



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Int. Cl.<sup>3</sup>: C 07 J 63/00  
C 12 P 33/08

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



**PATENTSCHRIFT A5**

11

**629 828**

21 Gesuchsnummer: 5982/81

62 Teilgesuch von: 9733/77

22 Anmeldungsdatum: 09.08.1977

30 Priorität(en): 03.09.1976 AT 6560/76

24 Patent erteilt: 14.05.1982

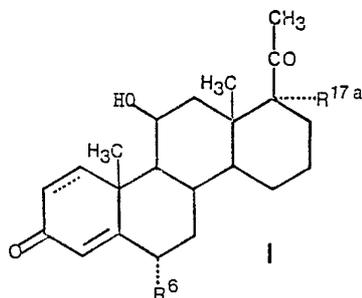
45 Patentschrift veröffentlicht: 14.05.1982

73 Inhaber:  
F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft,  
Basel

72 Erfinder:  
Leo Alig, Kaiseraugst  
Andor Fürst, Basel  
Marcel Müller, Frenkendorf  
Ulrich Kerb, Berlin (DE)  
Klaus Kieslich, Berlin (DE)  
Rudolf Wiechert, Berlin (DE)

**54 Verfahren zur Herstellung von neuen D-Homosteroiden.**

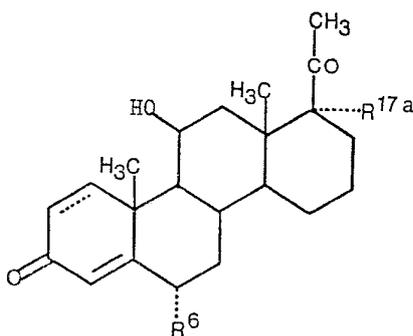
57 Es werden neue entzündungshemmende D-Homosteroide der Formel



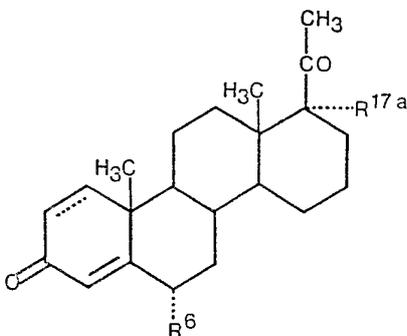
in der die punktierte 1,2-Bindung eine fakultative C-C-Bindung; R<sup>6</sup> Wasserstoff, Fluor, Chlor oder Methyl; und R<sup>17a</sup> Hydroxy oder Acyloxy bedeuten, hergestellt durch Hydroxylierung in 11 $\beta$ -Stellung eines entsprechenden 11-unsubstituierten D-Homosteroids. Ein einfach ungesättigtes D-Homosteroid der Formel I kann zum zweifach ungesättigten D-Homosteroid der Formel I dehydriert, ein 6-unsubstituiertes D-Homosteroid der Formel I kann in 6-Stellung fluoriert oder chloriert und ein 17 $\alpha$ -Hydroxy-D-homosteroid der Formel I kann in 17 $\alpha$ -Stellung acyliert werden.

## PATENTANSPRÜCHE

## 1. Verfahren zur Herstellung von D-Homosteroiden der Formel



in der die punktierte 1,2-Bindung eine fakultative C-C-Bindung; R<sup>6</sup> Wasserstoff, Fluor, Chlor oder Methyl und R<sup>17a</sup> Hydroxy oder Acyloxy bedeuten; dadurch gekennzeichnet, dass man ein D-Homosteroid der Formel



mittels Mikroorganismen oder daraus gewonnenen Enzymen in 11-Stellung hydroxyliert.

2. Verfahren nach Anspruch 1 zur Herstellung eines zweifach ungesättigten D-Homosteroids der Formel I, dadurch gekennzeichnet, dass man ein erhaltenes einfach ungesättigtes D-Homosteroid der Formel I in 1,2-Stellung dehydriert.

