

Institut für Pharmazeutische Chemie¹ und Institut für Anorganische und Analytische Chemie² der Technischen Universität Braunschweig, Jenapharm GmbH & Co.KG³ Jena, Germany

Unerwartete Bildung eines Estron-Derivates aus Androsta-1,4-dien-3,17-dion

K. GÖRLITZER¹, Ch. BONNEKESSEL¹, P.-G. JONES² und G. KAUFMANN³

Bei der Reaktion von Androsta-1,4-dien-3,17-dion (**1**) mit Pyrrolidin und *p*-Toluolsulfonsäure in Toluol entsteht in geringer Ausbeute 3-Pyrrolidino-estra-1,3,5(10)-trien-6,17-dion (**7**), dessen Struktur durch Röntgenkristallanalyse ermittelt wurde. Im Vergleich mit ³H-Estradiol zeigte **7** im *In-vitro*-screening am Uterus-Cytosol von Kaninchen nur eine schwache Rezeptorbindungsaffinität.

Unexpected formation of an estrone derivative from androsta-1,4-diene-3,17-dione

Reaction of androsta-1,4-diene-3,17-dione (**1**) with pyrrolidine and *p*-toluenesulfonic acid in toluene gives 3-pyrrolidino-estra-1,3,5(10)-triene-6,17-dione (**7**) in poor yield, whose structure is shown by X-ray analysis. Compared with ³H-estradiol, compound **7** shows only a weak receptor binding activity tested in an *in vitro* screening using rabbit uterus cytosol.

1. Einleitung

1999 wurde Exemestan (6-Methylandrosta-1,4-dien-3,17-dion) (**4**) als oral einsetzbarer irreversibler Aromatase-Inhibitor zur Therapie postmenopausaler Frauen mit fortgeschrittenem Mammakarzinom in Deutschland zugelassen und Anfang 2000 in den Markt eingeführt. Exemestan hemmt als falsches Substrat der Aromatase die Östrogenbildung im peripheren Gewebe [1, 2]. Potenzielle Metaboliten von Exemestan wurden bereits synthetisiert und auf Aromatase-Hemmung geprüft [3]. Uns interessierte an Exemestan das chemische Verhalten der Dienon-Partialstruktur mit semicyclischer C–C-Doppelbindung.

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

Zur Darstellung von Exemestan wurde das Verfahren von Wagner et al. [4, 5] (Schema 1) ausgewählt, das von dem leicht zugänglichen Androsta-1,4-dien-3,17-dion (**1**) ausgeht. Danach muss das Enon **1** zunächst mit Pyrrolidin in das 1 α ,3-Dipyrrolidino-androsta-3,5-dien-17-on (**2**) überführt werden [6].

Beim Nacharbeiten der Arbeitsvorschrift gelang es jedoch nicht, das Dienamin **2** zu isolieren. Stets wurden dunkelbraune bis schwarze Lösungen erhalten, aus denen sich durch Flash-Chromatographie (FC) nur das Edukt zurückgewinnen ließ. Wurde das Enon **1** dagegen mit Pyrrolidin und *p*-Toluolsulfonsäure als Katalysator in Toluol erhitzt, so bildete sich eine gelbe Substanz, die dc detektiert und

fc abgetrennt werden konnte. Die Ausbeute betrug allerdings nur etwa 2%.

Aufgrund des Massenspektrums und der Elementaranalyse resultiert für das Produkt die Summenformel C₂₂H₂₇NO₂. In den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren der Substanz fehlt die Methyl-Gruppe an C-10 und ist ein Pyrrolidin-Substituent vorhanden. Das ¹³C-NMR- und IR-Spektrum sprechen für ein gesättigtes 5-Ring-Keton und ein konjugiertes Keton. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigt im olefinischen bzw. aromatischen Bereich 3 Protonresonanzen, darunter ein Doppeldublett und ein Dublett mit einer vicinalen Kopplungskonstanten von 9 Hz. Wegen der für Aromaten untypisch großen Kopplung und des langwelligen Maximums im Elektronenspektrum bei 393 nm scheint ein Chinonmethid-Chromophor vorzuliegen. Doch keine der Strukturformeln **5** oder **6** ließ sich durch C, H-Korrelation mittels zweidimensionaler NMR-Techniken (C, H-COSY und C, H-COLOC) beweisen. Die daraufhin durchgeführte Röntgenstrukturanalyse eines Einkristalls zeigt, dass unter Aromatisierung von Ring A das 3-Pyrrolidino-estra-1,3,5(10)-trien-6,17-dion (**7**) gebildet wurde. Unseres Wissens ist eine derartige Reaktion in der Steroid-Chemie noch nicht beschrieben worden.

