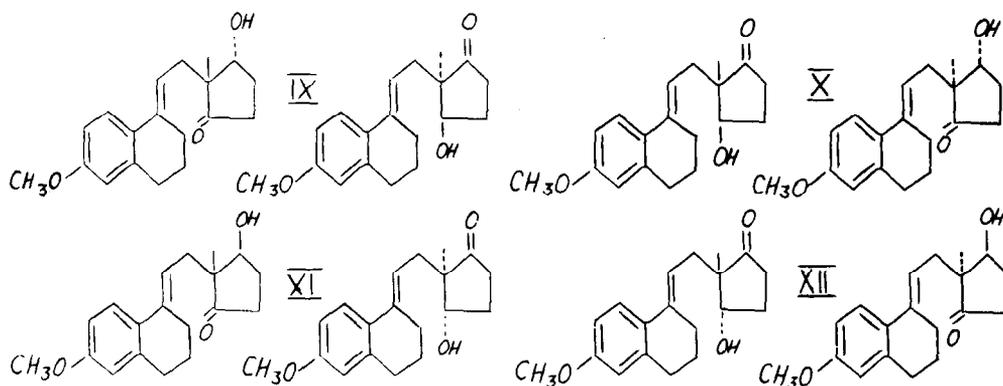


Die Hydrierung der 14.15-Doppelbindung in VI und ent-VI in Gegenwart von Palladium/Calciumcarbonat verläuft in hohem Maße stereoselektiv. Das gleiche gilt für die Reduktion der 8.9-Doppelbindung in VII bzw. ent-VII mit Lithium in flüssigem Ammoniak. Racematspaltung ist auf

der Stufe VI durch Veresterung mit 1-Menthoxyacetat^{7,8)} bzw. auf den Stufen VI, VII und VIII durch Hemisuccinat-Bildung und Salz-bildung mit optisch aktiven Basen erreichbar.

Prinzipiell kann nun eine Racematbildung von vornherein vermieden werden, wenn im 8.14-Seco-1.3.5(10)-9(11)-östratetraen-3-ol-14.17-dion-3-methyläther (IV) schon vor dem Ringschluß zu V durch Aufhebung der Parität der beiden gleichwertigen Bindungen zum (späteren) C₁₄ bzw. C₁₇ ein Asymmetriezentrum an C₁₃ ausgebildet wird. Dies gelingt durch stereospezifische Veränderung nur einer der beiden chemisch völlig äquivalenten Ketogruppen (am 'C₁₄' bzw. 'C₁₇'), allerdings selbstverständlich nicht mit rein chemischen Mitteln.

Eine optisch inaktive Verbindung kann in eine optisch aktive nur mit optisch aktiven Reagentien bzw. Katalysatoren umgewandelt werden; besonders bieten sich hier Enzyme an. Bei der von uns angewandten mikrobiologischen Reduktion einer Ketogruppe sind folgende vier Strukturen des 8.14-Seco-1.3.5(10).9(11)-östratetraen-3.14-diol-17-on-3-methyläthers bzw. 8.14-Seco-1.3.5(10).9(11)-östratetraen-3.17-diol-14-on-3-methyläthers theoretisch zu erwarten (IX - XII):



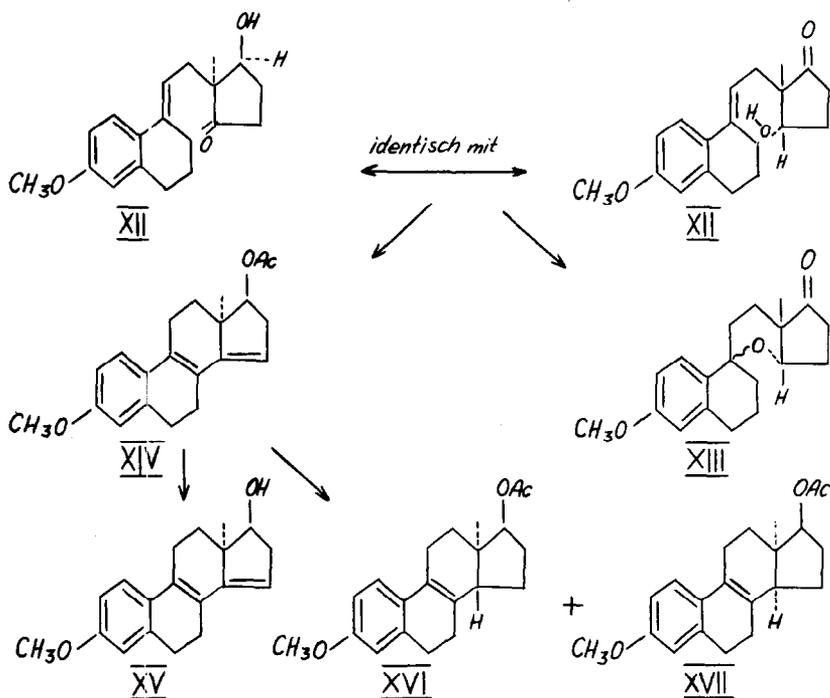
Es ist zu betonen, daß die zusätzliche Ausbildung eines Asymmetrie-zentrums an $C_{14(17)}$ für das Entstehen der gewünschten Unsymmetrie an C_{13} bedeutungslos ist. Eine einseitige Ketalbildung beispielsweise hätte die gleiche Wirkung.