3. Verfahren nach Anspruch 1 zur Herstellung eines 6 $\alpha$ -Fluor- oder 6 $\alpha$ -Chlor-D-homosteroids der Formel I, dadurch gekennzeichnet, dass man ein erhaltenes 6-unsubstituiertes D-Homosteroid der Formel I in 6-Stellung fluoriert oder chloriert.

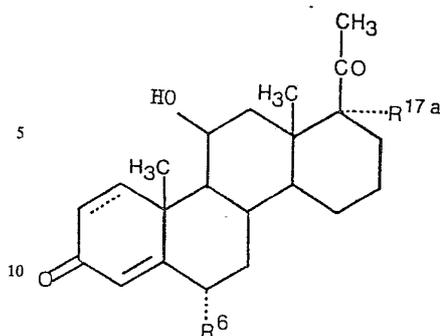
4. Verfahren nach Anspruch 1 zur Herstellung eines 17 $\alpha$ -Acyloxy-D-homosteroids der Formel I, dadurch gekennzeichnet, dass man ein erhaltenes 17 $\alpha$ -Hydroxy-D-homosteroid der Formel I in 17 $\alpha$ -Stellung acyliert.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1,2-ungesättigte D-Homosteroide der Formel I herstellt.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 17 $\alpha$ -Butyryloxy-11 $\beta$ -hydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion herstellt.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuen D-Homosteroiden der Pregnanreihe der Formel

2



in der die punktierte 1,2-Bindung eine fakultative C-C-Bindung; R<sup>6</sup> Wasserstoff, Fluor, Chlor oder Methyl; und R<sup>17a</sup> Hydroxy oder Acyloxy bedeuten.

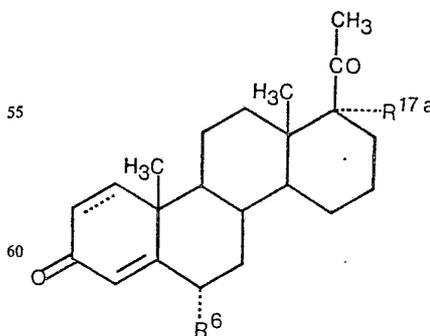
Eine Acyloxygruppe kann sich von einer gesättigten oder ungesättigten aliphatischen Carbonsäure, einer cycloaliphatischen, araliphatischen oder einer aromatischen Carbonsäure mit vorzugsweise bis zu 15 C-Atomen ableiten. Beispiele solcher Säuren sind, Ameisensäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure, Pivalinsäure, Propionsäure, Buttersäure, Capronsäure, Önanthensäure, Undecylensäure, Ölsäure, Cyclopentylpropionsäure, Cyclohexylpropionsäure, Phenyllessigsäure und Benzoesäure. Besonders bevorzugt sind C<sub>1-7</sub>-Alkanoyloxygruppen.

Eine bevorzugte Gruppe von Verbindungen der Formel I sind die mit einer 1,2-Doppelbindung.

Beispiele von erfindungsgemässen Verbindungen der Formel I sind:

- 17 $\alpha$ -Butyryloxy-11 $\beta$ -hydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 6 $\alpha$ -Fluoro-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 6 $\alpha$ -Chloro-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 17 $\alpha$ -Butyryloxy-6 $\alpha$ -fluoro-11 $\beta$ -hydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 17 $\alpha$ -Valeroyloxy-6 $\alpha$ -chloro-11 $\beta$ -hydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -Dihydroxy-6 $\alpha$ -methyl-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 17 $\alpha$ -Butyryloxy-11 $\beta$ -hydroxy-6 $\alpha$ -methyl-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -Dihydroxy-6 $\alpha$ -methyl-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,
- 17 $\alpha$ -Butyryloxy-11 $\beta$ -hydroxy-6 $\alpha$ -methyl-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion.

Die D-Homosteroide der Formel I werden erfindungsgemäss dadurch hergestellt, dass man ein D-Homosteroid der Formel



mittels Mikroorganismen oder daraus gewonnenen Enzymen in 11-Stellung hydroxyliert.