Die Abbildung zeigt, dass die Substanz **7** mit zwei unabhängigen Molekülen kristallisiert, die jedoch sehr ähnlich

Schema 1

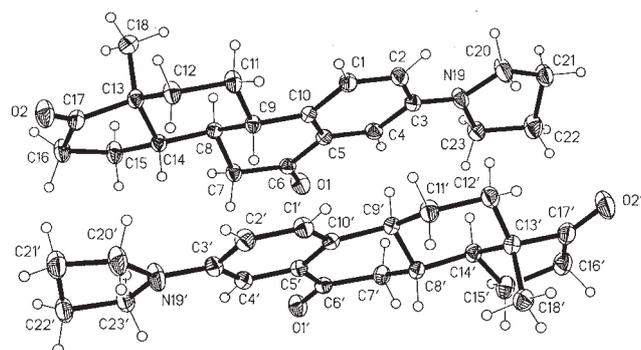
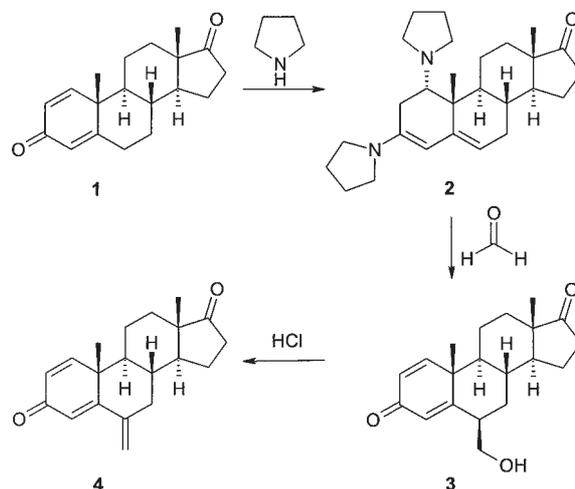
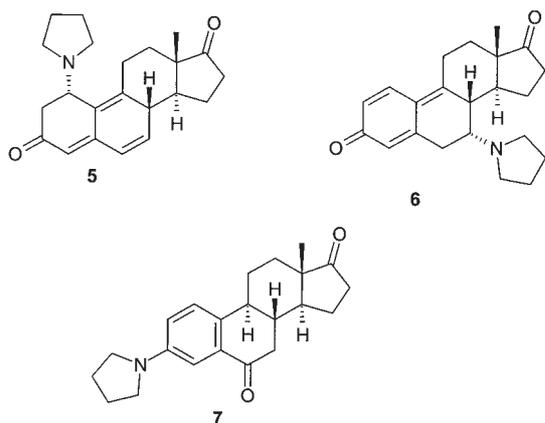


Abb: Die Struktur von Verbindung **7** im Kristall. Ellipsoide entsprechen 50%iger Aufenthaltswahrscheinlichkeit. H-Atom-Radien sind willkürlich

Schema 2



sind; eine Least-Squares-Anpassung aller Nicht-Wasserstoff-Atome außer C20-23 ergab eine rms-Abweichung von nur 0.054 Å. Der Pyrrolidin-Substituent des einen Moleküls liegt dem Ring D des anderen Moleküls jeweils gegenüber. Der Ring A ist planar, der Ring B nimmt eine gestauchte Halbsessel-Konformation ein, der Ring C liegt in der Sesselform und der Ring D in einer Briefumschlag-Konformation vor. Die Molekülpackung weist mehrere intermolekulare Wasserstoffbrücken der Form C–H...O auf, von denen die kürzesten sind: C22'–H22'...O1, H...O 2.42 Å; C22–H22...O1', H...O 2.40 Å; C2'–H2'...O1', H...O 2.47 Å.

