

245. Eine neue Methode zur Einführung von Stickstoff in das Steroid-Ringsystem: 17 β -O-Acetyl-4-aza-oestradiol

von Milan Uskoković und Marcel Gut

Obwohl eine grosse Anzahl von Azasteroiden synthetisiert worden ist, ist bis jetzt sehr wenig über deren biologische Aktivität berichtet worden. Die Einführung eines Stickstoffatoms an Stelle eines Kohlenstoffatoms im Ringsystem eines aktiven Steroidhormons sollte weder die Grösse, noch die Gestalt oder die Konformation der Molekel merklich ändern. Deshalb wäre von den Azasteroiden zu erwarten, dass sie mit denselben Enzymsystemen reagieren, die mit den analogen natürlichen Hormonen zu reagieren befähigt sind, und daher möglicherweise ähnliche biologische Eigenschaften besitzen wie die natürlichen Steroide.

In dieser Arbeit soll kurz über die Einführung von Stickstoff in den Ring A einiger einfacher natürlicher Steroide berichtet werden. Als Ausgangsmaterial diente in allen Fällen ein 3-Keto- Δ^4 -steroid, in dem Ring A mit Ozon leicht geöffnet werden konnte¹⁾. Die so erhaltene 5-Keto-3,5-seco-4-nor-3-säure wurde dann in Benzol mit Ammoniak behandelt. Nach dem Abdampfen des Benzols wurde ein Rohprodukt erhalten, das nach Reinigung durch Kristallisation oder Absorptions-Chromatographie in guter Ausbeute das 3-Keto-4-aza- Δ^5 -steroid gab. Sehr wahrscheinlich lieferte die Reaktion von Ammoniak mit dem Carbonyl der Pseudosäure²⁾ ein Amid, das dann leicht in das Pseudoamid und anschliessend in das ungesättigte Lactam übergehen kann.

Das 3-Keto-4-oxa- Δ^5 -steroid, das sich leicht aus der entsprechenden Ketosäure mit Essigsäureanhydrid und wasserfreiem Natriumacetat bereiten liess, wurde in gleicher Weise in Benzol mit Ammoniak behandelt und gab dann nach gleicher Aufarbeitung entweder das Amid, das Pseudoamid, das Lactam oder ein Gemisch von diesen Verbindungen. In diesem Falle beweisen die Zwischenprodukte (Amid und Pseudoamid), dass der Angriff des Ammoniaks am Lactoncarbonyl erfolgt. Sowohl Amid als auch das Pseudoamid konnten durch Kochen in Eisessig in das ungesättigte Lactam übergeführt werden.

Einwirkung von Ammoniak auf die Ketosäure I³⁾ aus O-Acetyl-19-nor-testosteron gab in einer Ausbeute von 40% 17 β -Acetoxy-19-nor-4-aza-androst-5-en-3-on (II). Dieses Lactam wurde mit Selenioxyd dehydriert⁴⁾ und gab 17 β -O-Acetyl-4-aza-oestradiol (III) in einer Ausbeute von 20%.

Das Enollacton VI⁵⁾ der Ketosäure aus O-Acetyltestosteron wurde von Ammoniak in ein Gemisch von Amid IV und Lactam V umgesetzt. Aus dem Amid konnte das

1) C. C. BOLT, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* **57**, 905 (1938); cf. C. DORÉE & J. A. GARDNER, *J. chem. Soc.* **93**, 1328 (1908).