Die Hydroxylierung einer Verbindung der Formel II kann mittels für die mikrobielle 11-Hydroxylierung von Steroiden an

sich bekannter Methoden bewerkstelligt werden. Hierfür kommen Mikroorganismen der taxonomischen Einheit Fungi und Schizomycetes insbesondere der Untereinheiten Ascomycetes, Phycomycetes, Basidiomycetes und Actinomycetales in Betracht. Es können auch auf chemischem Wege, z.B. durch Behandlung mit Nitrit, oder auf physikalischem Wege, z.B. durch Bestrahlung, erzeugte Mutanten sowie aus den Mikroorganismen erhaltene zellfreie Enzympräparate verwendet werden. Geeignete Mikroorganismen für die 11 $\beta$ -Hydroxylierung sind insbesondere solche der Genera *Curvularia*, z.B. *C. lunata* NRRL 2380 und NRRL 2178; ATCC 13633, 13432, 14678, IMI 77007, IFO 2811; *Absidia*, z.B. *A. coerulea* IFO 4435; *Colletotrichum*, z.B. *C. pisi* ATCC 12520; *Pellicolaria*, z.B. *P. filamentosa* IFO 6675; *Streptomyces*, z.B. *S. fradiae* ATCC 10745; *Cunninghamella*, z.B. *C. bainieri* ATCC 9244, *C. verticillata* ATCC 8983; *C. elegans* NRRL 1392 und ATCC 9245, *C. blakesleeana* ATCC 8688, 8688a, 8688b, 8983, und *C. echinulata* ATCC 8984; *Pycnosporium*, z.B. sp. ATCC 12231; *Verticillium*, z.B. *V. theobromae* CBS 39858; *Aspergillus*, z.B. *A. quadrilicatus* JAM 2763; *Trichothecium*, z.B. *T. roseum* ATCC 12519; und *Phoma*, z.B. sp. ATCC 13145.

Ein 1,2-gesättigtes D-Homosteroid der Formel I kann in an sich bekannter Weise, z.B. auf mikrobiologischem Wege oder mittels Dehydrierungsmitteln wie Jodpentoxyd, Perjodsäure oder Selendioxyd, 2,3-Dichlor-5,6-dicyanobenzochinon, Chloranil oder Bleitetraacetat dehydriert werden. Geeignete Mikroorganismen für die 1,2-Dehydrierung sind beispielsweise Schizomyceten, insbesondere solche der Genera *Arthrobacter*, z.B. *A. simplex* ATCC 6946; *Bacillus*, z.B. *B. lentus* ATCC 13805 und *B. sphaericus* ATCC 7055; *Pseudomonas*, z.B. *P. aeruginosa* IFO 3505; *Flavobacterium*, z.B. *F. flavescens* IFO 3058; *Lactobacillus*, z.B. *L. brevis* IFO 3345 und *Nocardia*, z.B. *N. opaca* ATCC 4276.

Ein Steroid der Formel I kann in 6-Stellung in an sich bekannter Weise, durch Umsetzung mit einem Halogenierungsmittel, wie einem N-Chloramid oder -imid (z.B. N-Chlorsuccinimid) oder mit elementarem Chlor halogeniert werden [vgl. J. Am. Chem. 72, 4534 (1950)]. Die Halogenierung in 6-Stellung wird vorzugsweise dadurch vorgenommen, dass man ein D-Homosteroid der Formel I in einen 3-Enolester oder 3-Enoläther, z.B. das 3-Enolacetat, überführt und danach mit Chlor [vgl. J. Am. Chem. Soc. 82, 1230 (1960)]; mit einem N-Chlorimid [vgl. J. Am. Chem. Soc. 82, 1230 (1960); 77, 3827 (1955)] oder Perchlorylfluorid [vgl. J. Am. Chem. Soc. 81, 5259 (1959)]; Chem. and Ind. 1959, 1317] umsetzt. Als Fluorierungsmittel kommt weiterhin Trifluormethylhypofluorit in Betracht.