In Schema 3 ist ein möglicher Reaktionsmechanismus zur Bildung von **7** formuliert. Danach findet primär eine

Hydroxylierung von **1** in Allyl-Stellung zur 6β-Hydroxy-Verbindung **A** statt. Mit Pyrrolidin bildet sich dann das Dienamin **B**, das unter der Einwirkung des sauren Katalysators zur 19-Nor-1-methyl-Verbindung **C** umgelagert wird⁴. Erneute allylische Hydroxylierung liefert **D** mit einer 1-Hydroxymethyl-Gruppe, die als vinyloges Hydrat Formaldehyd eliminiert. Das durch Tautomerisierung des Trienols **E** gebildete Dien **F** wird zum Aromaten **7** dehydriert.

Die Rezeptorbindungsaffinität von **7** wurde in Cytosol-Fractionen vom Uterus des Kaninchens unter Benutzung von ³H-Estradiol als Tracer gemessen. Die Rezeptor-Fractionen wurden 18 h bei 0 °C mit dem markierten Tracer in Gegenwart zunehmender Konzentrationen von Estradiol als Referenzsubstanz oder der Prüfsubstanz inkubiert. Die gebundene Radioaktivität wurde nach Absorption des freien Tracers durch dextran-beschichtete Aktivkohle gemessen. Der IC₅₀-Wert wurde ermittelt und die relative Bindungsaffinität (RBA) als Quotient aus der IC₅₀ der Referenzsubstanz (× 100%) und der Testsubstanz berechnet [7]. Die RBA von **7** war kleiner als 0,1%.

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Schmp.: Linström-Gerät (SPA-1, Fa. Bühler), nicht korrigiert. Elementaranalysen: C–H–N–O Elemental Analyzer 1106, Carlo Erba; die Ergebnisse lagen bei den verschiedenen Verbindungen innerhalb der üblichen analytischen Grenzen. IR-Spektren: Philips Analytical PU 9800 FT-IR-Spektrometer. UV-Spektren: Philips PU 8730 UV/VIS-Spektrometer. MS: Finnigan-MAT 8430 und 8400-MSS I (Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig); Elektronenstoßionisation (EI): Ionisierungsenergie 70 eV; Chemische Ionisation (CI): Reaktandgas s. Substanzbeschreibung. ¹H-NMR (400.13 MHz)-, ¹³C-NMR (100.61 MHz)-Spektren: Bruker AM 400 und Bruker Avance DRX 400 (NMR-Laboratorium der Chemischen

