

DARSTELLUNG VON 16-METHYLEN-STEROIDEN DER
CORTICOID- UND PROGESTERONREIHE

H.J.Mannhardt, F.v.Werder, K.H.Bork,

H.Metz und K.Brückner

Forschungslaboratorium, E.Merck A.G., Darmstadt

(Received 27 June 1960)

Eine Veröffentlichung von G.Nominé, D.Bertin und A.Pierdet¹ gibt uns Anlaß, über unsere eigenen Arbeiten zur Darstellung von physiologisch interessanten 16-Methylensteroiden zu berichten.

Das bereits von A.Wettstein² dargestellte 16-Methyl-5,16-pregnadien-3 β -ol-20-on-acetat (I) wurde mit Wasserstoffperoxyd in methanolisch-alkalischer Lösung nach der Methode von P.L.Julian³ in 16 β -Methyl-16 α ,17 α -oxido-5-pregnen-3 β -ol-20-on (IIa; Schmp.185-186°, $[\alpha]_D^{23}$ - 25°⁴;

¹ G.Nominé, D.Bertin und A.Pierdet, Tetrahedron 8, 217 (1960)

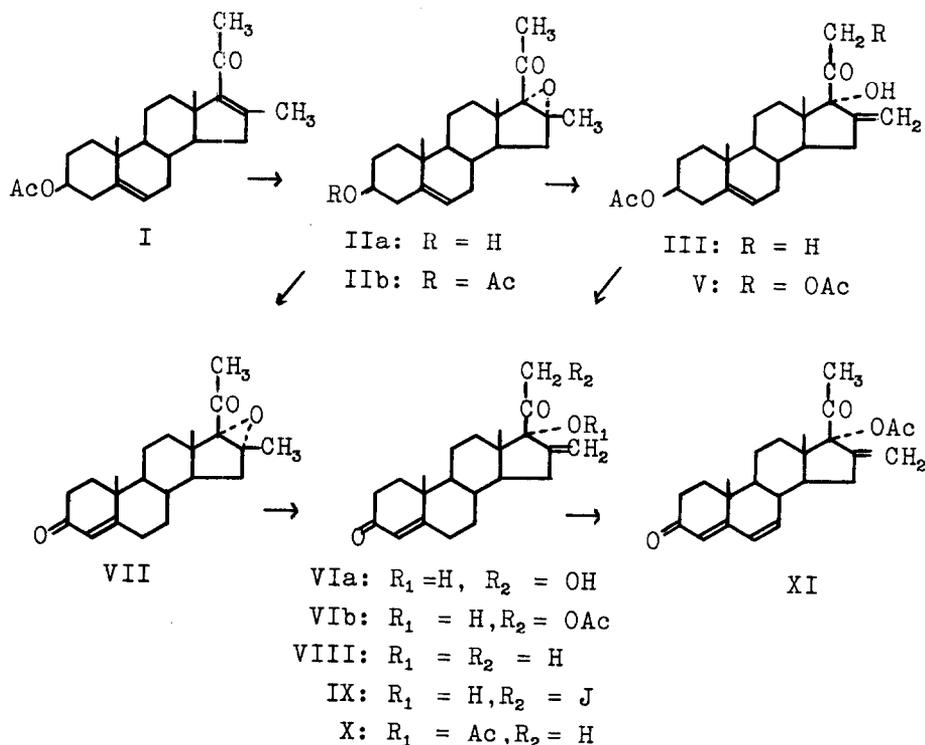
² A.Wettstein, Helv.chim.acta 27, 1803 (1944)

³ P.L.Julian, E.W.Meyer, W.J.Karpel und I.R.Waller, J.Amer.Chem.Soc. 72, 5145 (1950)

