

38. Über Steroide.

103. Mitteilung¹⁾.

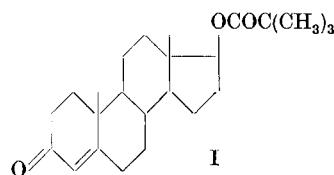
Ester der Nebennierenrinden-Hormone mit protrahierter Wirkung

von P. Wieland, J. Heer, J. Schmidlin und K. Miescher.

(21. XII. 50.)

Schon frühzeitig wurde von *Miescher, Fischer & Tschoopp*²⁾ erkannt, dass die Wirkungsdauer des Desoxycorticosterons (II) durch Veresterung der 21ständigen primären Hydroxylgruppe statt mit Essigsäure mit höheren organischen Säuren verlängert werden kann. In der Tat übertrafen das Desoxycorticosteron-palmitat und -benzoat bei subcutaner Injektion in Öl im Überlebenstest an jungen adrenalektomierten Ratten das Acetat um das Doppelte.

In Anbetracht der grossen Bedeutung, die neuerdings solchen Fragen besonders auch im Zusammenhang mit der Einführung des Cortisons in die Therapie zukommt, haben wir uns erneut der Herstellung länger wirksamer Derivate der Steroidhormone zugewandt. Es interessierte uns, ob schwer verseifbaren Estern, wie solchen der Trimethylessigsäure, die in α -Stellung zur Carboxylgruppe ein quaternäres Kohlenstoffatom besitzt, eine günstige Wirkungsdauer zukommt. Vorerst stellten wir das Trimethylacetat des Testosterons (I) her. Aber selbst bei subcutan in Sesamöl verabreichten Dosen von täglich 1 mg während 6 Tagen, trat am Kapaun keine Vergrösserung des Kammes ein³⁾.



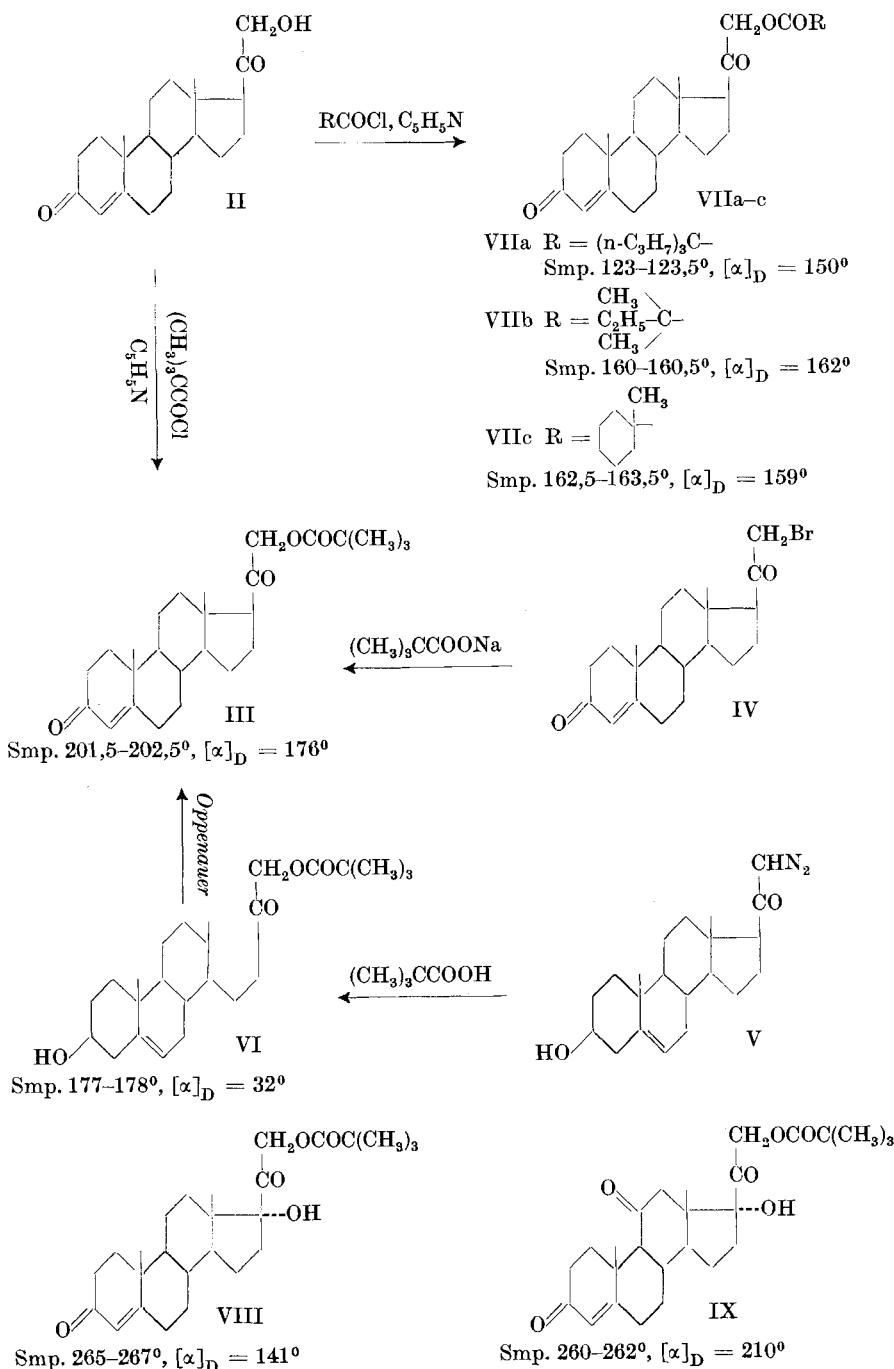
Smp. 157–158°, $[\alpha]_D^{22} = 88^\circ$ (CHCl_3)