Die Fähigkeit, Ketogruppen in dieser Weise zu reduzieren, ist in Pilzen, Bakterien und Hefen unsystematisch weit verbreitet. Die Reduktion der ersten Ketogruppe verläuft wesentlich schneller als die Bildung der Dihydroxy-Verbindung, so daß selektiv tatsächlich eine Ketogruppe verändert werden kann. Überraschenderweise erhielten wir in guter Ausbeuten bisher nur die Strukturen (XI) oder (XII). Unter vergleichbaren Fermentationsbedingungen bestimmt der verwendete Mikroorganismus, ohne Beziehung zu seiner Stellung in der biologischen Systematik, die Richtung der Reduktion. Durch Variation z.B. des Milieus kann jedoch von XII auf XI umgesteuert werden.

Die für die Synthese der natürlichen Östran-Konfiguration notwendige Struktur (XI) konnte besonders mittels spezieller Hefestämme, wie *Saccharomyces pastorianus* oder *Saccharomyces carlsbergensis*, erhalten werden. Der für diesen Zweck bestgeeignete Stamm *Saccharomyces uvarum* liefert bei hohem Substrateinsatz von 4g/Ltr. bei normaler Fermentationszeit eine Ausbeute von 60 - 70 % an reinem 8.14-Seco-1.3.5(10).9(11)-östratetraen-3.17β-diol-14-on-3-methyläther (XI). Die Verbindung 13α-8.14-Seco-1.3.5(10).9(11)-östratetraen-3.17β-diol-14-on-3-methyläther (XII) wird durch *Bacillus thuringiensis* optimal gebildet (Ausbeuten von 70 - 80 %).

Zur Entscheidung, ob die aus (IV) durch die mikrobiologische Reduktion gebildeten optisch aktiven Alkohole (XI) und (XII) in der R- oder S-Form vorliegen, wurde mit einem Überschuß rac. α -Phenylbuttersäure verestert¹⁰⁾. Aufgrund der Tatsache, daß S-Alkohole schneller durch S-Säure verestert werden und daher im basischen Auszug des Ansatzes die (linksdrehende) R-Säure angereichert wird, konnten (XI) und (XII) der S-Reihe zugeordnet werden. Eine Entscheidung über cis- und trans-Form gelang durch das Kernresonanzspektrum: das Reduktionsprodukt (XII) zeigt ein enges, kaum aufgelöstes Signal, wie es für das Proton an C₁₇ bei zur Methylgruppe transständiger OH-Gruppe typisch ist. Hier liegt also 1 β α -8.14-Seco-1.3.5(10).9(11)-östratetraen-3.17 β -diol-14-on-3-methyläther vor. Die Verbindung (XI) zeigt im KMR ein klar aufgelöstes Triplet für das Proton an C₁₇. Diese Form ist charakteristisch für cis-ständige Methyl- und Hydroxylgruppen, so daß (XI) die Struktur 8.14-Seco-1.3.5(10).9(11)-östratetraen-3.17 β -diol-14-on zugeordnet werden kann.

Analog der Cyclisierung von rac. 8.14-Seco-1.3.5(10)-9-östratetraen-3-ol-14.17-dion-3-methyläther (IV) sollte es möglich sein, mit Salzsäure von der 1 β α .17 β -OH-Secoverbindung (XII) zu 1 β α -1.3.5(10).8.14-östrapentaen-3.17 β -diol-3-methyläther (XV) zu kommen. Indessen erhält man - unter Addition der Hydroxylgruppe an die $\Delta^{9(11)}$ -Doppelbindung - quantitativ den 8.14-Seco-9.14 α -oxido-1.3.5(10)-östratrien-3-ol-17-on-3-methyläther (XIII), dessen Konstitution durch IR-, KMR und Massenspektroskopie bewiesen werden konnte. Die sterische Lage der Ätherbindung an C₉ wurde nicht geklärt.

