

PATENTSCHRIFT 141 524

Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

Int. Cl.³

(11)	141 524	(44)	07.05.80	3 (51)	C 07 J 7/00
(21)	AP C 07 J / 210 600	(22)	23.01.79		
(31)	P 28 03 660.4	(32)	25.01.78	(33)	DE

(71) siehe (73)

(72) Dahl, Helmut, Dr. Dipl.-Ing.; Schöttle, Ernst, Dr.;
Wieske, Reinhold, Dr.; Weber, Alfred, Dr.; Kennecke,
Mario, Dr., Personen mit ständigem Wohnsitz in Berlin (West)

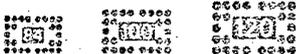
(73) Schering AG, Berlin (West), WB, und Bergkamen, DE

(74) Internationales Patentbüro Berlin, 102 Berlin, Wallstraße 23/24

(54) Verfahren zur Herstellung von Steroiden

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuen in 17-Position substituierten Steroiden mit antiinflammatorischer Wirkung zur Verwendung als Arzneimittel. Ziel ist ein einfaches und wirtschaftliches Verfahren, mit dem gute Ausbeuten und ein hoher Reinheitsgrad erzielt werden können. Erfindungsgemäß werden Steroide der allgemeinen Formel I hergestellt, worin ---X--- eine Einfachbindung oder eine Doppelbindung, X ein Wasserstoffatom, ein Fluoratom oder eine Methylgruppe, Y ein Wasserstoffatom, eine Hydroxygruppe oder eine Alkanoyloxygruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, Z ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe und V eine Methylengruppe, eine Äthylidengruppe, eine Hydroxymethylengruppe oder eine Vinylidengruppe bedeuten und R[']₁ eine 1 bis 6 Kohlenstoffatome enthaltende, gegebenenfalls durch ein Sauerstoffatom unterbrochene Alkylgruppe und R[']₂ ein Wasserstoffatom oder eine 1 bis 6 Kohlenstoffatome enthaltende Alkylgruppe darstellen. - Formel I -

31 Seiten



210600 -1-

Verfahren zur Herstellung von Steroiden

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuen in 17-Position substituierten Steroiden der Pregnanreihe.

Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen haben anti-inflammatorische Wirksamkeit und werden als Arzneimittel angewandt.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Bekanntlich werden antiinflammatorisch wirksame 11 β -Hydroxysteroiden (wie zum Beispiel die Kortikoide: Hydrocortison, Prednisolon, Dexamethason, Betamethason, Prednyliden, Triamcinolon, Fluocinolon oder Flurandrenolon) mittels einer sehr aufwendigen vielstufigen Partialsynthese aus natürlich vorkommenden Steroiden (wie Diosgenin) hergestellt, welche immer schwieriger in ausreichenden Mengen beschafft werden können. Innerhalb der vielstufigen Synthese dieser Verbindungen ist die mikrobiologische Einführung der 11 β -Hydroxygruppe in das Steroidgerüst in der Regel der aufwendigste und verlustreichste Syntheseschritt.

Im Jahre 1966 wurde ein Verfahren entwickelt, mit dessen Hilfe man die Ausbeute bei der 11 β -Hydroxylierung von 11-Desoxy-17 α -Hydroxysteroiden der Pregnanreihe wesentlich steigern kann, indem man die 17 α -Hydroxygruppe verestert, dann mittels Pilzen der Gattung *Curvularia* hydroxyliert und die erhaltenen 11 β -Hydroxy-17 α -acyloxysteroiden verseift (DE-PS 1 618 599).

Die Acylierung der 17-Hydroxygruppe ist aber recht aufwendig, die hierbei erzielten Ausbeuten oft unbefriedigend.

Schwierig ist auch die Hydrolyse der 11 β -Hydroxy-17 α -acyloxysteroiden, da sich meist Nebenprodukte bilden und somit eine aufwendige und verlustreiche Aufreinigung der erhaltenen Produkte erfordert, damit diese den für Arzneimittelwirkstoffe erforderlichen Reinheitskriterien entsprechen.

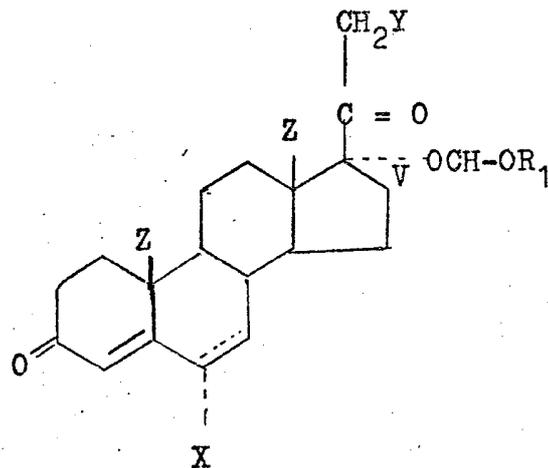
Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung eines einfachen und wirtschaftlichen Verfahrens zur Herstellung neuer in 17-Position substituierter Steroide der Pregnanreihe, mit dem gute Ausbeuten in einer für Arzneimittelwirkstoffe erforderlichen Reinheit erhalten werden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, geeignete Ausgangsverbindungen für die μ β -Hydroxylierung aufzufinden.