Befriedigender verliefen die Versuche bei Verwendung von Rindenhormonen. Eingehender untersuchten wir zunächst die Ester terciär substituierter Carbonsäuren mit Desoxycorticosteron (II). Sein Trimethylacetat III wurde auf dreierlei Weise gewonnen: Analog dem Testosteron-trimethylacetat durch Umsetzung von Desoxycorticosteron (II) mit Trimethylacetyl-chlorid und Pyridin oder aus Δ^4 -3,20-Diketo-21-brom-pregnene (IV) und Natrium-trimethylacetat.

¹⁾ 102. Mitteilung siehe *L. Ehmann & A. Wettstein*, Pharm. acta Helv. **25**, 297 (1950).

²⁾ *K. Miescher, W. H. Fischer & E. Tschoopp*, Nature **142**, 435 (1938).

³⁾ Die Trimethylacetate von Östron und Östradiol wurden bereits von *R. E. Marker & E. Rohrmann*, Am. Soc. **61**, 1922 (1939), beschrieben.



Alle Drehungsbestimmungen wurden in Chloroform ausgeführt.

Schliesslich gingen wir vom Δ^5 - 3β -Oxy-20-keto-21-diazo-pregnien (V) aus, erhielten es mit Trimethylessigsäure und dehydrierten das entstandene Δ^5 - 3β -Oxy-20-keto-21-trimethylacetoxy-pregnien (VI) nach Oppenauer zum gewünschten Ester III.

Durch Umsetzung von Desoxycorticosteron (II) mit entsprechenden Säurechloriden in Gegenwart von Pyridin gelangten wir weiter zum Tripropylacetat VIIa, zum α, α -Dimethylbutyrat VIIb und zum 1-Methyl-hexahydro-benzoat VIIc.