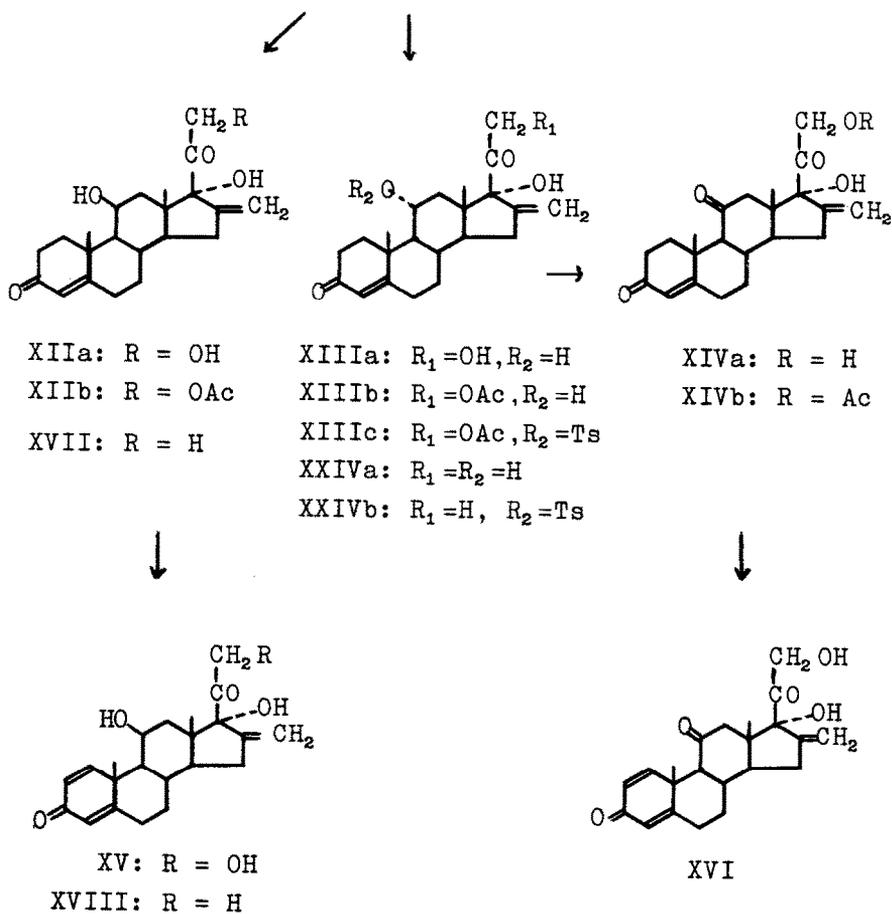
⁴ Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert; die spez. Drehungen wurden, wenn nicht anders angegeben, in Chloroform gemessen; die UV-Spektren wurden in Aethanol als Lösungsmittel aufgenommen.

3-Acetat IIb: Schmp. 178-180°, $[\alpha]_D^{23}$ -12°) übergeführt.

Unter der Einwirkung von Säuren, beispielsweise bei einstündigem Kochen mit katalytischen Mengen p-Toluolsulfonsäure in benzolischer Lösung oder Chlorwasserstoff in Essigsäureäthylester, wurde IIb in hoher Ausbeute zu 16-Methylen-5-pregnen-3 β ,17 α -diol-20-on-3-acetat (III; Schmp. 196-198°, $[\alpha]_D^{23}$ -140°) isomerisiert.⁵



⁵ Einer Privatmitteilung der Herren Dr.E.B.Hershberg und Dr.H.L.Herzog zufolge war das 16-Methylen-5-pregnen-3 β ,17 α -diol-20-on-3-acetat (III), mit dem sich unsere Verbindung als identisch erwies, auch in den Laboratorien der Schering Corporation in Bloomfield,N.J. erhalten worden. Wir danken den genannten Herren auch an dieser Stelle für die Bekanntgabe ihrer Ergebnisse.