Es wurde nun gefunden, daß man das Verfahren zur 11 β -Hydroxylierung von Steroiden wesentlich verbessern kann, wenn man zur mikrobiologischen Umsetzung anstelle der 11-Desoxy-17 α -acyloxysteroide als Ausgangsverbindung Steroide der allgemeinen Formel I verwendet.



(I),

worin

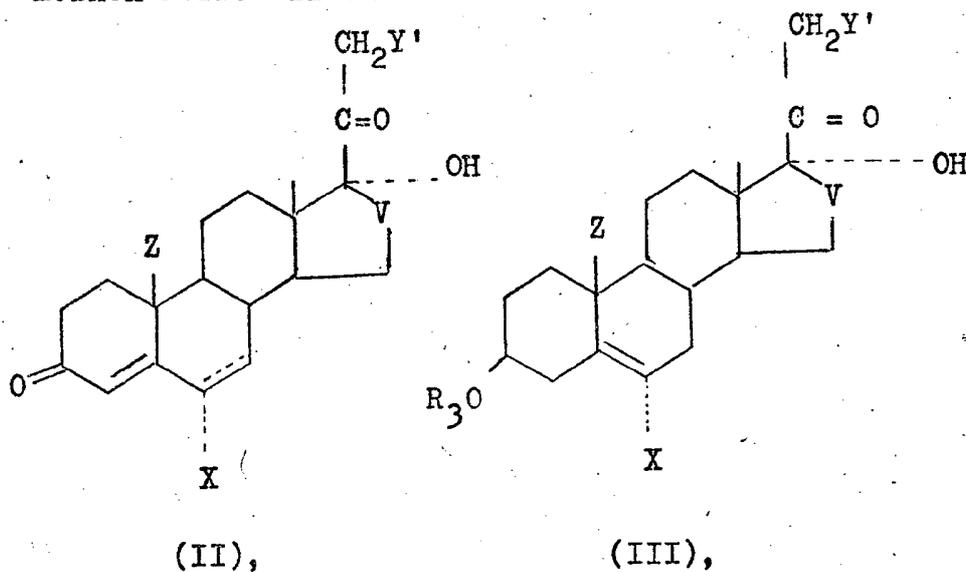
- • • • • eine Einfachbindung oder eine Doppelbindung
- X ein Wasserstoffatom, ein Fluoratom oder eine Methylgruppe,
- Y ein Wasserstoffatom, eine Hydroxygruppe oder eine Alkanoyloxygruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen,

- Z ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe und
- V eine Methylengruppe, eine Äthylidengruppe, eine Hydroxymethylengruppe oder eine Vinylidengruppe bedeuten und
- R'₁ eine 1 bis 6 Kohlenstoffatome enthaltende, gegebenenfalls durch ein Sauerstoffatom unterbrochene Alkylgruppe und
- R'₂ ein Wasserstoffatom oder eine 1 bis 6 Kohlenstoffatome enthaltende Alkylgruppe darstellen oder
- R'₁ und R'₂ gemeinsam eine Tri- oder Tetramethylengruppe bedeuten, falls
- Y eine Hydroxygruppe oder eine Alkanoyloxygruppe ist.

Unter einer Alkylgruppe R₁ oder R₂ der Steroide der allgemeinen Formel I soll beispielsweise eine 1 bis 6 Kohlenstoffatome, insbesondere 1 bis 4 Kohlenstoffatome enthaltende - vorzugsweise geradkettige - Alkylgruppe verstanden werden. Geeignete Alkylgruppen R₁ oder R₂ sind beispielsweise die Propylgruppe, die Butylgruppe, die Isopropylgruppe, die sek.-Butylgruppe und insbesondere die Methylgruppe und die Äthylgruppe. Unter einer durch ein Sauerstoffatom unterbrochenen Alkylgruppe soll vorzugsweise eine Gruppe verstanden werden, welche 3

bis 6 Kohlenstoffatome besitzt. Solche Gruppen sind beispielsweise 2-Alkoxyäthylengruppen wie die 2-Methoxyäthylengruppe oder die 2-Äthoxyäthylengruppe.

Die Steroide der allgemeinen Formel I können in einfacher Weise nach dem erfindungsgemäßen Verfahren in der Weise hergestellt werden, daß man ein Steroid der allgemeinen Formel II oder III



worin

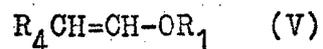
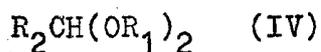
....., X, V und Z die oben genannte Bedeutung besitzen
und

Y' ein Wasserstoffatom oder eine Alkanoyloxygruppe mit

1 bis 6 Kohlenstoffatome sowie

R₃ eine Alkanoylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen darstellen,

mit einem Acetal der allgemeinen Formel IV oder einem Vinyläther der allgemeinen Formel V,



worin R₁ und R₂ die oben genannte Bedeutung besitzen und R₄ Wasserstoff oder eine 1 bis 5 Kohlenstoffatome enthaltende Alkylgruppe oder gemeinsam mit R₁ eine Trimethylen- oder Äthylengruppe darstellen, falls Y eine Hydroxylgruppe oder eine Alkanoylgruppe ist, umgesetzt, gegebenenfalls Estergruppen verseift und eine 3β-Hydroxygruppe unter gleichzeitiger Isomerisierung der Δ⁵-Doppelbindung oxydiert.

