

Zusammenfassung

Aus Cholesterin- α -oxyd (I) lässt sich über das $3\beta,5$ -Diol IVa in guter Ausbeute Epi-cholesterin erhalten. Das Verfahren ist den bisher bekannten Methoden zur Herstellung von Epi-cholesterin überlegen.

Cholestan-($3\alpha,5$)-diol (Va) wurde neu hergestellt und seine Konfiguration durch die Bildung des cyclischen Carbonates VI bewiesen.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

196. Über Steroide.

81. Mitteilung¹⁾.

Über 11-Dehydro-progesteron, das wirksamste Gestagen²⁾³⁾

von Ch. Meystre, E. Tschopp und A. Wettstein.

(8. VII. 48.)

Die für das Corpus luteum-Hormon charakteristische Wirkung ist, im Gegensatz zur oestrogenen Wirkung, ziemlich spezifisch an gewisse chemische Strukturen gebunden. Im folgenden sind die aus der Literatur bekannten Verbindungen mit erheblicher progestativer Wirkung (Gestagene) kurz zusammengestellt. Beim Vergleich der Wirksamkeiten ist eine gewisse Fehlerbreite zu berücksichtigen, weil die gebräuchlichen Testmethoden⁴⁾ verschieden empfindlich sind und einige Testierungen offensichtlich an einer unzureichenden Anzahl von Tieren durchgeführt werden mussten.

Die bisher aufgefundenen, wirksamen Verbindungen leiten sich alle vom Kohlenwasserstoff Pregnan ab⁵⁾, einfache „Dietriche“ wie bei den oestrogenen Hormonen existieren also nicht.

¹⁾ 80. Mitt. siehe Helv. 31, 1302 (1948).

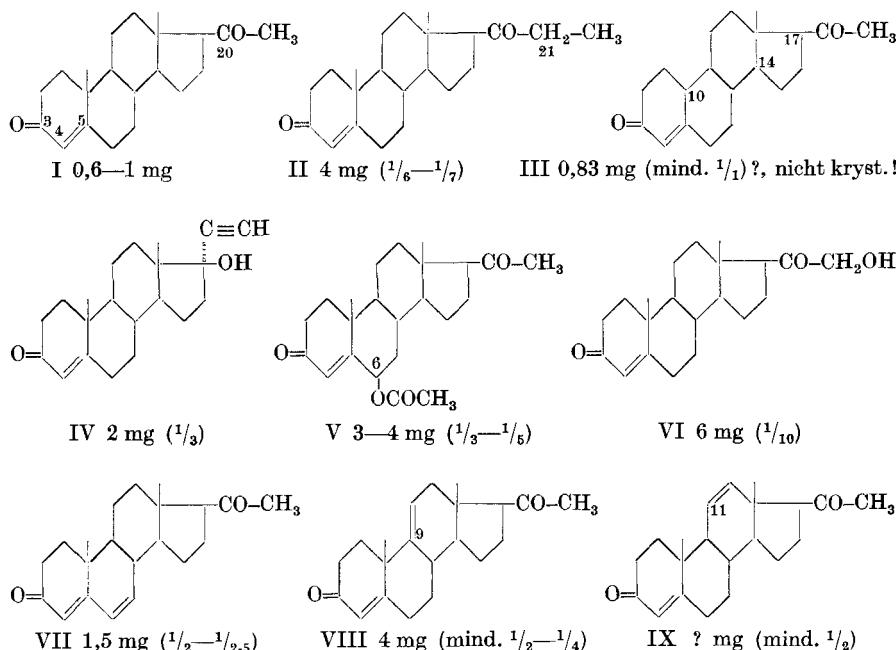
²⁾ Der Inhalt dieser Mitteilung wurde von A. W. am 3. VII. 48. vor dem Schweiz. Verein der Physiologen und Pharmakologen in Bern vorgetragen. Vgl. den Verhandlungsbericht in Helv. physiol. pharmacol. acta 6 (1948), im Druck.

³⁾ Zur Nomenklatur siehe K. Miescher, Recent Progress in Hormone Research (Proc. of the Laurentian Hormone Conference), Academic Press, New York, Vol. 3, im Druck. Dort werden die *Sexogene* eingeteilt in *Oestogene*, *Androgene* und *Gestagene*.