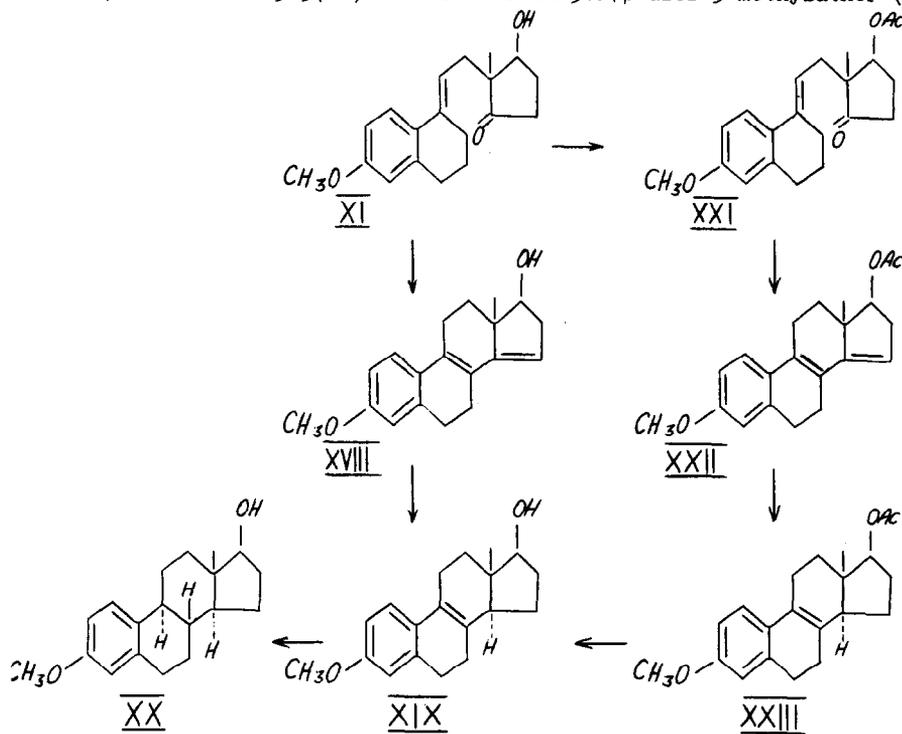


Durch Acetylierung der Secoverbindung (XII) und anschließende Cyclisierung mit p-Toluolsulfonsäure erhält man jedoch mit 85 % Ausbeute 13 α -1.3.5(10).8.14-Östrapentaen-3.17 β -diol-3-methyläther-17 β -acetat (XIV), das sich zum freien instabilen 17 β -ol (XV) verseifen läßt. Die Δ^{14} -Doppelbindung des Acetats (XIV) kann unter den für den rac. 1.3.5(10).8.14-Östrapentaen-3.17 β -diol-3-methyläther angegebenen Bedingungen hydriert werden. Man erhält ein Gemisch von 60 % 14 β (XVI) und 29 % 14 α -Verbindung (XVII). Die Zusammensetzung des Gemisches geht aus der Intensität der 18-Methylsignale im KMR hervor. Die Lage der Peaks ist nach einer Arbeit von Zuercher¹¹⁾ berechenbar; die gefundenen Werte stimmen mit den berechneten gut überein.

8.14-Seco-1.3.5(10).9-östratetraen-3.17 β -diol-14-on-3-methyläther (XI) hat, wie oben gezeigt werden konnte, die Konfiguration

der natürlichen Steroide. Auf dem für die rac. Secoverbindungen beschriebenen Wege sollte man daher zum natürlichen 1.3.5(10)-Östratrien-3,17 β -diol-3-methyläther gelangen. Eine direkte Cyclisierung der Secoverbindung (XI) mit Salzsäure gelingt hier tatsächlich mit 74 % Ausbeute zu nat. 1.3.5(10).8.14-Östrapentaen-3,17 β -diol-3-methyläther (XVIII). An Dreiding-Modellen läßt sich zeigen, daß sich hier - bei cis-Stellung von 13-Methyl- und 17-Hydroxylgruppen - kein Oxaspiran analog (XIII) bilden kann.

Die katalytische Hydrierung des Pentaenolmethyläthers (XVIII) - unter den gleichen Bedingungen wie für das rac. Produkt - ergibt mit 68 % Ausbeute 1.3.5(10).8-Östratetraen-3,17 β -diol-3-methyläther (XIX).



Die Birch-Reduktion des nat. Tetraenolmethyläthers (XIX) liefert mit 74 % Ausbeute den gewünschten nat. 1.3.5(10)-Östratrien-3.17β-diol-3-methyläther (XX), identisch mit authentischem Material. Die Gesamtausbeute vom nat. 8.14-Seco-1.3.5(10).9-Östratetraen-3.17β-diol-14-on-3-methyläther (XI) zum nat. 1.3.5(10)-Östratrien-3.17β-diol-3-methyläther (XX) beträgt 37 %.