Sofern bei den vorstehend beschriebenen Halogenierungen Isomerenmische, d.h. Gemische von 6 $\alpha$ - und 6 $\beta$ -Halogensteroiden gebildet werden, können diese nach bekannten Methoden, wie Chromatographie, in die reinen Isomeren getrennt werden.

Eine in einem D-Homosteroid der Formel I enthaltene 17 $\alpha$ -Hydroxygruppe kann in an sich bekannter Weise, z.B. durch Behandlung mit einem Acylierungsmittel, wie einem Acylchlorid oder -anhydrid, in Gegenwart eines säurebindenden Mittels, z.B. Pyridin oder Triäthylamin, und eines geeigneten Katalysators, wie p-Dimethylaminopyridin, oder in Gegenwart eines starken Säurekatalysators, z.B. p-Toluolsulfonsäure acyliert werden. Als Lösungsmittel für die Acylierung kommen nicht-hydroxylgruppenhaltige organische Lösungsmittel, z.B. chlorierte Kohlenwasserstoffe, wie Methylenchlorid oder Kohlenwasserstoffe, wie Benzol, in Betracht.

Die Ausgangsstoffe für das erfindungsgemäße Verfahren können, soweit sie nicht bekannt oder nachstehend beschrieben sind, in Analogie zu bekannten oder den nachstehend beschriebenen Methoden hergestellt werden.

Auf Grund ihrer entzündungshemmenden Wirksamkeit können die Verbindungen der Formel I z.B. zur Behandlung

entzündlicher Erkrankungen, wie Ekzemen Verwendung finden.

Im allgemeinen können Präparate zur inneren Verabreichung 0,01 bis 5,0% eines D-Homosteroids der Formel I enthalten. Die tägliche Dosis kann zwischen 0,05 bis 10,0 mg je nach dem zu behandelnden Zustand und der Dauer der gewünschten Behandlung schwanken. Der Anteil an aktivem D-Homosteroid der Formel I in topischen Präparaten liegt im allgemeinen im Bereich von 0,0001 bis 5 Gew.%, vorteilhafterweise im Bereich von 0,001 bis 0,5% und vorzugsweise im Bereich von 0,01 bis 0,25%.

Die Verfahrensprodukte können als Heilmittel z.B. in Form pharmazeutischer Präparate Verwendung finden, welche sie in Mischung mit einem für die enterale, perkutane oder parenterale Applikation geeigneten pharmazeutischen, organischer oder anorganischen inerten Trägermaterial, wie z.B. Wasser, Gelatine, Gummi arabicum, Milchzucker, Stärke, Magnesiumstearat, Talk, pflanzliche Öle, Polyalkylenglykole, Vaseline, usw. enthalten. Die pharmazeutischen Präparate können z.B. als Salben oder als Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen, vorliegen. Gegebenenfalls sind sie sterilisiert und bzw. oder enthalten Hilfsstoffe, wie Konservierungs-, Stabilisierungs-, Netz- oder Emulgiermittel, Salze zur Veränderung des osmotischen Druckes oder Puffer. Sie können auch noch andere therapeutisch wertvolle Stoffe enthalten.

In den folgenden Beispielen sind die Temperaturen in Celsiusgraden angegeben.