Dieses überraschende Ergebnis wurde wie folgt bewiesen:

1. die IR-Spektren sowohl von III als allen im Folgenden beschriebenen Verbindungen zeigten die für eine endständige Methylengruppe charakteristische Bande bei $915-925\text{ cm}^{-1}$;
2. die Ozonisation von III lieferte Formaldehyd, isoliert als Dimedon-Verbindung; 3. der Abbau von III durch

Beckmannsche Umlagerung seines 20-Oxims mit Phosphoroxychlorid in Pyridin⁶ führte nahezu quantitativ zu dem von P.L.Julian⁷ beschriebenen 16-Methylen-5-androsten-3 β -ol-17-on-acetat.

In wenigen Stufen konnte aus III als wichtiges Zwischenprodukt das 16-Methylen-4-pregnen-17 α ,21-diol-3,20-dion (= 16-Methylen-Reichsteins Substanz S) (VIa) hergestellt werden. So führte die Bromierung von III in Essigsäure-Chloroform mit doppelt molarer Menge Brom zu 5 α ,6 β ,21-Tribrom-16-methylen-pregnan-3 β ,17 α -diol-20-on-3-acetat (IV), das ohne Reinigung in Aceton mit Natriumjodid und anschließend mit Kaliumacetat zu 16-Methylen-5-pregnen-3 β ,17 α ,21-triol-20-on-3,21-diacetat (V; Schmp.195-197°, $[\alpha]_D^{23}$ -66°) weiter umgesetzt wurde. (Bei Anwendung der dreifach molaren Menge Brom blieb trotz zusätzlichen Schutzes der exocyclischen Doppelbindung während der Substitution am C-Atom 21 die Ausbeute an V wesentlich geringer.)

Die Einwirkung einer Kultur von Flavobacterium dehydrogenans auf V bewirkte in einer Stufe die Verseifung beider Acetatgruppen, Oxydation der Hydroxylgruppe in 3-Stellung und Isomerisierung der Doppelbindung von 5,6-nach 4,5-Stellung und führte zu 16-Methylen-Reichsteins

⁶ J.Schmidt-Thomé, Liebigs Ann.Chem. 603, 43 (1957)

⁷ P.L.Julian, E.W.Meyer und H.C.Printy, J.Amer.Chem.Soc. 70, 3872 (1948)

Substanz S (VIa; Schmp.206-207°, $[\alpha]_D^{23} + 47,5^\circ$, λ_{\max} : 240 μ , ξ : 17200).

Die Synthese von VIa wurde unter Umgehung der mikrobiologischen Stufe noch auf einem zweiten Weg durchgeführt:

Dafür wurde IIa nach der Methode von Oppenauer zu 16 β -Methyl-16 α ,17 α -oxido-4-pregnen-3,20-dion (VII; Schmp.161°, $[\alpha]_D^{23} + 154^\circ$, λ_{\max} : 240 μ , ξ : 17600) oxydiert und dieses Epoxyd in der bereits beschriebenen Weise, z.B. mit p-Toluolsulfonsäure in Benzol, zu 16-Methylen-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion (VIII; Schmp.223°, $[\alpha]_D^{23} -7,5^\circ$, λ_{\max} : 240,5 μ , ξ : 17160) aufgespalten. VIII wurde nach dem Verfahren von H.J.Ringold und G.Stork⁸ in 21-Stellung jodiert und das rohe Jodid IX durch Kochen mit Kaliumacetat in Aceton in 16-Methylen-Reichsteins Substanz S-21-acetat (VIb; Schmp. 162-163°, $[\alpha]_D^{23} + 51,5^\circ$, λ_{\max} : 240,5 μ , ξ : 17000) verwandelt, das sich in üblicher Weise zum freien Alkohol VIa verseifen ließ.