Die Acetalisierung kann unter Bedingungen durchgeführt werden, die an sich bekannt sind (Synthesis 1975, 2786, J.Chem.Soc., (c) 1974, 431 und J.Amer.Chem.Soc. 74, 1239 (1952)).

So kann man beispielsweise die Steroide der allgemeinen Formel II oder III mit einem Acetal der allgemeinen Formel IV in Gegenwart von sauren Katalysatoren, wie zum Beispiel Perchlorsäure, p-Toluolsulfonsäure oder zweckmäßigerweise Phosphorpentoxid umsetzen. Diese Reaktion kann in Abwesenheit weiterer Lösungsmittel oder in Gegen-

wart von inerten Lösungsmitteln (Chloroform, Methylenchlorid, Tetrachloräthan, Tetrachlormethan, Toluol, Diäthyläther, Tetrahydrofuran, Dioxan etc.) durchgeführt werden. Die Reaktion wird üblicherweise bei einer Reaktionstemperatur zwischen -20°C bis $+50^{\circ}\text{C}$ durchgeführt und eignet sich insbesondere zur Herstellung solcher Steroide der allgemeinen Formel I mit R_2 in der Bedeutung von Wasserstoff.

Andererseits kann man die Steroide der allgemeinen Formeln II oder III auch mit einem Vinyläther der allgemeinen Formel V umsetzen. Diese Reaktion wird vorzugsweise in einem der obengenannten inerten Lösungsmittel unter Zusatz saurer Katalysatoren (Perchlorsäure, p-Toluolsulfonsäure, Methansulfonsäure etc.) durchgeführt. Vorzugsweise erfolgt die Reaktion bei einer Reaktionstemperatur von -20°C bis 100°C .

Zur Erzielung optimaler Ausbeuten ist es zweckmäßig, die Reaktionsparameter in Vorversuchen wie sie dem Fachmann geläufig sind, zu variieren.

Für den Fachmann war es nicht vorhersehbar, daß sich die tertiäre und zudem sterisch gehinderte 17α -Hydroxygruppe der Steroide der allgemeinen Formeln II oder III praktisch quantitativ acetalisieren läßt.

Die sich gegebenenfalls anschließende Verseifung erfolgt unter den üblichen Bedingungen, indem man die erhaltenen Produkte in wasser- oder alkoholhaltiger Lösung mit

basischen Katalysatoren (Kaliumhydrogenkarbonat, Natriumcarbonat, Kaliumkarbonat, Natriumhydroxid, Natrium-methylat etc.) umgesetzt.

Die sich gegebenenfalls anschließende Oxydation der 3 β -Hydroxygruppe unter gleichzeitiger Isomerisierung der Δ^5 -Doppelbindung erfolgt beispielsweise unter den Bedingungen, die unter dem Namen "Oppenauer-Oxydation" wohlbekannt sind.

Besonders gut gelingt die sich gegebenenfalls anschließende Verseifung, Oxydation und Isomerisierung, wenn man die aus den Steroiden der allgemeinen Formel III erhaltenen Verbindungen mit einer Kultur der Spezies Flavobacterium dehydrogenaus umsetzt.

Die erhaltenen Verfahrensprodukte lassen sich dann unter den Bedingungen wie sie für die Herstellung von 11 β -Hydroxy-17 α -acyloxysteroiden bekannt sind (DE-PS 1 618 599) in der 11 β -Position hydroxylieren.

Nach der Hydroxylierung kann die 17ständige Acetalgruppe praktisch quantitativ gespalten werden.

Diese Spaltung wird unter den Bedingungen durchgeführt, welche man konventionellerweise zur Hydrolyse oder Alkoholyse von Acetalen anwendet. So kann man beispielsweise die Verbindungen spalten, indem man sie in einem niederen Alkohol wie Methanol oder Äthanol oder in einem wasserhaltigen organischen Lösungsmittel wie Glykolmonomethyl-

äther, Tetrahydrofuran, Dioxan, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxyd, Hexamethylphosphorsäuretriamid, Aceton mit einer Mineralsäure wie Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Perchlorsäure, einer Sulfonsäure wie p-Toluolsulfonsäure, einer stark aciden Carbonsäure wie Ameisensäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure, saure Ionenaustauscher oder mit einer Lewis Säure wie Bortrifluorid, Zinkchlorid, Zinkbromid oder Titan-tetrachlorid umgesetzt.

Die neuen Verbindungen der allgemeinen Formel I sind aber nicht nur wertvolle Zwischenprodukte, sondern besitzen darüber hinaus eine gute pharmakologische Wirksamkeit, die oft diejenige der 17α -Hydroxyverbindungen der allgemeinen Formel II beziehungsweise deren Ester übertrifft, und zeichnen sich oft durch eine günstige Dissoziation zwischen erwünschter Wirksamkeit und unerwünschten Nebenwirkungen aus.

Pharmakologisch besonders wertvolle Verbindungen sind die folgenden:

21-Hydroxy- 17α -methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion.