Schema 3

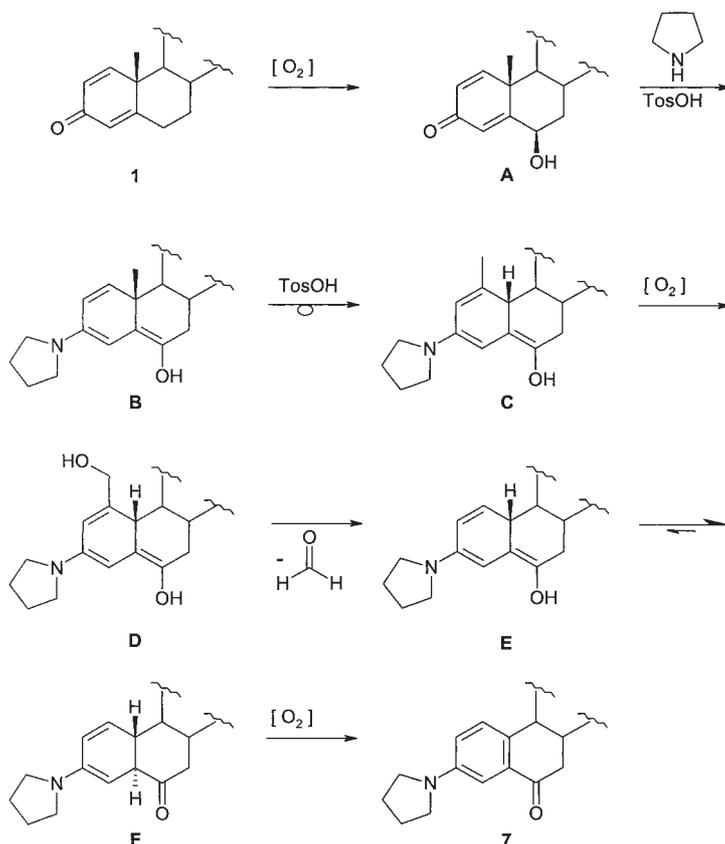


Tabelle: Röntgenstrukturdaten der Verbindung 7

Verbindung	7
Summenformel	C ₂₂ H ₂₇ NO ₂
M _r	337.45
Habitus	Unregelmäßiges gelbes Fragment
Kristallgröße	0.4 × 0.3 × 0.2 mm ³
Kristallsystem	orthorhombisch
Raumgruppe	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Gitterkonstanten:	
a	12.9336 (11) Å, α = 90°
b	16.2072 (12) Å, β = 90°
c	16.9102 (14) Å, γ = 90°
V	3544.7 (5) Å ³
Z	8
D _x (berechnet)	1.265 Mg/m ³
Absorptionskoeffizient	0.080 mm ⁻¹
F (000)	1456
T	133(2) K
Wellenlänge	0.71073 Å
θ-Bereich für die Datensammlung	1.74 bis 30.03°
Limitierende Indizes	-18 ≤ h ≤ 18, -22 ≤ k ≤ 22, -23 ≤ l ≤ 23
Zahl der Reflexe	41257
Unabhängige Reflexe	5706 [R(int) = 0.0407]
Vollständigkeit bis θ = 30.00°	100.0%
Daten/Restriktions/Parameter	5706 / 2 / 458
Goodness-of-fit on F ²	1.020
Final R-Indizes [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0360, wR ₂ = 0.0939
R-Indizes (alle Daten)	R ₁ = 0.0478, wR ₂ = 0.1004
Größte Differenzpeaks (Maximum und Minimum)	0.324 und -0.154 e. Å ⁻³

Institute der TU Braunschweig) einschließlich NOE-Differenz- und DEPT-Messungen, ¹³C, ¹H-COSY-, ¹³C, ¹H-COLOC-, HQSM- und NOESY-Spektren. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm nach der δ_{TMS}-Skala angegeben. HPLC: L-6200A Gra-dientenpumpe, AS-2000A Autosampler, D-6000A Interface, L-7450 Dioden-Array-Detektor, D-7000 HPLC System Manager (alle Geräte Fa. Merck und Hitachi), Trennsäule: LiChroCart 125-4, LiChrospher 100 RP-18 (5 μm), Vorsäule LiChroCart 4-4, Select B, Flußrate: 1.000 ml/min; isokratisch, Injektionsvolumen: 20 μl, Detektion: UV 250 nm; Nettoretentionszeit (t_r); Totzeit: t_m = 0.95, mit Thioharnstoff ermittelt. Eluent: H₂O/MeCN (50:50).

3.2. 3-Pyrrolidino-estra-1,3,5(10)-trien-6,17-dion (7)

1,14 g Androsta-1,4-dien-3,17-dion (**1**) (4 mmol) werden in 25 ml Toluol gelöst, dann 3 ml (36 mmol) Pyrrolidin und eine katalytische Menge *p*-TosOH zugegeben. Es wird 15 h am Wasserabscheider unter Rückfluss erhitzt. Nach Abdestillieren des Lösemittels im Vakuum wird der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen, sechsmal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung, zweimal mit H₂O ausgeschüttelt und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Löse-