Das Zwischenprodukt VIII lieferte bei der Acetylierung der am C-Atom 17 befindlichen Hydroxylgruppe das oral gestagen wirksame 16-Methylen-17 α -acetoxy-progesteron (X; Schmp.218-220°, $[\alpha]_D^{23}$: - 56,4°, λ_{\max} : 240 μ , ξ : 18200). Bei der Dehydrierung von X mittels Chloranil⁹ wurde 6-Dehydro-16-methylen-17 α -acetoxy-progesteron (XI; Schmp.226-227°,

⁸ H.J.Ringold und G.Stork, J.Amer.Chem.Soc. 80, 250 (1958)

⁹ E.J.Agnello und G.D.Laubach; J.Amer.Chem.Soc. 79, 1257 (1957)

$\angle\alpha \int_D^{23} - 130^\circ$, λ_{\max} : 281,5 μ , ϵ : 27200) erhalten, das wie in analogen Fällen bereits beschrieben eine noch höhere gestagene Wirkung besitzt.¹⁰

Von 16-Methylen-Reichsteins Substanz S (VIa) aus führte der Weg weiter zu den 16-Methylen-Analoga der Corticosteroidreihe. Zu diesem Zweck wurde VIa mit einer Kultur von *Curvularia lunata*¹¹ in 11 β -Stellung unter Bildung von 16-Methylen-hydrocortison (XIIa; Schmp. 232-233°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 79^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 241 μ , ϵ : 17400; 21-Acetat XIIb: Schmp. 218-220°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 90^\circ$, λ_{\max} 241,5 μ , ϵ : 17200) hydroxyliert. Die 11 α -Hydroxylierung von VIa zu 16-Methylen-11-epi-hydrocortison (XIIIa, Schmp. 199-201°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 42^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 241 μ , ϵ : 16700; 21-Acetat XIIIb: amorph) gelang durch Fermentation mit *Fusarium equiseti* Saccardo.¹² Oxydation von XIIb oder XIIIb in Aceton mit einer wäßrigen Chromsäure-Schwefelsäure-Mischung lieferte 16-Methylen-cortison-acetat (XIVb; Schmp. 213-214°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 140^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 237 μ , ϵ : 16900), das zu 16-Methylen-cortison

¹⁰ H.J. Ringold, E. Batres, A. Bowers, J. Edwards und J. Zderic, J. Amer. Chem. Soc. 81, 3485 (1959); H.J. Ringold, J.P. Ruelas, E. Batres und C. Djerassi, J. Amer. Chem. Soc. 81, 3712 (1959); P.B. Sollman, R.L. Elton und R.M. Dodson, J. Amer. Chem. Soc. 81, 4435 (1959); A. Bowers, L.C. Ibanez und H.J. Ringold, J. Amer. Chem. Soc. 81, 5991 (1959)

¹¹ G.M. Shull und D.A. Kita, J. Amer. Chem. Soc. 77, 763 (1955)

¹² H.J. Mannhardt und H. Metz, Dt. Pat. 1 069 623

(XIVa; Schmp. 219-220°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 136^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 237 μ , ϵ : 16800) verseift wurde. XIIa wurde durch Bebrüten mit *Corynebacterium simplex*¹³ in 1,2-Stellung zu 16-Methylen-prednisolon (XV; Schmp.233-235°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 31^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 243 μ , ϵ : 15900) dehydriert. Analog ergab XIVa bei der mikrobiologischen Dehydrierung 16-Methylen-prednison (XVI; Schmp. 218-219°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 103^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 238 μ , ϵ : 16100).

Die 21-Desoxyverbindungen von XIIa und XV wurden von VIII aus erhalten. Dabei lieferte die Fermentation mit *Curvularia lunata* das 16-Methylen-4-pregnen-11 β ,17 α -diol-3,20-dion (XVII; Schmp.215-216°, $\angle\alpha \int_D^{23} + 42^\circ$, λ_{\max} : 241 μ , ϵ : 17300), das seinerseits durch mikrobiologische 1,2-Dehydrierung mit *Corynebacterium simplex* in 16-Methylen-1,4-pregnadien-11 β ,17 α -diol-3,20-dion (XVIII; Schmp.238-241°, $\angle\alpha \int_D^{23} - 37,5^\circ$, λ_{\max} : 243,5 μ , ϵ : 15400) umgewandelt werden konnte.