21-Acetoxy- 17α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion.

21-Acetoxy- 17α -(1'-isobutyloxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion.

17α -(1'-Äthoxyäthoxy)-21-acetoxy-4-pregnen-3,20-dion.

21-Acetoxy- 17α -(2'-tetrahydropyranyloxy)-4-pregnen-3,20-

dion.

21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-6 α -methyl-4-pregnen-3,20-dion.

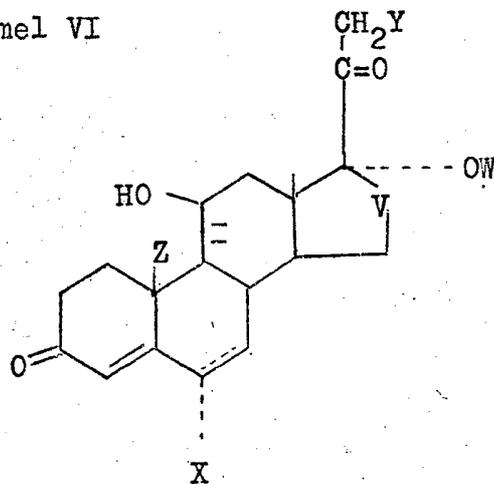
21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-16 β -methyl-4-pregnen-3,20-dion.

17 α -(1'-Methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion.

21-Hydroxy-17 α -(2'-methoxyäthoxy-methoxy)-4-pregnen-3,20-dion.

17 α -Methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion.

Die Steroide der allgemeinen Formel I werden erfindungsgemäß verwendet zur Herstellung von Steroiden der allgemeinen Formel VI



(VI),

worin W ein Wasserstoffatom oder die Gruppierung $\begin{array}{c} R_2 \\ | \\ -CH-OR_1 \end{array}$ bedeutet und X, Y, Z, V, R₁ und R₂ die Bedeutung wie

in Formel I angegeben, besitzen.

In pharmazeutische Präparate werden erfindungsgemäß ein oder mehrere Steroide eingearbeitet, insbesondere von den folgenden Verbindungen:

17 α -Methoxymethoxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion

17 α -Äthoxymethoxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion

17 α -Propoxymethoxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion

21-Acetoxy-17 α -äthoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion

21-Acetoxy-17 α -propoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion

21-Acetoxy-17 α -butoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion

21-Acetoxy-6 α -fluor-17 α -methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion

21-Hydroxy-17 α -methoxymethoxy-16 β -methyl-4-pregnen-3,20-dion

21-Acetoxy-6-chlor-17 α -methoxymethoxy-4,6-pregnadien-3,20-dion

21-Acetoxy-17 α -isopropoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung wird nachstehend an einigen Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Beispiel 1

- a) 21,63 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -hydroxy-5-pregnen-20-on werden in 150 ml wasserfreiem Methylenchlorid und 100 ml wasserfreiem Formaldehyddimethylacetal gelöst. Dann kühlt man die Lösung mit Wasser und trägt in sie ein Gemisch von 21,6 g Phosphorpentoxyd und 43 g Kieselgur ein und rührt eine Stunde lang bei Raumtemperatur. Dann filtriert man die Reaktionsmischung und wäscht den Rückstand mit Methylenchlorid, setzt dem Filtrat Triäthylamin zu bis ein pH-Wert von 9 erreicht wird und engt es im Vakuum ein. Der Rückstand wird aus Methanol-Methylenchlorid umkristallisiert und man erhält 22,68 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -methoxymethoxy-5-pregnen-20-on vom Schmelzpunkt 182-184 °C.
- b) Ein 2 l Erlenmeyerkolben mit 1 Liter steriler Nährlösung enthaltend 0,3 % Hefeextrakt, 0,3 % Cornsteep liquor und 0,2 % Stärkezucker - eingestellt auf pH = 7,0 - wird mit einer Trockenkultur von Flavobacterium dehydrogenans ATCC 13 930 beimpft und bei 30 °C zwei Tage lang mit 175 Umdrehungen pro Minute geschüttelt.

Ein 500 ml Erlenmeyerkolben mit 85 ml des gleichen Nährmediums wird mit 10 ml der Flavobacterium dehydrogenans

Anzuchtkultur beimpft und bei 30 °C 7 Stunden lang mit 175 Umdrehungen pro Minute geschüttelt. Dann setzt man der Kultur 5 ml einer sterilen Lösung von 0,5 g, 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -methoxymethoxy-5-pregnen-20-on in Dimethylformamid zu und schüttelt bei 30 °C weitere 65 Stunden lang mit 175 Umdrehungen pro Minute. Nach erfolgter Fermentation wird die Kultur zweimal mit 100 ml Äthylenchlorid extrahiert, der Extrakt im Vakuum eingengt, der Rückstand durch Chromatographie über Aluminiumoxid gereinigt und man erhält 402 mg 21-Hydroxy-17 α -methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 152 - 153 °C.