⁴⁾ G. W. Corner und W. M. Allen, Am. J. Physiol. 88, 326 (1929). C. Clauberg, Proc. 2nd Int. Congr. Sex Research, London 1930, S. 346; Die weibl. Sexualhormone, Springer, Berlin 1933, S. 88. Die in diesen Testen noch positive Resultate liefernden Substanzmengen verhalten sich etwa wie 3:2 oder 5:3. Eine internationale Einheit entspricht 1 mg Progesteron.

⁵⁾ Vgl. auch die neue Übersicht der Synthesen in der Progesteron-Reihe von M. Ehrenstein, Chem. Rev. 42, 457 (1948). Ganz geringe Wirkungen werden ferner für gewisse primär androgene Substanzen angegeben: M. Klein und A. S. Parkes, Chem. and Ind. 55, 236 (1936).

Von den im natürlichen Hormon, dem Progesteron (I)¹⁾, enthaltenen Strukturelementen ist die Ketogruppe in 3-Stellung mit einer konjugierten Doppelbindung in 4,5-Stellung unbedingt erforderlich²⁾. Am Kohlenwasserstoff-Gerüst lässt sich nur wenig ändern: Immerhin besitzt das 21-Methyl-progesteron (II)³⁾, ein höheres Seitenketten-Homologes, noch einen gewissen Bruchteil der Wirkung des Progesterons. Etwa gleich wirksam wie letzteres soll ferner ein nicht krystallisiertes, offenbar noch uneinheitliches 10-Norprogesteron (III)⁴⁾ sein, dessen Konfiguration an den Kohlenstoffatomen 10, 14 und 17 unbestimmt ist.



Die Zahlenangaben in mg bedeuten die geringsten verabreichten Dosen, mit denen bei subcutaner Applikation bisher ein positiver Ausfall des Testes auf Corpus luteum-Hormon beobachtet worden war. Die Zahlen in Klammern geben die progestative Wirkung bezogen auf diejenige des Progesterons an.

¹⁾ K. H. Slotta, H. Ruschig und E. Fels, B. **67**, 1270 (1934); M. Hartmann und A. Wettstein, Helv. **17**, 878, 1365 (1934); A. Butenandt und U. Westphal, B. **67**, 1440 (1934); dieselben mit W. Hohlweg, Z. physiol. Ch. **227**, 84 (1934); W. M. Allen und O. Wintersteiner, Science **80**, 190 (1934); J. biol. Chem. **107**, 321 (1934).

²⁾ Vgl. dagegen das ganz schwach wirksame, isomere Δ^1 -Allo-pregnén-3,20-dion, 12 mg (1/16): A. Butenandt, L. Mamoli, H. Dannenberg, L. W. Masch und J. Paland, B. **72**, 1620 (1939).

³⁾ A. Wettstein, Helv. **23**, 1371 (1940).

⁴⁾ M. Ehrenstein, J. org. Chem. **9**, 435 (1944); W. M. Allen und M. Ehrenstein, Science **100**, 251 (1944).

Die Ketogruppe in 20-Stellung ist nicht unbedingt zur Wirkung erforderlich, wenn auch nur eine wirksame Verbindung ohne sie aufgefunden wurde, das Anhydro-oxy-progesteron (IV)¹⁾, das ebenfalls peroral gut wirkt.

Über den Einfluss zusätzlicher Oxogruppen ist wenig bekannt²⁾, hingegen lassen sich interessante Wirkungsunterschiede bei der Einführung von Hydroxylgruppen feststellen: Während sich das 11β -Oxy-, 12α -Oxy- und die beiden isomeren 17α - und 17β -Oxy-progesterone als unwirksam erwiesen³⁾, kommt dem 6β -Oxy-progesteronacetat (V)⁴⁾ eine ordentliche, und auch dem 21-Oxy-progesteron (= 11-Desoxy-corticosteron) (VI)⁵⁾ noch eine minime Wirkung zu.

Drei der insgesamt neun bekannten, erheblich wirksamen Gestagene leiten sich vom Progesteron durch eine zusätzliche Doppelbindung ab. Zwar hatte sich das 16-Dehydro-progesteron als unwirksam erwiesen. Im 6-Dehydro-progesteron (VII)⁶⁾ wurde aber ein Derivat des Progesterons aufgefunden, das noch die Hälfte seiner Wirkung besitzt; eine ähnliche Wirksamkeit wurde auch für das 9-Dehydro-progesteron (VIII)⁷⁾⁸⁾ und das 11-Dehydro-progesteron (IX)⁸⁾⁹⁾ festgestellt. Die beiden letzteren Verbindungen waren dabei aus Substanzmangel nicht in kleineren Dosen geprüft worden.