Verschiedene Reaktionsfolgen führten zu 9 α -Fluor-16-methylen-steroiden. So war das als Analogon zu Dexamethason¹⁴ interessante 9 α -Fluor-16-methylen-prednisolon

¹³ A.Nobile, W.Charney, P.L.Pearlman, H.L.Herzog, C.C.Payne, M.E.Tully, M.A.Jevnik und E.B.Hershberg, J.Amer.Chem.Soc. 77, 4184 (1955)

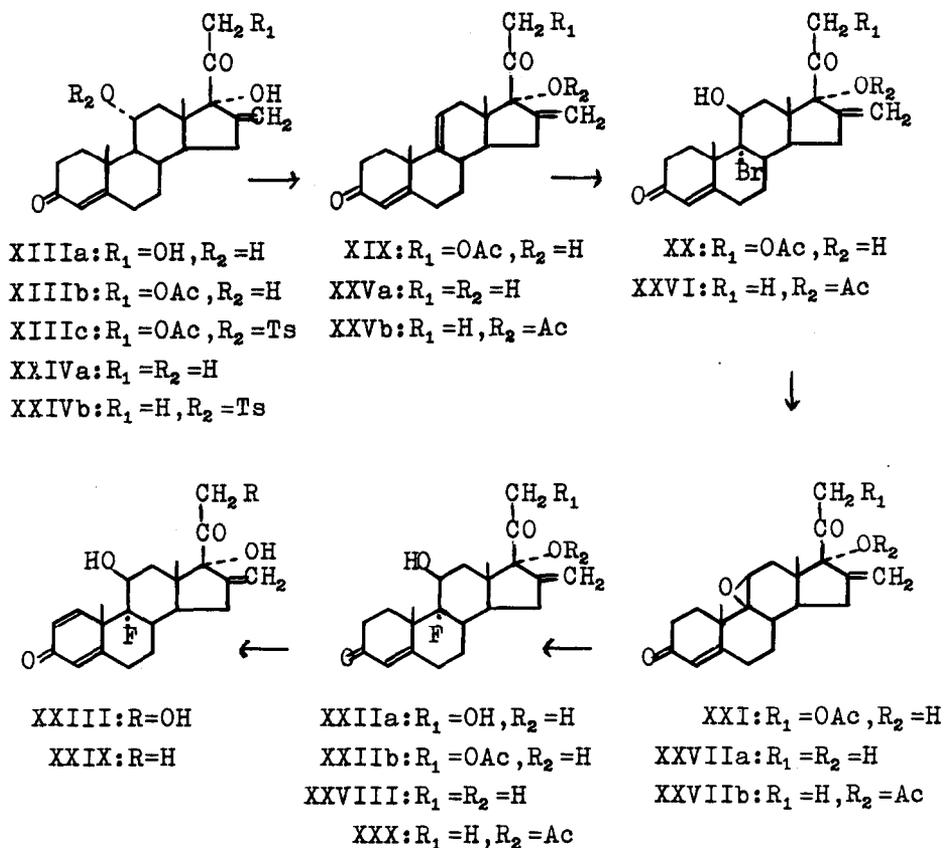
¹⁴ G.E.Arth, J.Fried, D.B.R.Johnston, D.R.Hoff, L.H.Sarett, R.H.Silber, H.C.Stoerk und C.A.Winter, J.Amer.Chem.Soc. 80, 3161 (1958); E.P.Oliveto, R.Rausser, L.Weber, A.L.Nussbaum, W.Gebert, C.T.Corniglio, E.B.Hershberg, S.Tolksdorf, M.Eisler, P.L.Pearlman und M.M.Pechet, J.Amer.Chem.Soc. 80, 4431 (1958)

