



Doctoral Thesis

Cyclophan-Rezeptoren zur molekularen Erkennung von Steroiden Synthese, Bindungseigenschaften und Anwendung

Author(s):

Marti, Thomas

Publication Date:

1998

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001984646> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 12854

**Cyclophan-Rezeptoren zur molekularen Erkennung von
Steroiden: Synthese, Bindungseigenschaften und Anwendung**

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von

Thomas Marti

Dipl. Chem. ETH
geboren am 26. April 1970
von Rüeggisberg (BE)

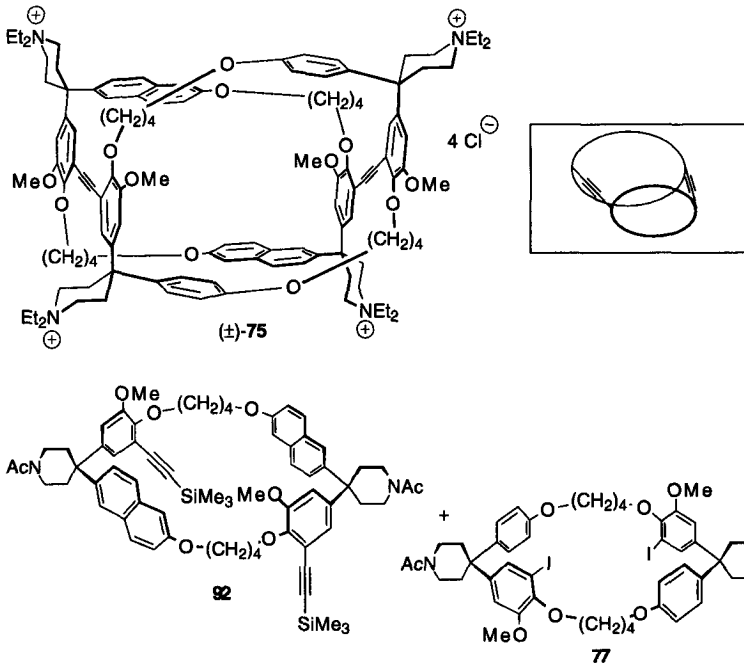
Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. François Diederich, Referent
Prof. Dr. Donald Hilvert, Korreferent

Zürich 1998

Zusammenfassung

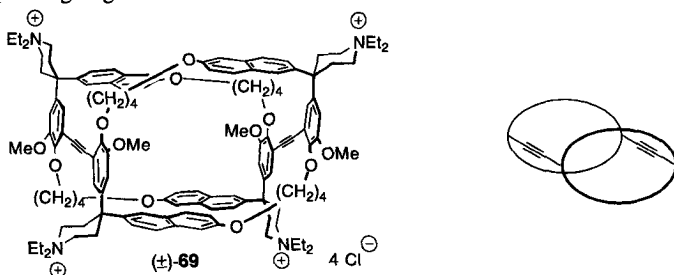
Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Synthese, der Charakterisierung, den Komplexbildungseigenschaften mit Steroiden und möglichen Anwendungen des Rezeptors (\pm)-**75**. Das Molekül ist vierfach kationisch und deshalb wasserlöslich, bildet aber mit seinem starren, makrotrozyklischen Gerüst einen hydrophoben Hohlraum, der für den Einschluss von unpolaren Molekülen geeignet ist.



Rezeptor (\pm)-**75** wurde in einer konvergenten Synthese über die Vorstufen **77** und **92** synthetisiert. Die Synthese des kleineren Cyclophanes **77** wurde durch Anwendung eines organischen Templats optimiert. Der Schlüsselschritt der Synthese bestand in der palladiumkatalysierten Kupplung der beiden Cyclophane **77** und **92** nach der Methode von Hiyama. Es handelt sich dabei um die erste [1+1]-Makrozyklisierung mit dieser Methode, und um eine der wenigen derartigen Reaktionen mit übergangsmetallkatalysierten Kreuzkupplungsreaktionen. Dem Rezeptor (\pm)-**75** konnte mittels Anwendung von zweidimensionaler Kernresonanzspektroskopie, analytischer Trennung von Enantiomeren durch HPLC auf chiraler stationärer Phase und durch Computermodellierungen eindeutig eine von zwei möglichen isomeren Konfigurationen zugewiesen werden.