mittel wird im Vakuum abdestilliert, und der Rückstand einer FC an Kieselgel 60 (Eluent: Petroläther/EtOAc 3:1) unterzogen. Ausbeute: 0,026 g (2%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 255 °C. IR (KBr): ν̄ (cm⁻¹) = 1735 (17-C=O), 1677 (6-C=O). UV (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 250 nm (4.42), 393 (3.33). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 0.91 (s, 3 H, 18-H), 1.64 (m, 2 H, 8-H, 12α-H), 2.02 (m, 8 H, 12β-H, 14-H, 15-H₂, N-CH₂-CH₂), 2.29 (dd, ²J = 16.7 Hz, ³J = 13.3 Hz, 1 H, 7α-H), 2.50 (m, 5 H, 9-H, 11-H₂, 16-H₂), 2.84 (dd, ²J = 16.7 Hz, ³J = 3.4 Hz, 1 H, 7β-H), 3.32 (t, ³J = 6.6 Hz, 4 H, N-CH₂), 6.79 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁵J = 2.9 Hz, 1 H, 2-H), 7.23 (d, ⁵J = 2.9 Hz, 1 H, 4-H), 7.27 (d, ³J = 9.4 Hz, 1 H, 1-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 13.67 (C-18), 21.33 (C-15), 25.25 (C-11), 25.44 (N-CH₂-CH₂), 31.23 (C-12), 35.69 (C-16), 39.68 (C-14), 42.82 (C-9), 43.46 (C-7), 47.73 (C-13), 47.77 (N-CH₂-CH₂), 50.18 (C-8), 109.06 (C-4), 117.53 (C-2), 125.94 (C-1), 132.66 (C-5), 133.28 (C-10), 146.58 (C-3), 198.23 (C-6), 220.00 (C-17). MS (EI): m/z (%) = 337 [M]⁺ (100). HPLC (H₂O/MeCN 50:50): t_S = 14.79 min. C₂₂H₂₇NO₂ (337,5)

3.3. Röntgenstrukturanalyse

Die Daten wurden auf einem Flächenzähler der Fa. Bruker mit monochromatisierter Mo-Kα-Strahlung gemessen. Strukturlösung: direkte Methoden. Strukturverfeinerung: SHELXL-97 (G.M. Sheldrick, Universität Göttingen).

Wasserstoffatome wurden mit starren Methyl-Gruppen, sonst mit einem Riding-Modell berücksichtigt. Das Atom C21 ist über zwei Lagen ungeordnet, mit Besetzungsfaktoren ca. 9:1. Die absolute Konfiguration konnte kristallographisch nicht bestimmt werden. Sonstige Einzelheiten sind der Tabelle zu entnehmen.

Vollständige Daten (außer Struktur Faktoren) werden unter der Nummer CCDC 188712 beim Cambridge Crystallographic Data Centre deponiert und können kostenlos angefordert werden vom Direktor, CCDC, 12 Union Rd., Cambridge CB2 1EZ, UK (e-mail: deposit@chemcrs.cam.ac.uk).

Die Autoren danken der Jenapharm GmbH & Co. KG, Jena und insbesondere Herrn Dr. G. Schubert für die Unterstützung.

⁴ Analog zur Dienon-Phenol-Umlagerung von Steroiden formuliert, bei der die Methyl-Gruppe von C-10 nach C-1 wandert [8]

Literatur

- Di Salle, E.; Zaccheo, T.: *Drugs Future* **17**, 278 (1992)
- Berkels, R.; in: Fricke, U.; Klaus, W. (Hrsg.): *Neue Arzneimittel*, Band 12, S. 538, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 2002
- Buzetti, F.; Di Salle, E.; Longo, A.; Briatico, G.: *Steroids* **58**, 527 (1993)
- Wagner, H.; Ponsold, K.: *Ger. (East) DD* 258, 820 (13.06.86); *C. A.* **111**, 7672q (1989)
- Wagner, H.; Ponsold, K.; Schumann, G.: *Ger. (East) DD* 264, 220 (23.09.87); *C. A.* **111**, 78502v (1989)
- Bucourt, R.; Dube, J.: *Bull. Soc. Chim. Fr. II*, 33 (1978)
- Kloosterboer, H. J.; Deckers, G. H. J.; van der Heuvel, M. J.; Loozen, H. J. J.: *J. Steroid Biochem.* **31**, 567 (1988)
- Romo, J.; Djerassi, C.; Rosenkranz, G.: *J. Org. Chem.* **15**, 896 (1950)

Eingegangen am 1. August 2002

Angenommen am 25. August 2002

Prof. Dr. K. Görlitzer

Institut für Pharmazeutische Chemie

Beethovenstraße 55

38106 Braunschweig

k.gorlitzer@tu-bs.de