(XXIII) aus XIIIb analog dem Verfahren von J.Fried und E.F.Sabo¹⁵ auf folgendem Weg erhältlich: XIIIb wurde mit p-Toluolsulfochlorid in Pyridin in das 16-Methylen-11-epi-hydrocortison-11-tosylat-21-acetat (XIIIc; Schmp.160-161°, $[\alpha]_D^{23} + 67^\circ$, λ_{\max} : 229 m μ , ϵ : 24 700) umgewandelt, daraus mittels Natriumacetat p-Toluolsulfonsäure zu 16-Methylen-4,9(11)-pregnadien-17 α ,21-diol-3,20-dion-21-acetat (XIX; Schmp. 215-217°, $[\alpha]_D^{23} + 51^\circ$, λ_{\max} : 238,5 m μ , ϵ : 16800) abgespalten, an das sich seinerseits mittels N-Bromsuccinimid in Dioxan-Wasser unter Zusatz einer kleinen Menge Perchlorsäure unterbromige Säure anlagern ließ. Das dabei gewonnene 9 α -Brom-16-methylen-hydrocortison-21-acetat (XX) wurde ohne weitere Reinigung mit äthanolischer Kaliumacetatlösung verkocht und das gebildete 9 β ,11 β -Oxido-16-methylen-4-pregnen-17 α ,21-diol-3,20-dion-21-acetat (XXI; Schmp. 210-211°, $[\alpha]_D^{23} - 35^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 243 m μ , ϵ : 16200) mit Fluorwasserstoff in Tetrahydrofuranlösung¹⁶ zu 9 α -Fluor-16-methylen-hydrocortison-acetat (XXIIb; Schmp.209-211°, $[\alpha]_D^{23} + 71^\circ$, λ_{\max} : 238 m μ , ϵ : 17300) aufgespalten. Nach Verseifung resultierte 9 α -Fluor-16-methylen-hydrocortison (XXIIa; Schmp.242-244°, $[\alpha]_D^{23} + 80^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 238 m μ , ϵ : 17600), das mikrobiologisch mit *Corynebacterium simplex* zu 9 α -Fluor-16-methylen-prednisolon

¹⁵ J.Fried und E.F.Sabo, J.Amer.Chem.Soc. 79, 1130 (1957)

¹⁶ R.F.Hirschmann, R.Miller, J.Wood und R.E.Jones, J.Amer.Chem.Soc. 78, 4956 (1956)

(XXIII; Schmp. 249-251°, $[\alpha]_D^{23} + 29^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 238,5 m μ , ξ : 16000) dehydriert wurde.



In einem zweiten Weg zu XXIII wurde 16-Methylen-17 α -hydroxy-progesteron (VIII) mikrobiologisch mit *Fusarium equiseti* Saccardo in 16-Methylen-4-pregnen-11 α ,17 α -diol-3,20-dion (XXIVa; Schmp. 208-210°, $[\alpha]_D^{23} - 8^\circ$, λ_{\max} : 241 m μ ,

ϵ : 16500) ungewandelt. Das 11-Tosylat (XXIVb; Schmp. 162°, $[\alpha]_D^{23} - 2^\circ$, λ_{\max} : 229,5 μ , ϵ : 25400) ergab bei der alkalischen Abspaltung von p-Toluolsulfonsäure 16-Methylen-4,9(11)-pregnadien-17 α -ol-3,20-dion (XXVa; Schmp. 227-228°, $[\alpha]_D^{23} - 23^\circ$, λ_{\max} : 238,5 μ , ϵ : 18000), das nach H.J. Ringold und G.Stork⁸ in das 21-Jodderivat übergeführt und direkt weiter mit Kaliumacetat in Acetonlösung zu dem oben beschriebenen XIX verkocht wurde.