Aus der Literatur lässt sich also schliessen, dass eine kleine Zahl dem Progesteron nahe verwandter Verbindungen rein hergestellt worden ist, die subcutan verabreicht eine zwar erhebliche, aber doch geringere Wirkung aufweist als das natürliche Hormon. Insbesondere erscheinen die Dehydro-progesterone VII—IX nur um weniges wirkungsärmer als Progesteron¹⁰⁾.

Wir haben nun die Untersuchung des 11-Dehydro-progesterons (IX) erneut aufgenommen. Anlass hiezu bot die verhältnismässig leichte Zugänglichkeit des 12α -Acetoxy-pregnan-3,20-dions (XI) nach dem neuen Abbau-Verfahren für Gallensäuren-Seitenketten zur

¹⁾ Gleich 17-Äthiny-testosteron: *H. H. Inhoffen* und *W. Hohlweg*, Naturwiss. **26**, 96 (1938); *L. Ruzicka*, *K. Hofmann* und *H. F. Mehldahl*, Helv. **21**, 371 (1938).

²⁾ 6-, 11-, 12- sowie 21-Oxo-progesteron wurden zwar hergestellt, aber nur das erste geprüft und unwirksam befunden.

³⁾ Für zwei 2-Oxy-progesterone sowie ein 2,21-Dioxy-progesteron liegen keine Angaben vor.

⁴⁾ *M. Ehrenstein* und *T. O. Stevens*, J. org. Chem. **5**, 318 (1940); **6**, 908 (1941); *M. Ehrenstein*, ibid. **13**, 220 (1948).

⁵⁾ *M. Steiger* und *T. Reichstein*, Helv. **20**, 1164 (1937); *K. Miescher*, *W. H. Fischer* und *E. Tschopp*, Nature **142**, 435 (1938); *W. Hohlweg*, Zbl. Gynäkol. **63**, 1143 (1939); *Fr. Hoffmann* und *P. Treite*, ibid. **64**, 1609 (1940).

⁶⁾ *A. Wettstein*, Helv. **23**, 388 (1940); *Ch. Meystre* und *A. Wettstein*, Exper. **2**, 408 (1946).

⁷⁾ *C. W. Shoppee* und *T. Reichstein*, Helv. **24**, 351 (1941).

⁸⁾ *P. Hegner* und *T. Reichstein*, Helv. **26**, 715 (1943).

⁹⁾ *J. von Euw* und *T. Reichstein*, Helv. **29**, 669 (1946).

¹⁰⁾ Siehe die Zusammenfassung in *M. Ehrenstein*, Chem. Rev. **42**, 457 (1948).

Methylketonstufe¹⁾. Es gestattete, XI aus Desoxy-cholsäure (X) mittels N-Brom-succinimid in nur 7 Stufen herzustellen, während der Wieland'sche Abbau²⁾³⁾ über etwa 17 Zwischenglieder führte.

Das Acetoxy-pregnandion (XI) ist bereits früher von T. Reichstein und Mitarb. auf zwei verschiedenen Wegen in 11-Dehydro-progesteron umgewandelt worden. Die erste Synthese⁴⁾ führte durch Bromierung (XIV) und Bromwasserstoff-Abspaltung zum 12α -Acetoxy-progesteron (XV) und durch Verseifung desselben zum 12α -Oxy-progesteron (XVI), das auf analogem Wege von deutschen Forschern⁴⁾ erhalten worden war. XVI liess sich anderseits aus XI auch durch Verseifung zum 12α -Oxy-pregnan-3,20-dion (XII), Bromierung (XIII) und Bromwasserstoff-Abspaltung gewinnen⁵⁾. Die Hydroxylgruppe im 12α -Oxy-progesteron (XVI) wurde schliesslich benzoiliert (XVII) und thermisch abgespalten unter Bildung von 11-Dehydro-progesteron (IX)³⁾. Bei der zweiten Synthese⁶⁾ tosylierten die Autoren vorerst das 12α -Oxy-pregnan-3,20-dion (XII) zu XIX, führten dann Brom in 5-Stellung ein (XX), um schliesslich gleichzeitig p-Toluolsulfinsäure und Bromwasserstoff abzuspalten (IX).