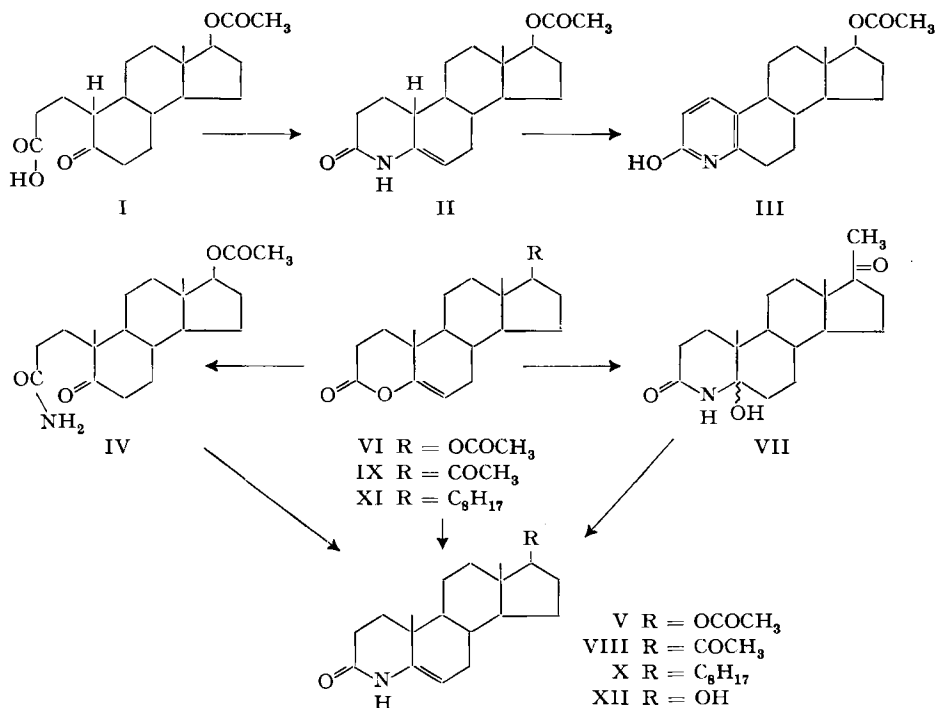
2) M. USKOKOVIĆ, R. I. DORFMAN & M. GUT, *J. org. Chemistry* **23**, 1947 (1958).

3) J. A. HARTMAN, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 5151 (1955).

4) C. MEYSTRE, H. FREY, W. VOSER & A. WETTSTEIN, *Helv.* **39**, 734 (1956).

5) G. I. FUJIMOTO, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 1836 (1951).

Lactam durch Kochen in Essigsäure erhalten werden. Kochen in 1-proz. methanolischer Kalilauge hydrolysierte den Ester V zu 17 β -Hydroxy-4-aza-androst-5-en-3-on (XII).



Das Enollacton IX⁶⁾ der Ketosäure aus Progesteron wurde gleichfalls mit Ammoniak umgesetzt und gab als einziges Produkt das Pseudoamid VII, das durch Kochen in Essigsäure in das gewünschte 4-Azapregnen-5-en-3,20-dion (VIII) umgewandelt wurde.

Das Enollacton XI⁷⁾ der Ketosäure aus Cholestenon wurde in gleicher Weise mit Ammoniak behandelt und gab in quantitativer Ausbeute 4-Azacholest-5-en-3-on (X)⁸⁾.

Molekulare Drehungen

	M _D		M _D (Azasteroid)- M _D (Steroid)
	Steroid	Aza-Analoges	
Testosteron	+ 314	- 268	- 582
O-Acetyltestosteron	+ 296	- 477	- 773
O-Acetyl-19-nor-testosteron	+ 174	- 266	- 440
Progesteron	+ 605	- 12	- 617
Cholestenon	+ 346	- 298	- 644

⁶⁾ M. GUT, *Helv.* **36**, 906 (1953).

⁷⁾ R. B. TURNER, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 579 (1950).

⁸⁾ J. DOORENBOS & C. L. HUANG, Abstract, 136th National A. C. S. Meeting, 30-0, Atlantic City, Sept. 1959.

Der molekulare Drehungsbeitrag beim Übergang eines 3-Keto- Δ^4 -steroides zum 4-Aza- Δ^5 -analogen ist stark negativ, wie die in der Tabelle angegebenen Werte zeigen.

Die UV.-Absorption für die beschriebenen 4-Aza- Δ^5 -steroides zeigte ein einziges Maximum bei 233 $m\mu$ und einem $\epsilon \sim 13500$. Das O-Acetyl-19-nor-testosteron-Analogs bildet eine Ausnahme mit $\epsilon_{234 m\mu} = 9630$. Die UV.-Absorptionswerte der 4-Azasteroides in Methanol sprechen für eine Verschiebung der Δ^5 -Doppelbindung in Konjugation zum 3-Carbonyl, während die IR.-Absorptionswerte (feste Phase) eher eine 3-Keto- Δ^5 -struktur anzeigen.

Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Mikroanalysen wurden von SCHWARZKOPF MICROANALYTICAL LABORATORY, Woodside 77, N.Y. ausgeführt. Die optischen Drehungen wurden in einer 1 dm Semimikroröhre in Chloroform bestimmt. Die UV.-Spektren wurden mit einem selbstregistrierenden Spektralphotometer CARY 11 MS in Methanol bestimmt. Die IR.-Spektren wurden mit Hilfe eines gepressten Kaliumbromid-Prismas auf einem PERKIN-ELMER-Modell 12C Spektralphotometer aufgenommen. Die Chromatographien wurden entweder mit DAVISON Silica Gel mesh 100-200 oder dann mit Aluminiumoxyd «WOELM», nicht alkalisch, Aktivität I, ausgeführt.

Allgemeine Methode: 500 mg Ketosäure oder Enollacton aus dem gewünschten Steroid wurden in 150 ml absolutem Benzol gelöst. In diese Lösung wurde während 2 Std. ein kräftiger Strom von über festem KOH getrocknetem Ammoniak eingeleitet. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht stehengelassen. Hierauf wurde die Lösung eingedampft und der Rückstand durch Kristallisation gereinigt. In einigen Fällen war eine Vorreinigung durch Absorptions-Chromatographie notwendig.

17 β -Acetoxy-4-aza-19-nor-androst-5-en-3-on (II) aus 5-Keto-17 β -acetoxy-3,5-seco-4,19-bisnor-androstan-3-säure (I). Das nach der obigen Methode aus 600 mg I erhaltene Rohprodukt wurde auf einer SiO₂-Säule chromatographiert, wobei mit Benzol-Essigester (1:1) 210 mg II eluiert wurden, die nach Kristallisation aus Äther Prismen vom Smp. 301° (u. Z.), $[\alpha]_D^{21} = -84^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,78) lieferten.

C₁₉H₂₇O₃N (317,41) Ber. C 71,89 H 8,57 N 4,41% Gef. C 72,21 H 8,43 N 4,59%

Das IR.-Spektrum zeigte ν_{\max} 3090 und 3180 (NH); 1726 und 1240 (Acetat); 1042; 1620 und 852 (Δ^9); 1657 und 1690 (Schulter) (> CO); 1210 (Schulter) und 1195 cm⁻¹. Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte ein Maximum bei 234 $m\mu$ ($\epsilon = 9630$).

17 β -O-Acetyl-4-aza-oestradiol (III) aus II. 200 mg II wurden mit Selenioxyd⁴) 2 Std. dehydriert. Nach Aufarbeitung wurde das Rohprodukt an Al₂O₃ chromatographiert. Das mit 25% Essigester in Benzol erhaltene Eluat gab III in einer Ausbeute von 20%. Kristallisation aus Äther lieferte Prismen vom Smp. 200-207°/227-228°/250° (Zers.).

C₁₉H₂₅O₃N (315,40) Ber. C 72,35 H 7,99 N 4,44% Gef. C 72,61 H 7,71 N 4,20%

Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte Maxima bei 1725, 1687, 1675, 1637, 1245 und 1032 cm⁻¹. Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte Maxima bei 289 $m\mu$ ($\epsilon = 6220$) und 226 $m\mu$ ($\epsilon = 6460$).

5-Keto-17 β -acetoxy-3,5-seco-4-nor-androstan-3-säureamid (IV) und 17 β -Acetoxy-4-aza-androst-5-en-3-on (V) aus 17 β -Acetoxy-4-oxa-androst-5-en-3-on (VI). 800 mg Subst. VI wurden mit Ammoniak umgesetzt und das Rohprodukt an einer Al₂O₃-Säule chromatographiert. Die mit 25% Essigester in Benzol eluierte Substanz gab nach Kristallisation aus Äther/Petroläther 310 mg V, Smp. 287-288° (Zers.), $[\alpha]_D^{21} = -144^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,95).

C₂₀H₂₉O₃N (331,44) Ber. C 72,47 H 8,82 N 4,23% Gef. C 72,43 H 8,87 N 4,05%

Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte die folgenden Maxima: 3090 und 3190 (N-H); 1726 und 1240 (Acetat); 1215, 1197, 1042; 1657 und 1675 (Schulter) (> CO) und 1620 und 846 (Δ^9) cm⁻¹. Das UV.-Absorptionsspektrum hatte ein Maximum, $\epsilon_{233 m\mu} = 13630$.