Die 21-Desoxyverbindungen von XXII und XXIII waren von XXVa aus zugänglich. An XXVa ließ sich unterbromige Säure in 9,11-Stellung nur mit sehr schlechten Ausbeuten anlagern, da die Reaktion zu einem erheblichen Teil an der exocyclischen Doppelbindung in 16 angreift. Die Reaktion ließ sich aber in die gewünschte Richtung steuern, wenn die 17 α -Hydroxylgruppe vor der Anlagerung unter den dafür üblichen Bedingungen acetyliert wurde. Das dabei erhaltene 16-Methylen-4,9(11)-pregnadien-17 α -ol-3,20-dion-acetat (XXVb; Schmp. 232-235°, $[\alpha]_D^{23} - 64^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 238,5 μ , ϵ : 17800) wurde mit N-Bromsuccinimid und Perchlorsäure in Dioxan-Wasser in 9 α -Brom-16-methylen-4-pregnen-11 β ,17 α -diol-3,20-dion-17-acetat (XXVI) übergeführt, aus dem ohne weitere Reinigung Bromwasserstoff zu 9 β ,11 β -Oxido-16-methylen-17 α -acetoxy-progesteron (XXVIIb; Schmp. 194-196°, $[\alpha]_D^{23} - 142,6^\circ$ (Dioxan), λ_{\max} : 242 μ , ϵ : 15800) abgespalten wurde. Das nach Verseifung erhaltene 9 β ,11 β -Oxido-16-

methylen-4-pregnen-17 α -ol-3,20-dion (XXVIIa; Schmp. 172-175°, $[\alpha]_D^{23}$ - 122,6°, λ_{\max} : 243 m μ , ξ : 14200) wurde mit Fluorwasserstoff in Tetrahydrofuran zu 9 α -Fluor-16-methylen-4-pregnen-11 β ,17 α -diol-3,20-dion (XXVIII; Schmp. 247-250°, $[\alpha]_D^{23}$ + 53° (Aethanol), λ_{\max} : 238,5 m μ , ξ : 18000) aufgespalten und ging bei mikrobiologischer Dehydrierung mit *Corynebacterium simplex* in 9 α -Fluor-16-methylen-1,4-pregna-dien-11 β ,17 α -diol-3,20-dion (XXIX; Schmp. 271-275°, $[\alpha]_D^{23}$ + 30° (Aethanol), λ_{\max} : 238,5 m μ , ξ : 15800) über.

Als Verbindung mit acetylierter 17 α -Hydroxylgruppe und hoher oraler gestagener Wirkung ist noch das durch Fluorwasserstoff-Aufspaltung von XXVIIb erhältliche 9 α -Fluor-16-methylen-4-pregnen-11 β ,17 α -diol-3,20-dion-17-acetat (XXX; Schmp. 243-245°, $[\alpha]_D^{23}$ - 32°, λ_{\max} : 238 m μ , ξ : 18600) zu erwähnen.

Von den neu gewonnenen 16-Methylen-steroiden zeigen einige im Tierversuch eine bemerkenswerte Wirksamkeit. Z.B. besitzen in der Corticoidreihe 16-Methylen-prednisolon (XV), 16-Methylen-prednison (XVI) und 9 α -Fluor-16-methylen-prednisolon (XXIII) im Vergleich zu ihren in 16-Stellung unsubstituierten Stammsubstanzen eine verstärkte glucocorticoide Wirksamkeit. Das gleiche gilt für die gestagene Wirkung von 16-Methylen-17 α -acetoxy-progesteron (X), 6-Dehydro-16-methylen-17 α -acetoxy-progesteron (XI) und 9 α -Fluor-16-methylen-11 β -hydroxy-17 α -acetoxy-

progesteron (XXX). Einzelheiten über die pharmakologischen Eigenschaften der neuen Substanzen werden an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Wir danken Herrn Dr.Hampel für die Aufnahme und Deutung der UV- und IR-Spektren.