Bei einer Reihe von Vorversuchen bewährte sich zur Überführung von XI in 11-Dehydro-progesteron (IX) besonders ein Weg über das 12α -Oxy-progesteron (XVI). Bis zu letzterer Verbindung folgten wir dem Syntheseweg von Ehrhart⁴⁾-Hegner³⁾. Dabei wurden aus 18,3 g XI 15,09 g des Bromids XIV vom Smp. 176—178° u. Zers. erhalten⁷⁾, aus diesen 6,22 g des ungesättigten Acetoxy-ketons XV⁸⁾ vom Smp. 186—187° und schliesslich durch Verseifung 5,12 g 12α -Oxy-progesteron (XVI) vom Smp. 200—203° und $[\alpha]_D^{21} = +205,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,00$ in Aceton). XVI ergab mit Tetranitromethan in Chloroformlösung keine Farbreaktion. Die angeführten Schmelzpunkte⁹⁾ liegen etwas höher als die aus der Literatur bekannten.

Die Hydroxylgruppe in XVI wurde nicht durch thermische Zersetzung des Benzoates, sondern durch Überführung ins p-Toluolsulfonat (XVIII) vom Smp. 185—188° und der Drehung $[\alpha]_D^{24} = +110^\circ \pm 3^\circ$ (in CHCl_3) und Erhitzen desselben mit Kollidin¹⁰⁾ in Xylool abgespalten. Das so gewonnene 11-Dehydro-progesteron (IX)

¹⁾ Ch. Meystre, H. Frey, A. Wettstein und K. Miescher, Helv. **27**, 1815 (1944); Ch. Meystre, L. Ehnmann, R. Neher und K. Miescher, Helv. **28**, 1252 (1945).

²⁾ W. M. Hoehn und H. L. Mason, Am. Soc. **60**, 1493 (1938); J. Sawlewicz, Roczniki Chem. **18**, 755 (1938); T. Reichstein und E. von Arx, Helv. **23**, 747 (1940).

³⁾ P. Hegner und T. Reichstein, Helv. **26**, 715 (1943); F. P. 879'972 u. a.

⁴⁾ G. Ehrhart, H. Ruschig und W. Aumüller, Z. angew. Ch. **52**, 363 (1939); M. Bockmühl, G. Ehrhart, H. Ruschig und W. Aumüller, bzw. Winthrop Chem. Co., Am. Pat. 2'142'170.

⁵⁾ C. W. Shoppee und T. Reichstein, Helv. **24**, 351 (1941).

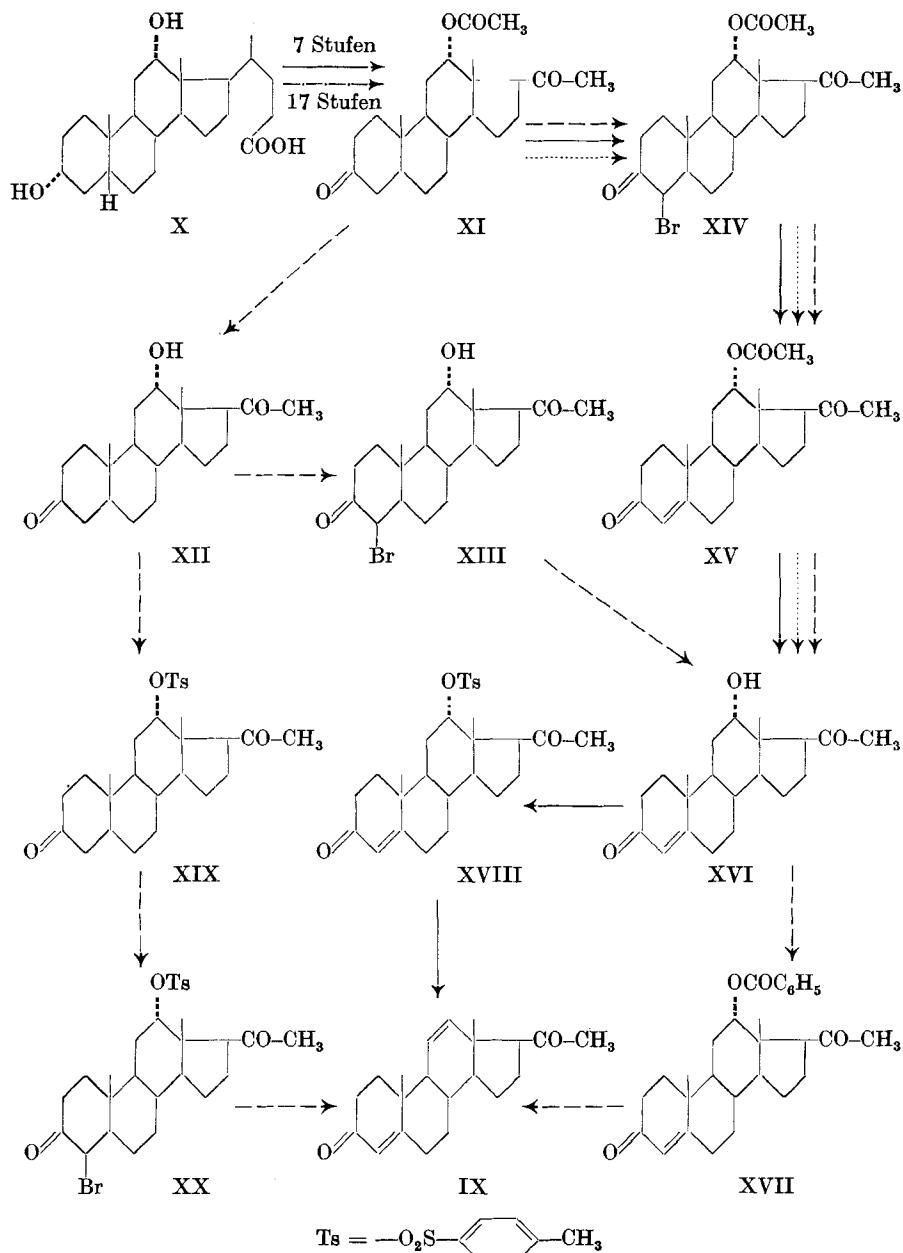
⁶⁾ J. von Euw und T. Reichstein, Helv. **29**, 654 (1946).