Die saure Cyclisierung des Acetats der Secoverbindung (XI) verläuft vorteilhafter als die der freien Verbindung. Die Secoverbindung (XI) läßt sich in Benzol mit Acetanhydrid und Pyridin zum nicht kristallisierten Acetat (XXI) verestern. Nach dem Neutralwaschen der Lösung kann in der gleichen benzolischen Lösung mit p-Toluolsulfonsäure zum nat. 1.3.5(10).8.14-Östrapentaen-3.17β-diol-3-methyläther-17β-acetat (XXII) cyclisiert werden. Nach erneutem Neutralwaschen der Lösung wird die Substanz direkt in Benzol hydriert. Nach Umkristallisation werden 74 % nat. 1.3.5(10).8-Östratetraen-3.17β-diol-3-methyläther-17β-acetat (XXIII) erhalten [Ausbeute bezogen auf die Secoverbindung (XI)]. Das Acetat läßt sich wie üblich mit quantitativer Ausbeute in den freien Tetraenolmethyläther (XIX) überführen. Auf diesem Wege läßt sich die Gesamtausbeute Secoverbindung (XI) → nat. 1.3.5(10)-Östratrien-3.17β-diol-3-methyläther (XX) auf 55 % steigern.

Nach dem bisherigen Stand der Totalsynthese von Östradiol-3-methyläther beträgt die Gesamtausbeute für die rac. Verbindung, ausgehend von dem 8.14-Seco-1.3.5(10).9-Östratetraen-3-ol-14.17-dion-3-methyläther, 46 %. Eine anschließende chemische Racematenspaltung liefert die natürliche Verbindung mit einer Ausbeute von 15 - 20 %

bezogen auf die Seco-Verbindung. Dagegen beträgt die Gesamtausbeute durch Einbeziehung des mikrobiologischen stereospezifischen Reaktions-schrittes mit 35 % rund das Doppelte an natürlicher Verbindung.

Die analytischen Daten der synthetisierten Verbindungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

-
1. L. Velluz, J. Valls und G. Nominé, Angew.Chem. 77, 185 (1965)
 2. L. Velluz, G. Nominé, G. Amiard, V. Torelli und J. Céréde, Compt.Rend. 257, 3086 (1963)
 3. H. Smith, G.A. Hughes und D. J. McLoughlin, Experientia 19, 177 (1963)
 4. G. H. Douglas, J.M.H. Graves, D. Hartley, G.A. Hughes, B. J. McLoughlin, J. Siddale und H. Smith, J.Chem.Soc. [London] 5072 (1963)
 5. S. N. Ananchenko, V. G. Limanov, V. N. Leonov, V. N. Rzheznikov und I. V. Torgov, Tetrahedron 18, 1355 (1962)
 6. S. N. Ananchenko und I. V. Torgov, Tetrahedron Letters 1553 (1963)
 7. T. Miki, K. Hiraga und T. Asako, Proc.Chem.Soc. 139 (1963)
 8. T. Miki, K. Hiraga und T. Asako, Chem.Pharm.Bull. 13, 1285 (1965)
 9. T. B. Windholz, J. H. Fried und A. A. Patchett, J.Org.Chem. 28 1092 (1963)
 10. A. Horeau und H. B. Kagan, Tetrahedron 20, 2431 (1964)
 11. R. F. Zürcher, Helv.Chim.Acta 46, 2054 (1963)

Tabelle 1

Subst.	MG	Ausbeute %	Smp. °C	Krist.aus	[α] _D ²⁰ c=1 CHCl ₃	Analyse		UV(Methanol)		
						C	H	mμ	ε	
XI	300,40	71	112-113	Äthanol	- 39 ^o +)	ber gef	75,96 76,26	8,05 7,86	265	20.700
XII	300,40	79	102-103,5	Äthanol	+ 47 ^o +)	ber gef	75,96 76,22	8,05 8,31	264	20.900
XIII	300,40	100	89- 90	Äthanol	+ 42 ^o	ber gef	75,97 76,13	8,05 7,98	-	-
XIV	324,42	85	128-129	Äthanol	+ 183 ^o	ber gef	77,75 77,71	7,46 7,77	310	32.300
XV	282,39	81	ca. 35 (Zers.)	Methanol/ Wasser	-	ber gef	- -	- -	310	27.700
XVIII	282,39	74	97/100 -101	Äthanol	- 132 ^o	ber gef	80,81 80,87	7,85 7,83	310	30.600
XIX	284,40	aus XVIII:68 aus XXIII:100	124-126	Äthanol	- 9,3 ^o	ber gef	80,25 79,68	8,51 8,43	276	16.900
XXII	324,42	100	86/ 88 - 90	Äthanol	- 182 ^o	ber gef	77,75 77,38	7,46 7,50	310	32.100
XXIII	326,43	74	113-114	Äthanol	- 51 ^o	ber gef	77,27 77,44	8,03 8,09	276	17.300

+) = gemessen in Dioxan (c = 1)