Die mit 2% Äthanol in Benzol eluierte Substanz gab nach Kristallisation aus Äther 523 mg IV, Smp. 254–255° (Zers.), $[\alpha]_D^{21} = +98^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,30$).

$C_{20}H_{31}O_4N$ (349,46) Ber. C 68,74 H 8,94 N 4,01% Gef. C 68,36 H 8,95 N 4,23%

Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte die folgenden Banden: 3120, 3300 und 3400 (N-H); 1730 und 1240 (Acetat); 1635 und 1615 ($> CO$) cm^{-1} .

Zweistündiges Kochen von IV in Eisessig gab nach Eindampfen und Kristallisation aus Äther V in quantitativer Ausbeute.

17 β -Hydroxy-4-aza-androst-5-en-3-on (XII) aus V. Die Versifung wurde durch halbstündiges Kochen von V in 1-proz. methanolischer Kalilauge ausgeführt. Das Reaktionsgemisch wurde dann mit viel Wasser verdünnt, mit Methylenchlorid extrahiert, der Extrakt schliesslich mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde aus Äther kristallisiert, Smp. 292–296° (Zers.), $[\alpha]_D^{21} = -93^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,65$).

$C_{18}H_{27}O_2N$ (289,40) Ber. C 74,70 H 9,40 N 4,84% Gef. C 74,62 H 9,62 N 4,70%

Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte die folgenden Maxima: 3600 und 1050 (–OH); 3100 und 3200 (–NH); 1667 ($> CO$); 845 und 830 (A^B) cm^{-1} . Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte ein Maximum, $\epsilon_{233 m\mu} = 13790$.

5 ξ -Hydroxy-4-aza-pregnan-3,20-dion (VII) und 4-Azapregn-5-en-3,20-dion (VIII) aus 4-Oxapregn-5-en-3,20-dion (IX). Während der Behandlung von IX mit Ammoniak kristallisierte das Reaktionsprodukt teilweise aus. Eindampfen zur Trockne und Kristallisation aus Benzol gab VII, Smp. 288–289°, $[\alpha]_D^{21} = +173^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,86$).

$C_{20}H_{31}O_3N$ (333,46) Ber. C 72,03 H 9,37 N 4,20% Gef. C 72,56 H 9,48 N 4,61%

Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte Maxima bei 3550, 1220 und 1060 (tert.-OH); 3100 und 3200 (–NH); 1705 (20-Keton); 1670 und 1630 (Schulter) (3-Carbonyl).

Durch zweistündiges Kochen in Eisessig wurde VII quantitativ in VIII umgewandelt. Das Rohprodukt zeigte nach Kristallisation aus Äther einen Smp. 288–289° (Zers.), $[\alpha]_D^{21} = -4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,51$).

$C_{20}H_{29}O_2N$ (315,44) Ber. C 76,15 H 9,27 N 4,44% Gef. C 76,40 H 9,37 N 4,70%

Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte die folgenden Maxima: 3090 und 3180 (–NH); 1700 (20-Keton); 1660 (3-Keton); 1620 und 840 (A^B) cm^{-1} . Das UV.-Absorptionsspektrum hatte ein einziges Maximum, $\epsilon_{233 m\mu} = 13430$.

4-Azacholest-5-en-3-on (X) (8) aus 4-Oxacholest-5-en-3-on (XI). Das durch Einwirkung von Ammoniak auf XI erhaltene Rohprodukt wurde aus Äther umkristallisiert, Smp. 189° (Zers.), $[\alpha]_D^{21} = -77^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,49$).

$C_{26}H_{43}ON$ (385,61) Ber. C 80,98 H 11,24 N 3,63% Gef. C 80,81 H 11,54 N 3,76%

Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte die folgenden Maxima: 3090 und 3180 (–NH); 1680 und 1700 (Schulter) ($> CO$); 1225, 1197; 1628 und 846 (A^B) cm^{-1} . Im UV.-Absorptionsspektrum lag das Maximum bei 233 $m\mu$ mit $\epsilon = 13500$.

SUMMARY

A novel introduction of nitrogen into the 4 position of some common natural steroids is described.

Department of Organic Chemistry,
The Worcester Foundation for Experimental Biology, Shrewsbury, Mass.