In analoger Weise gewannen wir schliesslich die Trimethylacetate von Reichstein's Substanz S (VIII), sowie des Cortisons (IX). Hier ist besondere Vorsicht geboten, und es empfiehlt sich, die Umsetzung der freien Hormone mit Trimethylacetyl-chlorid unter guter Kühlung vorzunehmen.

Bei der Prüfung an nebennierenlosen Hunden bzw. Ratten zeigte nun in der Tat beispielsweise das Trimethylacetat des Desoxycorticosterons (III) im Erhaltungstest gegenüber dem Acetat eine deutlich verlängerte Wirkung. In Tabelle 1 sind als vorläufige Resultate¹⁾ vergleichsweise die Anzahl Tage bis zum Auftreten von Insuffizienzerscheinungen angegeben, nach einmaliger subcutaner Injektion in Sesamöl-Lösung.

Interessanterweise erwies sich der Schwellenwert des Desoxycorticosteron-trimethylacetates (III) an der Ratte mit 50 γ als geringer gegenüber demjenigen des Acetates (90 γ) und des Benzoates (100 γ). Auch am Hunde liegt der Schwellenwert des Trimethylacetates unter demjenigen des Benzoates.

Tabelle 1.

Desoxycorticosteron	Wirkungsdauer in Tagen	
	Hunde	Ratten
-acetat { 5 mg 10 mg	7 8	10-15
-trimethylacetat { 5 mg 10 mg	12 14-15	35

Ein ausführlicher Bericht über die pharmakologische Wirkung der hier beschriebenen Ester soll demnächst an anderer Stelle erscheinen.

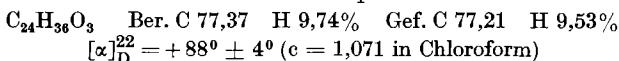
Experimenteller Teil²⁾.

Trimethylacetat des Testosterons (I). Zu einer Lösung von 500 mg Testosteron in 1 cm³ Pyridin gaben wir unter Kühlung mit einer Kältemischung 0,5 cm³ Trimethylacetyl-chlorid. Die Reaktionslösung liess man über Nacht bei -10° stehen und versetzte dann mit Eis und Wasser. Nach Abfiltrieren und Waschen mit Wasser wurde

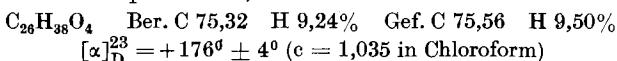
¹⁾ Wir verdanken diese den Herren Dr. F. Gross & Dr. E. Tschopp aus unseren biologischen Laboratorien (Leitung Herr Prof. Dr. R. Meier).

²⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

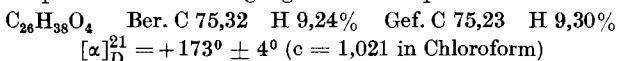
das erhaltene Trimethylacetat des Testosterons (I) zunächst aus wässrigem Aceton und dann aus Äther-Petroläther umkristallisiert. Smp. 157—158°.



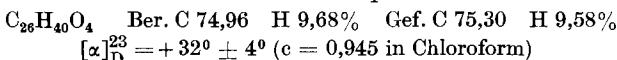
Trimethylacetat des Desoxycorticosterons (III). a) Zu einer Lösung von 9,5 g Desoxycorticosteron (II) in 20 cm³ Pyridin gaben wir unter Röhren bei —10° 8,5 cm³ Trimethylacetyl-chlorid. Die Reaktionslösung liess man während 15 Stunden bei —10° stehen. Dann wurde unter Eiskühlung mit Eis und Wasser versetzt und abfiltriert. Das erhaltene Trimethylacetat III wurde mit Wasser gewaschen und aus Benzol-Isopropyläther umkristallisiert. Smp. 200—202,5°.



b) 995 mg Δ^4 -3,20-Diketo-21-brom-pregnene (IV) wurden in 50 cm³ trockenem Aceton gelöst. Nach Zugabe von 1 g feinpulverisiertem Natriumtrimethylacetat kochten wir die Mischung während 10 Stunden unter Rückfluss. Dann wurde mit Wasser, Äther und Chloroform versetzt. Der Rückstand der mit Wasser gewaschenen, getrockneten und eingedampften organischen Lösung wurde aus Chloroform-Isopropyläther umkristallisiert. Das so erhaltene Trimethylacetat III schmolz bei 201,5—202,5° und gab mit dem unter a) erhaltenen Präparat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes.