⁷⁾ Daneben nach Entbromung mit Zink in Eisessig noch 3,44 g Ausgangsmaterial zurückgewonnen.

⁸⁾ Vgl. auch die neue, über Δ^4 -3-Keto-dinitrophenylhydrazone führende Methode zur Bromwasserstoff-Abspaltung von R. Mattox und E. C. Kendall, Am. Soc. **70**, 882 (1948).

⁹⁾ Thermoelektrisch unter dem Mikroskop bestimmt.

¹⁰⁾ Vgl. J. von Euw und T. Reichstein, Helv. **29**, 654 (1946).



→ Unser Syntheseweg

→ W. M. Hoehn und H. L. Mason

→ P. Hegner und T. Reichstein; J. von Euw und T. Reichstein; C. W. Shoppee und T. Reichstein

→ G. Ehrhart

schmolz bei 177—179° und wies in Aceton ($c = 0,70$) eine Drehung von $[\alpha]_D^{22} = +182^\circ \pm 3^\circ$ auf, was mit den Literaturangaben übereinstimmt. Die Verbindung besitzt im Ultraviolet-Spektrum¹⁾ erwartungsgemäss eine sehr starke Bande bei 2380 Å ($\log \varepsilon_{\max} = 4,34$ in Äthanol) sowie eine kleine Inflexion bei ca. 2900 Å. Mit Tetranitromethan in Chloroform-Lösung zeigte sie eine deutliche Gelbfärbung. Insgesamt haben so 12 statt bisher minimal 21 Stufen von der Desoxy-cholsäure zum 11-Dehydro-progesteron geführt.

Die Testierungen auf Corpus luteum-Hormon-Wirkung wurden in einem modifizierten Clauberg-Test²⁾ durchgeführt. Dabei erhielten kastrierte, weibliche Kaninchen von ca. 1,4 kg Gewicht, nach 7-tägiger Vorbehandlung mit täglich 10 γ Oestron, während 5 Tagen täglich je $1/5$ der unten angegebenen Dosis, in je 1 cm³ Sesamöl gelöst, subcutan injiziert. Für einen positiven Ausfall des Testes sollen bei der 24 Stunden nach der letzten Injektion vorgenommenen histologischen Untersuchung der Uteri mindestens 50% der Tiere eine starke deciduale Umwandlung der Schleimhaut zeigen, wobei also die schwach positiven Resultate (+) nicht mitgezählt werden.

Dosis total subcutan mg	Anzahl Kaninchen					
	11-Dehydro-progesteron			Progesteron		
	+	(+)	—	+	(+)	—
1,0	2	0	0	5	0	0
0,6				5	2	0
0,5	3	0	0	1	1	3
0,25	4	1	0	0	0	3
0,2	6	0	0	0	0	3
0,15	2	2	1			
0,1	0	0	3			
0,05	0	0	3			

Aus dieser Versuchsreihe an insgesamt 50 Tieren geht hervor, dass das 11-Dehydro-progesteron unter unseren Testbedingungen noch mit einer Schwellendosis von 0,2 mg progestativ wirkt, während für dieselbe Wirkung 0,6 mg Progesteron nötig sind. Das 11-Dehydro-progesteron stellt damit die bisher wirksamste Verbindung dar, da sie sogar das natürliche Corpus luteum-Hormon um das Dreifache an Wirkung übertrifft.