Rezeptor (\pm)-75, der einen konisch geformten Hohlraum besitzt, wurde zur selektiven Komplexierung von Steroiden in polaren Lösungsmitteln eingesetzt. $^1\text{H-NMR}$ -Bindungsstudien mit biologisch relevanten Steroiden in CD_3OD ergaben eine Präferenz für Steroide, die ein α,β -ungesättigtes Keton in ihrem A-Ring tragen. Progesteron wurde am stärksten gebunden ($K_a = 2600 \text{ l mol}^{-1}$), gefolgt von Testosteron ($K_a = 1100 \text{ l mol}^{-1}$), Cholesterin ($K_a = 600 \text{ l mol}^{-1}$), und β -Östradiol ($K_a = 400 \text{ l mol}^{-1}$, $T = 298\text{-}300\text{K}$). Ausserdem konnten die Resultate zur Aufklärung der Geometrie der vorliegenden Einschlusskomplexe von (\pm)-75 mit Cholesterin und Progesteron in Lösung verwendet werden. Progesteron wurde mit seinem A-Ring im engeren Teil des Hohlraums gefunden, während Cholesterin mit seiner hydrophoben Seitenkette im engeren Teil des Hohlraums vorgefunden wurde. Wie Computerberechnungen zeigen, ist die vorgeschlagene Geometrie des 1:1-Komplexes aus Rezeptor (\pm)-75 und Cholesterin um 8 kcal mol^{-1} günstiger als die ebenfalls mögliche, jedoch nicht gefundene Geometrie mit dem A-Ring im engeren Teil des Hohlraums.

Weitere Arbeiten waren der Verbesserung der Selektivität des Rezeptors (\pm)-75 gewidmet. Die Optimierungsversuche konnten nicht im gewünschten Ausmass zum Erfolg gebracht werden, jedoch wurden dabei zwei Röntgenkristallstrukturen erhalten. Die erste Kristallstruktur ist ein Clathrat eines [6.1.6.1]-Paracyclophans mit einer ausgeprägten Bildung von Lösungsmittelkanälen. Die zweite Kristallstruktur wurde von einem offenkettigen Modellsystem angefertigt, das ein interessantes Dimermotiv in der Kristallpackung zeigt.

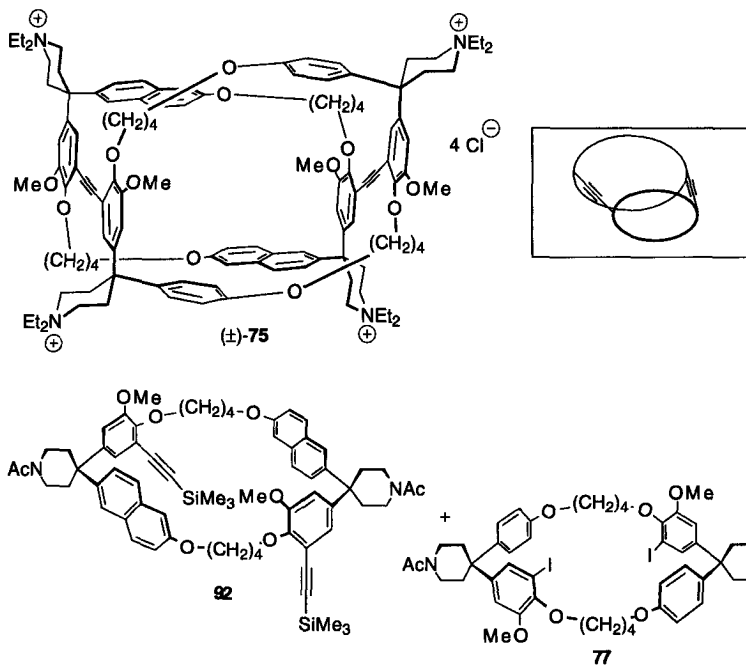


In einer Zusammenarbeit mit *Prof. G. H. Rothblat* wurden Rezeptor (\pm)-75 und der höhersymmetrische Rezeptor (\pm)-69 auf ihre Fähigkeit getestet, als Transporter Cholesterin aus Zellmembranen von Schaumzellen zu entfernen. Die Studien wurden vor dem Hintergrund eines möglichen Einsatzes solcher Verbindungen als Medikamente für die Behandlung von Arteriosklerose durchgeführt. Ein Vergleich mit ebenfalls getesteten Cyclodextrinderivaten ergab eine bis zu fünffach höhere Transporteffektivität für die Cyclophane bei gleicher Konzentration. Ferner war Rezeptor (\pm)-69 bereits bei einer Konzentration von $0.1 \mu\text{mol}$ aktiv und erreichte seine maximale Transporteffektivität bei

einer Konzentration von 0.05 mmol, während alle untersuchten Cyclodextrine bei 0.1 μmol inaktiv waren.