- c) Ein 2 l Erlenmeyerkolben mit 1 Liter steriler Nährlösung enthaltend 2 % Glukose und 2 % Cornsteep liquor - eingestellt auf pH = 5,4 - wird mit einer Abschwemmung einer Trockenkultur von *Curvularia lunata* NRRL 2380 beimpft und bei 30 °C 60 Stunden lang mit 175 Umdrehungen pro Minute geschüttelt. Ein 500 ml Erlenmeyerkolben mit 90 ml eines sterilen Nährmediums enthaltend 1,0 % Cornsteep liquor und 1,25 % Sojapuder - eingestellt auf pH = 6,2 - wird mit 10 ml der *Curvularia lunata* Anzuchtkultur beimpft und bei 30 °C 7 Stunden lang mit 175 Umdrehungen pro Minute geschüttelt. Dann setzt man der Kultur 0,6 ml einer sterilen Lösung von 30 mg 21-Hydroxy-17 α -methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion in Dimethylformamid zu und fermentiert weitere 65 Stunden unter den angegebenen Bedingungen.

Man arbeitet die Fermentationskultur auf, wie im Beispiel 1b beschrieben und erhält 27 mg 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -methoxy-methoxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 180 - 182 °C.

- d) 2,5 g 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion werden im 40 ml wasserfreiem Methylenchlorid gelöst, auf 0° C gekühlt und innerhalb von 15 Minuten unter Argon mit einer Lösung von 2,25 ml Titan-tetrachlorid in 10 ml Methylenchlorid versetzt. Man läßt die Reaktionsmischung 90 Minuten lang bei Raumtemperatur rühren, setzt dann 150 ml Methylenchlorid und 100 ml gesättigte wässrige Natriumhydrogenkarbonatlösung zu, rührt 15 Minuten lang, trennt die organische Phase ab, wäscht sie neutral, trocknet sie über Natriumsulfat und engt sie im Vakuum ein. Der Rückstand wird aus Chloroform umkristallisiert und man erhält 2,19 g 11 β ,17 α -21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Zersetzungspunkt 215 °C.

Beispiel 2

- a) 50 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -hydroxy-5-pregnen-20-on werden mit 50 mg wasserfreier p-Toluolsulfonsäure und 350 ml wasserfreiem Methylenchlorid versetzt, auf 0 °C gekühlt und nach Zugabe von 10 g Methylvinyläther 4 Stunden lang bei 0 °C gerührt. Dann setzt man der Reaktion Triäthylamin zu, bis ein pH-Wert von 9 erreicht ist und engt sie im Vakuum ein. Man erhält 58 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-5-

pregnen-20-on als Diastereomerengemisch vom Schmelzpunkt 80 - 118 °C (Eine aus Methanol umkristallisierte Probe schmilzt bei 132 - 134 °C).

- b) Unter den Bedingungen des Beispiels 1b wird eine Lösung von 600 mg 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-5-pregnen-20-on Diastereomerengemisch in 5 ml Dimethylformamid mit einer Flavobacterium dehydrogenans ATCC 13930 Kultur umgesetzt, aufbereitet und man erhält 394 mg 21-Hydroxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion als Diastereomerengemisch vom Schmelzpunkt 166 - 178 °C.
- c) Eine Lösung von 100 mg 21-Hydroxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion Diastereomerengemisch in 2 ml Dimethylformamid wird unter den im Beispiel 1c beschriebenen Bedingungen mit einer Kultur von Curvularia lunata NRRL 2380 fermentiert, aufbereitet und man erhält 105 mg 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion als öliges Diastereomerengemisch.

Dieses Gemisch wird mit 3 ml Methanol und 0,5 ml 2n wässriger Salzsäure versetzt und 5 Stunden lang bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend setzt man der Mischung 4 ml Wasser zu, neutralisiert sie mit gesättigter wässriger Natriumhydrogenkarbonat-Lösung, extrahiert zweimal mit je 8 ml Äthylenchlorid, engt die organische Phase im Vakuum ein, reinigt den Rückstand durch Chromatographie über eine Aluminiumoxid-

Säule und erhält 69 mg 11 β ,17 α ,21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 217 - 219 °C.

Beispiel 3

- a) 10,0 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden mit 13 mg wasserfreier p-Toluolsulfonsäure und 130 ml wasserfreiem Methylenchlorid versetzt, auf 0 °C gekühlt und nach Zugabe von 2,3 g Methylenvinyläther 7 Stunden lang bei 0 °C gerührt. Man arbeitet die Reaktionsmischung auf, wie im Beispiel 2a beschrieben und erhält 11,6 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 135 - 150 °C.
- b) Eine Lösung von 0,1 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion Diastereomerenmischung in 2 ml Dimethylformamid wird unter den im Beispiel 1c beschriebenen Bedingungen mit einer Kultur von *Curvularia lunata* NRRL 2380 fermentiert und aufbereitet. Das so erhaltene 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion wird dann unter den im Beispiel 2c beschriebenen Bedingungen hydrolysiert und man erhält 78 mg 11 β ,17 α ,21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 217 - 219 °C.

Beispiel 4

- 1) 10,0 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden unter den im Beispiel 3a beschriebenen Bedingungen mit 2,50 g Äthylvinyläther umgesetzt, aufberei-

tet und man erhält 12,5 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-äthoxy-äthoxy)-4-pregnen-3,20-dion als öliges Diastereomeren-gemisch.