Schliesslich untersuchten wir noch das 12α -Oxy-progesteron (XVI) im beschriebenen Test auf progestative Wirkung. Auch mit insgesamt 10 mg war kein positives Resultat zu erzielen. 12α -Oxy-progesteron ist also mindestens 17 mal weniger wirksam als Progesteron.

¹⁾ Wir verdanken diese Aufnahme Herrn Prof. Almasy, Zürich, bestens.

²⁾ E. Tschopp, zitiert in M. Hartmann und A. Wettstein, Helv. 17, 881 (1934).

Experimenteller Teil.

$\Delta^{4-}12\alpha$ -Tosyloxy-pregn-3,20-dion (XVIII) aus 12α -Oxy-progesteron (XVI).

12α -Oxy-progesteron (XVI) wurde nach *Ehrhart*¹⁾-*Hegner*¹⁾ in vorne angegebener Ausbeute aus 12α -Acetoxy-pregn-3,20-dion (XI)²⁾ hergestellt. 4,5 g XVI erwärmt man dann mit 6 g p-Toluolsulfosäure-chlorid in 30 cm³ Pyridin 6 Tage auf 40°. Die Reaktionslösung wurde vorsichtig mit Wasser versetzt, mit Äther ausgezogen und die ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure, Wasser, verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt. Dabei krystallisierte das 12α -Tosyloxy-progesteron (XVIII) vom Smp. 185—188° aus. Erhalten wurden 3,91 g, sowie 1,73 g eines nicht krystallisierenden Anteils.

$C_{28}H_{36}O_5S$ Ber. C 69,39 H 7,49%
Gef. „, 69,45 „, 7,58%

$[\alpha]_D^{24} = +110^\circ \pm 3^\circ$ (c = 1,04 in Chloroform)

11-Dehydro-progesteron ($\Delta^{4,11}$ -Pregnadien-3,20-dion (IX)).

400 mg des Tosylates XVIII vom Smp. 185—188° wurden in 2 cm³ sym. Kollidin und 5 cm³ o-Xylo 24 Stunden unter Rückfluss gekocht. Die Lösung dampfte man hierauf im Vakuum ein, nahm den Rückstand in einem Äther-Chloroform-Gemisch 4:1 auf, wusch die Lösung mit verdünnter Salzsäure und Wasser, trocknete sie und dampfte sie ein. Die 280 mg Rückstand wurden an 10 g Aluminiumoxyd nach dem Durchlaufverfahren chromatographiert. Die mit Pentan-Benzol (1:1) eluierten Fraktionen ergaben insgesamt 180 mg Öl, das in Äther-Pentan aufgenommen wurde und so krystallisiertes 11-Dehydro-progesteron lieferte. Aus Äther umkrystallisiert schmolz dieses bei 177—179°.

$C_{21}H_{28}O_2$ Ber. C 80,73 H 9,03%
Gef. „, 80,93 „, 8,87%
 $[\alpha]_D^{22} = +182^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,70 in Aceton)

Bei der weiteren Entwicklung des Chromatogramms erhielt man aus den Benzol-Eluaten noch unverändertes Tosylat vom Smp. 184—188° zurück.

Zusammenfassung.

Der neue und einfache Abbauweg der Gallensäuren-Seitenkette zur Methylketonstufe nach dem N-Brom-succinimid-Verfahren führte uns, ausgehend von Desoxycholsäure, zum 12α -Acetoxy-pregn-3,20-dion. Daraus wurde nach einem modifizierten Verfahren erstmals eine ausreichende Menge von 11-Dehydro-progesteron hergestellt.

11-Dehydro-progesteron zeigte am Kaninchen unter unseren Versuchsbedingungen eine 3 mal stärkere progestative Wirkung als das natürliche Hormon Progesteron und erwies sich damit als das wirksamste bekannte Gestagen.

Die Analysen und Drehungen wurden unter der Leitung von Herrn Dr. *Gysel* in unserem mikroanalytischen Laboratorium ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft, Basel*,
Pharmazeutische Abteilung.

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ *Ch. Meystre* c. s., loc. cit.