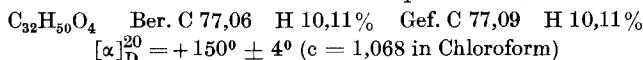


c) 3 g Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-21-diazo-pregnene (V) wurden mit 12 g Trimethylessigsäure versetzt und in einem Ölbad erwärmt. Die Stickstoffentwicklung setzte bei einer Ölbadtemperatur von ungefähr 135° ein und wurde bei 150° sehr heftig. Nach beendeter Stickstoffabgabe wurde mit Äther versetzt und mit verdünnter Soda-Lösung und Wasser gewaschen. Den Rückstand der getrockneten und eingedampften ätherischen Lösung chromatographierten wir an 80 g Aluminiumoxyd. Aus den Benzoleluaten wurde nach Umkristallisieren aus Aceton-Isopropyläther das Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-21-trimethylacetoxypregnene (VI) in Form farbloser Blättchen vom Smp. 177—178° erhalten.



Aus einer Lösung von 600 mg Δ^5 -3 β -Oxy-20-keto-21-trimethylacetoxypregnene (VI) in 45 cm³ Toluol und 9 cm³ Cyclohexanon destillierten wir 6 cm³ Lösungsmittel ab. Dann wurden in Abständen von 5 Minuten dreimal 150 mg Aluminiumisopropylat in 3 cm³ Toluol zugegeben. Nach 20 Minuten Kochen im Stickstoffstrom, wobei weitere 4 cm³ Lösungsmittel abdestillierten, wurde mit verdünnter Salzsäure und Äther versetzt, die organische Lösung mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Zur Entfernung von Cyclohexanon erhitzten wir den Rückstand im Wasserstrahlvakuum auf 100°. Das wie oben gereinigte, in farblosen Prismen kristallisierende Trimethylacetat des Desoxycorticosterons (III) schmolz bei 200,5—202,5° und war nach Mischschmelzpunkt mit dem unter a) erhaltenen Präparat identisch.

Tripropylacetat des Desoxycorticosterons (VIIa). Zu einer Lösung von 2 g Desoxycorticosteron (II) in 5 cm³ Pyridin gaben wir bei —10° 4 cm³ Tripropylacetylchlorid und liessen die Reaktionslösung 6 Tage bei —10° stehen. Dann wurde mit Eiswasser versetzt, mit Äther ausgeschüttelt und die ätherische Lösung nacheinander mit verdünnter Salzsäure, Wasser, verdünnter Soda-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Nach Umlösen des Rückstandes aus Isopropyläther erhielten wir das Tripropylacetat VIIa in verfilzten Nadeln vom Smp. 123—123,5°.



α, α -Dimethylbutyrat des Desoxycorticosterons (VIIb). 1 g Desoxycorticosteron (II) wurde in 2 cm³ trockenem Pyridin gelöst und unter Kühlung mit einer Eis-

Kochsalzmischung mit 1 cm³ α , α -Dimethylbuttersäure-chlorid versetzt. Dann liess man die Reaktionslösung über Nacht bei -10° stehen, gab am folgenden Tage unter guter Kühlung Eis zu und filtrierte vom ausgefallenen α , α -Dimethylbutyrat VIIb ab. Aus Aceton kristallisierte es in farblosen Nadeln vom Smp. 160—160,5°.