Summary

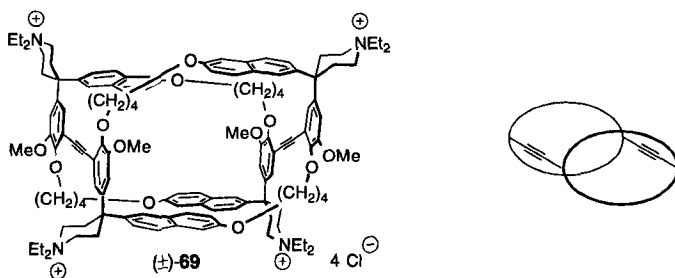
The subject of this work is the synthesis, characterization, steroid binding properties and possible applications of receptor (\pm)-**75**. The molecule is a tetracation and therefore water-soluble; its rigid, macrotricyclic scaffold bears a hydrophobic cavity suitable for the inclusion of apolar molecules.



Receptor (\pm)-**75** was synthesized using a convergent approach *via* the precursors **77** and **92**. The synthesis of the smaller cyclophane **77** was optimized using an organic template. The key-step of the synthesis is a palladium catalyzed cross-coupling of cyclophanes **77** and **92**, which was achieved using *Hiyama's* method. This is the first [1+1]-macrocyclization using this method, and one of the few macrocyclizations using a transition metal catalyzed cross-coupling reaction. The unambiguous assignment of one of two possible isomeric configurations of receptor (\pm)-**75** was accomplished by the application of two-dimensional NMR techniques, analytical separation of enantiomers using chiral HPLC and computer modelling.

Receptor (\pm)-**75**, which has a conically shaped cavity, was used for the selective complexation of steroids in polar solvents. ^1H NMR binding titrations in methanol with a selection of biologically relevant steroids showed a preference for steroids bearing an α,β -unsaturated ketone moiety. Progesterone was bound most strongly ($K_a = 2600 \text{ L mol}^{-1}$), followed by testosterone ($K_a = 1100 \text{ L mol}^{-1}$), cholesterol ($K_a = 600 \text{ L mol}^{-1}$) and β -estradiol ($K_a = 400 \text{ L mol}^{-1}$, $T=298\text{-}300\text{K}$). Further analysis of the data allowed the determination of the preferred inclusion geometry of the host-guest complexes. Progesterone was bound with its A ring in the narrower part of the cavity, whereas cholesterol bound with its hydrophobic side chain in that part of the cavity. Computer simulations supported the latter orientation, assigning a preference in energy of 8 kcal mol^{-1} for this geometry compared to a geometry where the steroid is complexed with its A-ring in the narrow part of the cavity.

Additional work was dedicated to the optimization of the selectivity of the receptor. Although synthetic approaches failed to yield new receptors, two X-ray crystal structures were obtained. The first crystal structure is a clathrate of a [6.1.6.1]-paracyclophane which displays expanded solvent channels in its crystal packing. The second crystal structure was obtained from an open chain model system which forms an interesting dimer motif in the solid phase.



In the course of a collaboration with *Prof. G. H. Rothblat*, receptor (\pm)-**75** and the more highly symmetrical receptor (\pm)-**69** were tested for their ability to act as a shuttle for removing cholesterol from cell membranes of macrophages. The studies were performed to explore possible applications of such molecules in atherosclerosis therapy. These cyclophanes showed up to five-fold higher transport efficiencies in comparison to cyclodextrin derivatives which were also tested at the same concentration level. Specifically, receptor (\pm)-**69** was found to be an active cholesterol shuttle at a concentration of $0.1 \mu\text{mol}$ and reached its maximum activity at 0.05 mmol , whereas all cyclodextrins investigated showed no activity at $0.1 \mu\text{mol}$.