- b) Eine Lösung von 0,1 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-äthoxy-äthoxy)-4-pregnen-3,20-dion Gemisch in 2 ml Dimethylformamid wird unter den im Beispiel 1c beschriebenen Bedingungen mit *Curvularia lunata* NRRL 2380 hydroxyliert aufbereitet und man erhält das 17 α -(1'-Äthoxy-äthoxy)-11 β ,21-dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion, welches unter den im Beispiel 2c beschriebenen Bedingungen zu 63 mg 11 β ,17 α ,21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 216 - 217,5 °C hydrolysiert wird.

Beispiel 5

- a) 10,0 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden unter den im Beispiel 3a beschriebenen Bedingungen mit 4,0 g Isobutylvinyläther umgesetzt, aufbereitet und man erhält 13,5 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-isobutyloxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion als öliges Diastereomeren-gemisch.
- b) Eine Lösung von 0,1 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-isobutyloxy-äthoxy)-4-pregnen-3,20-dion Gemisch in 2 ml Dimethylformamid wird unter den im Beispiel 1c beschriebenen Bedingungen mit *Curvularia lunata* NRRL 2380 2380 hydroxyliert, aufbereitet und man erhält das 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -(1'-isobutyloxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion, welches unter den im Beispiel 2c beschriebenen

Bedingungen zu 68 mg 11 β ,17 α ,21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 214 - 216 °C (Zersetzung) verseift wird.

Beispiel 6

- a) 1,95 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden mit 5 mg wasserfreier p-Toluolsulfonsäure, 25 ml wasserfreiem Methylenchlorid und 3,5 ml Dihydropyran versetzt und 13 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Man arbeitet die Reaktionsmischung auf, wie im Beispiel 3a beschrieben und erhält 2,0 g 21-Acetoxy-17 α -(2'-tetrahydropyranyloxy)-4-pregnen-3,20-dion als Diastereomeregemisch vom Schmelzpunkt 185 - 200 °C.
- b) Eine Lösung von 0,1 g 21-Acetoxy-17 α -(2'-tetrahydropyranyloxy)-4-pregnen-3,20-dion Gemisch in 2 ml Dimethylformamid wird unter den Bedingungen, wie im Beispiel 1c beschrieben, mit *Curvularia lunata* NRRL 2380 hydroxyliert, aufbereitet und man erhält das 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -(2'-tetrahydropyranyloxy)-4-pregnen-3,20-dion, welches unter den im Beispiel 2c beschriebenen Bedingungen zu 72 mg 11 β ,17 α -21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 215 °C (Zersetzung) hydrolysiert wird.

Beispiel 7

- a) 50 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-6- α -methyl-4-pregnen-

3,20-dion werden unter den im Beispiel 3a beschriebenen Bedingungen mit 13,9 g Methylvinyläther umgesetzt, aufbereitet und man erhält 59 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-6 α -methyl-4-pregnen-3,20-dion als amorphe Masse.

- b) Eine Lösung von 200 mg 21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-6 α -methyl-4-pregnen-3,20-dion in 0,4 ml Dimethylformamid wird unter den im Beispiel 1c beschriebenen Bedingungen mit *Curvularia lunata* NRRL 2380 hydroxyliert, aufbereitet und man erhält das 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-6 α -methyl-4-pregnen-3,20-dion, welches unter den im Beispiel 2c beschriebenen Bedingungen zu 15 mg 11 β ,17 α -21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 189 - 192 °C hydrolysiert wird.

Beispiel 8

- a) 2,0 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-16 β -methyl-4-pregnen-3,20-dion werden mit 5 mg p-Toluolsulfonsäure (wasserfrei) und 25 ml wasserfreiem Methylenchlorid versetzt und auf 0 °C gekühlt. Dann setzt man der Mischung unter Rühren 0,5 g Methylvinyläther zu, rührt 5 Stunden lang bei 0 °C und weitere 12 Stunden bei Raumtemperatur, arbeitet die Reaktionsmischung auf, wie im Beispiel 3a beschrieben und erhält 2,1 g 21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-16 β -methyl-4-pregnen-3,20-dion als öliges Diastereomerenmisch.

- b) Eine Lösung von 50 mg 21-Acetoxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-16 β -methyl-4-pregnen-3,20-dion Gemisch in 1 ml Dimethylformamid wird unter den im Beispiel 1c beschriebenen Bedingungen mit *Curvularia lunata* NRRL 2380 hydroxyliert, aufbereitet und man erhält das 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-16 β -methyl-4-pregnen-3,20-dion, welches unter den im Beispiel 2c beschriebenen Bedingungen zu 32 mg 11 β ,17 α ,21-Trihydroxy-16 β -methyl-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 204 - 207 °C hydrolysiert wird.

Beispiel 9

- a) 50 g 17 α -Hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden unter den im Beispiel 3a beschriebenen Bedingungen mit 15 g Methylvinyläther umgesetzt, aufbereitet und man erhält 51,2 g 17 α -(1'-Methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 115 - 152 °C.
- b) Eine Lösung von 0,1 g 17 α -(1'-Methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion in 1 ml Dimethylformamid wird unter den im Beispiel 1c beschriebenen Bedingungen mit einer Kultur von *Curvularia lunata* NRRL 2380 fermentiert und aufbereitet. Das so erhaltene 11 β -Hydroxy-17 α -(1'-methoxyäthoxy)-4-pregnen-3,20-dion (Schmelzpunkt 85 - 103 °C) wird unter den im Beispiel 2c beschriebenen Bedingungen hydrolysiert und man erhält 63 mg 11 β ,17 α -Dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 222 - 223,5 °C.