$C_{27}H_{40}O_4$ Ber. C 75,66 H 9,41% Gef. C 75,53 H 9,38%
 $[\alpha]_D^{23} = +162^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,99 in Chloroform)

1-Methyl-hexahydro-benzoat des Desoxycorticosterons (VIIc). Der aus 2 g Desoxycorticosteron (II) und 2,5 cm³ 1-Methyl-hexahydro-benzoylchlorid in Gegenwart von 5 cm³ Pyridin hergestellte Ester VIIc kristallisierte aus Aceton in farblosen Blättchen vom Smp. 162,5—163,5°.

$C_{29}H_{42}O_4$ Ber. C 76,61 H 9,31% Gef. C 76,54 H 9,29%
 $[\alpha]_D^{22} = +159^\circ \pm 4^\circ$ (c = 1,01 in Chloroform)

Trimethylacetat von *Reichstein's Substanz S* (VIII). Eine in trockener Stickstoffatmosphäre bereitete Lösung von 1,735 g Substanz S (Δ^4 -3,20-Diketo-17 α ,21-dioxy-pregnen) in 50 cm³ wasserfreiem Methylenchlorid versetzte man bei -15° im Verlaufe von 2 Stunden mit einem Gemisch von 3 cm³ Trimethylacetyl-chlorid, 2 cm³ absolutem Pyridin und 20 cm³ wasserfreiem Methylenchlorid. Nach beendeter Zugabe wurde zunächst noch 2 Stunden bei -10°, dann weitere 60 Stunden bei 0° gerührt. Hierauf kühlte man auf -10° ab, gab zur Zersetzung des überschüssigen Säurechlorids 2 cm³ Methanol und 1 cm³ Pyridin zu und rührte noch 4 Stunden unter Eisswasserkühlung. Man goss dann auf Eis, nahm das Reaktionsprodukt in Methylenchlorid auf, wusch die Methylenchloridlösungen nacheinander mit 0,5-n. Salzsäure, Wasser, 2-proz. Natriumhydrogen-carbonat-Lösung und Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte ein. Der im Vakuum von Trimethylessigsäure-methylester befreite Rückstand wurde aus Aceton unter Verwendung von Chloroform als Lösungsvermittler umkristallisiert. Das so erhaltene Trimethylacetat der Substanz S (VIII) bildet farblose Prismen vom Smp. 265—267° (Zers.). Die Analysenprobe wurde 3 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{20}H_{38}O_6$ Ber. C 72,52 H 8,90% Gef. C 72,41 H 8,97%
 $[\alpha]_D^{20} = +141^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,950 in Chloroform)

Beim Befeuchten einer kleinen Substanzprobe mit konz. Schwefelsäure erhält man, ganz ähnlich wie mit dem Acetat der Substanz S, zunächst eine farblose Lösung, die nach kurzer Zeit eine intensiv karminrote Färbung annimmt.

Trimethylacetat des Cortisons (IX). Zu einer Lösung von 1 g Cortison (Δ^4 -3,11,20-Triketo-17 α ,21-dioxy-pregnen) in 10 cm³ Chloroform und 2 cm³ Pyridin gaben wir unter starker Kühlung tropfenweise 0,5 cm³ Trimethylacetyl-chlorid in 5 cm³ Chloroform. Nach einem Stehen in der Kälte wurde in Wasser gegossen und vom ausgefallenen Trimethylacetat des Cortisons (IX) abfiltriert. Aus Aceton kristallisierte es in farblosen Nadeln vom Smp. 260—262°.

$C_{26}H_{36}O_6$ Ber. C 70,24 H 8,16% Gef. C 70,01 H 8,03%
 $[\alpha]_D^{23} = +210^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,910 in Chloroform)

Die Analysen und Drehungsbestimmungen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* durchgeführt.

Zusammenfassung.

Es wird die Herstellung von Estern tertiärer Carbonsäuren mit Desoxycorticosteron, *Reichstein's Substanz S* und Cortison beschrieben.

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,
 Pharmazeutische Abteilung.