#### Beispiel 1

Ein 2 l-Erlenmeyerkolben, der 500 ml einer 30 Minuten bei 120° im Autoklaven sterilisierten Nährlösung aus 1% Corn steep liquor, 1% Sojapuder und 0,005% Sojaöl, eingestellt auf pH 6,2, enthält, wird mit einer Lyophilkultur von *Curvularia lunata* (NRRL 2380) beimpft und 72 Stunden bei 30° auf einem Rotationsschüttler geschüttelt. Mit dieser Vorkultur wird dann ein 20 l-Fermenter aus rostfreiem Stahl, der 15 l eines bei 121° und 1,1 atü sterilisierten Mediums aus 1% Corn steep liquor, 0,5% Stärkezucker und 0,005% Sojaöl, eingestellt auf pH 6,2, enthält, beimpft. Unter Zugabe eines Siliconöls (Silicon SH) als Antischaummittel wird bei 29° unter Belüftung (10 l/Min) 0,7 atü Druck und Rühren (220 U/Min.) 24 Stunden germiniert. 1 Liter der Kulturbrühe wird unter sterilen Bedingungen in 14 l eines wie oben sterilisierten Mediums aus 1% Corn steep liquor, 1,25% Sojapuder und 0,005% Sojaöl überführt und unter gleichen Bedingungen angezüchtet. Nach 12 Stunden wird eine Lösung von 4 g 17 $\alpha$ -Acetoxy-D-homo-4-pregnen-3,20-dion in 100 ml Dimethylformamid zugegeben. Nach 52 Stunden Kontaktzeit wird der Fermenterinhalt zweimal mit je 10 l Methylisobutylketon ausgerührt und der Extrakt bei 50° Badtemperatur im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird zur Entfernung des Siliconöls mehrmals mit Hexan gewaschen und durch Säulenchromatographie an Silicagel (Gradientenelution: Hexan + Hexan/Essigester 1 + (1/1) von unumgewandelten Ausgangsmaterial abgetrennt. Das 17 $\alpha$ -Acetoxy-11 $\beta$ -hydroxy-D-homo-4-pregnen-3,20-dion wurde aus Isopropyläther umkristallisiert; Fp. 234/235–237°,  $\epsilon_{242}$  = 16700.

#### Beispiel 2

Ein 2 l-Erlenmeyerkolben, der 500 ml einer 30 Minuten bei 120° im Autoklaven sterilisierten Nährlösung aus 1,5% Pepton, 1,2% Corn steep und 0,2% MgSO<sub>4</sub>, eingestellt auf pH 6,5, enthält, wird mit einer Lyophilkultur von *Bacillus lentus* (ATCC 13805) beimpft und 24 Stunden bei 30° geschüttelt. Mit dieser Vorkultur wird dann ein 20 l-Fermenter aus rostfreiem Stahl, der 15 l eines bei 121° und 1,1 atü sterilisierten flüssigen Nährmediums aus 0,2% Hefextrakt, 1% Corn steep liquor und 0,1% Stärkezucker, eingestellt auf pH 7,0, enthält, beimpft. Unter Zugabe eines Siliconöls (Silicon SH) als Antischaummittel wird

bei 29° unter Belüftung und Rühren germiniert. Nach einer Anwachphase von 6 Stunden setzt man eine Lösung von 1,6 g 17 $\alpha$ -Acetoxy-11 $\beta$ -hydroxy-D-homo-4-pregnen-3,20-dion in 50 ml Dimethylformamid zu. Nach 15 Stunden Kontaktzeit wird der Fermenterinhalt zweimal mit je 10 ml Methylisobutylketon extrahiert und der Extrakt im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde zur Entfernung des Siliconöls mit Hexan gewaschen und aus Aceton-Diisopropyläther in Gegenwart von Aktivkohle umkristallisiert, und man erhält 17 $\alpha$ -Acetoxy-11 $\beta$ -hydroxy-D-homo-1,4-pregnadien-3,20-dion vom Schmelzpunkt 218/219–220° und  $\epsilon_{244} = 15100$ .

*Beispiel 3*

In zu den Beispielen 1 und 2 analoger Weise erhält man das 6 $\alpha$ -Fluoro-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion, Smp. 183–184°, UV:  $\epsilon_{242} = 14400$ ,  $[\alpha]_D = +56^\circ$  (c = 0,1 % in Dioxan),  
das 17 $\alpha$ -Butyryloxy-11 $\beta$ -hydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion,  $\epsilon_{244} = 13940$   $[\alpha]_D = +22^\circ$  (Dioxan c = 0,1 %),  
das 17 $\alpha$ -Butyryloxy-6 $\alpha$ -fluoro-11 $\beta$ -hydroxy-D-homopregna-1,4-dien-3,20-dion, Smp. 168–169°, UV:  $\epsilon_{242} = 16600$ ,  $[\alpha]_D = +13^\circ$  (Dioxan, c = 0,1 %).