Beispiel 10

- a) 50 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -hydroxy-5-pregnen-20-on werden unter den im Beispiel 1a beschriebenen Bedingungen in 150 ml Methylenchlorid mit 380 g Formaldehyd-bis-glykolmonomethylätheracetal, 50 g Phosphorpentoxid und 100 g Kieselgur umgesetzt, aufbereitet und man erhält 45,8 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -(2'-methoxyäthoxy-methoxy)-5-pregnen-20-on vom Schmelzpunkt 160 - 161 °C.
- b) Unter den im Beispiel 1b beschriebenen Bedingungen werden 0,5 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -(2'-methoxyäthoxy-methoxy)-5-pregnen-20-on mit einer Kultur von Flavobacterium dehydrogenans ATCC 13930 umgesetzt, aufbereitet und man erhält 390 mg 21-Hydroxy-17 α -(2'-methoxyäthoxy-methoxy)-4-pregnen-3,20-dion als glasige Masse.
- c) Unter den Bedingungen des Beispiels 1c werden 30 mg 21-Hydroxy-17 α -(2'-methoxyäthoxy-methoxy)-4-pregnen-3,20-dion mit einer Kultur von Curvularia lunata NRRL 2380 umgesetzt, aufbereitet und man erhält 24 mg 11 β ,21-Dihydroxy-17 α -(2'-methoxyäthoxy-methoxy)-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 143 - 147 °C.
- d) Unter den Bedingungen des Beispiels 1d werden 10 mg 21-Dihydroxy-17 α -(2'-methoxyäthoxy-methoxy)-4-pregnen-3,20-dion in 2 ml Methylenchlorid und 0,01 ml

Titantetrachlorid umgesetzt, aufbereitet und man erhält 8 mg 11 β ,17 α ,21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion vom Zersetzungspunkt 213 °C.

Beispiel 11

20 g 3 β -Acetoxy-17 α -hydroxy-5-pregnen-20-on werden unter den im Beispiel 1a bis c genannten Bedingungen umgesetzt, und man erhält 15 g 17 α -Methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 116 - 119 °C.

Beispiel 12

5 g 17 α -Hydroxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion werden unter im Beispiel 1a genannten Bedingungen mit Formaldehyddiäthylacetal umgesetzt, aufbereitet und man erhält das 17 α -Methoxymethoxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 120 °C.

Beispiel 13

5 g 17 α -Hydroxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion werden unter den im Beispiel 1a beschriebenen Bedingungen mit Formaldehyddiäthylacetal umgesetzt, aufbereitet und man erhält das 17 α -Äthoxymethoxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 69 - 71 °C.

Beispiel 14

5 g 17 α -Hydroxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion werden unter den im Beispiel 1a beschriebenen Bedingungen mit Formaldehyddipropylacetal umgesetzt, aufbereitet und man erhält das 17 α -propoxymethoxy-19-nor-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 97 - 99 °C.

Beispiel 15

50 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden mit 600 ml Formaldehyddiäthylacetal und 600 ml Methylenchlorid suspendiert und auf -30 bis -40 °C gekühlt. Unter Rühren wird eine Mischung von 75 g Phosphorpentoxid und 150 g Kieselgur eingetragen und 30 Stunden bei -30 °C gerührt. Die Lösung wird filtriert und mit Triäthylamin neutralisiert. Nach dem Abdestillieren der Lösungsmittel wird nochmals mit Methanol abdestilliert und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Man erhält 35,9 g 21-Acetoxy-17 α -äthoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion, das nach nochmaliger Umkristallisation bei 137 - 139 °C schmilzt.

Beispiel 16

25 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden mit 200 ml Formaldehyddipropylacetal und 320 ml Methylenchlorid suspendiert und auf -20 °C gekühlt. Unter Rühren wird eine Mischung aus 49,3 g Phosphorpentoxid und 97 g Kieselgur eingetragen und 22 Stunden bei -20 °C gerührt.

Die Lösung wird filtriert und mit Triäthylamin neutralisiert. Das Methylenchlorid wird im Vakuum abdestilliert und die Formaldehyddipropylacetal-Phase vom abgeschiedenen Öl abgossen. Nach dem Abdestillieren weiteren Lösungsmittels im Vakuum kristallisieren 19 g 21-Acetoxy-17 α -propoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 145 - 147 °C.

Beispiel 17

50 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden mit 500 ml Formaldehyddibutylacetal und 500 ml Methylenchlorid suspendiert und auf -35 °C gekühlt. Unter Rühren wird eine Mischung aus 74 g Phosphorpentoxid und 150 g Kieselgur eingetragen und 30 Stunden bei -35 °C gerührt. Die Lösung wird filtriert und mit Triäthylamin neutralisiert. Das Methylenchlorid wird im Vakuum abdestilliert und die Formaldehyddibutylacetal-Phase von dem abgeschiedenen Öl abgossen. Nach dem Abdestillieren weiteren Lösungsmittels im Vakuum kristallisieren 38,7 g 21-Acetoxy-17 α -butoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 123,5 - 124,5 °C.

Beispiel 18

10,60 g 21-Acetoxy-6 α -fluor-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden in 265 ml Methylenchlorid und 47,7 ml Formaldehyddimethylacetal gelöst. Ein Gemisch aus 7,95 g Phosphorpentoxid und 15,0 g Kieselgur wird portionsweise zugegeben und die Mischung 90 Minuten unter Stickstoff

bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird filtriert und mit 2,1 ml Triäthylamin versetzt. Die Lösungsmittel werden abdestilliert und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Man erhält 7,6 g 21-Acetoxy-6 α -fluor-17 α -methoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 161 - 167 °C.

Beispiel 19

- a) 43 g 3 β , 21-Diacetoxy-17 α -hydroxy-16 β -methyl-5-pregnen-20-on werden in 800 ml Formaldehyddimethylacetal gelöst und auf -15 °C gekühlt. In Portionen wird eine Mischung von 43 g Phosphorpentoxid und 86 g Kieselgur eingetragen und die Mischung 15 Stunden bei ca. -15 °C gerührt. Die Lösung wird filtriert, mit Triäthylamin neutralisiert und die Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird mit Methanol umkristallisiert, man erhält 31,5 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -methoxymethoxy-16 β -methyl-5-pregnen-20-on vom Schmelzpunkt 117 - 118 °C.
- b) *Flavobacterium dehydrogenans* ATCC 13930 wird wie in Beispiel 1b, angezüchtet und fermentiert. Zur 7. Stunde setzt man der Kultur 4 ml einer sterilen Lösung von 0,2 g 3 β ,21-Diacetoxy-17 α -methoxymethoxy-16 β -methyl-5-pregnen-20-on in Dimethylformamid zu und schüttelt weitere 65 Stunden.
- Nach erfolgter Fermentation wird die Kultur wie unter Beispiel 1b beschrieben, aufgearbeitet und man erhält 163 mg 21-Hydroxy-17 α -methoxymethoxy-16 β -methyl-4-

pregnen-3,20-dion vom Schmelzpunkt 126/128 - 129 °C.

Beispiel 20

29,1 g 21-Acetoxy-6-chlor-17 α -hydroxy-4,6-pregnadien-3,20-dion werden in 730 ml Methylenchlorid und 131,0 ml Formaldehyddimethylacetal gelöst. Ein Gemisch aus 22,12 g Phosphorpentoxid und 44 g Kieselgur wird portionsweise zugegeben und die Mischung 2,5 Stunden unter Stickstoff bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird filtriert und mit 5,8 ml Triäthylamin versetzt. Die Lösungsmittel werden abdestilliert und der Rückstand aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle und 1 % Triäthylamin umkristallisiert. Man erhält 15,6 g 21-Acetoxy-6-chlor-17 α -methoxymethoxy-4,6-pregnadien-3,20-dion vom Schmelzpunkt 183 - 186 °C.

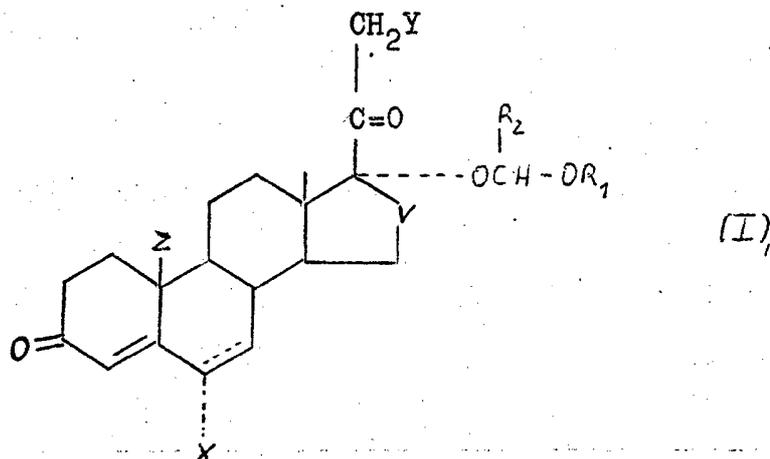
Beispiel 21

a) 38,85 g 21-Acetoxy-17 α -hydroxy-4-pregnen-3,20-dion werden mit 235 ml Formaldehyddiisopropylacetal und 500 ml Methylenchlorid verrührt und auf -20 °C gekühlt. Unter Rühren wird eine Mischung aus 75 g Phosphorpentoxid und 150 g Kieselgur eingetragen und 20 Stunden bei -20 °C gerührt. Die Mischung wird filtriert, mit Methylenchlorid gewaschen und mit Triäthylamin auf pH 9 gebracht. Die Lösungsmittel werden im Vakuum abdestilliert und der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen. Die Lösung wird mit halbgesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, mit Natrium-

sulfat getrocknet, mit Aktivkohle behandelt, über Kieselgur abgesaugt und im Vakuum konzentriert. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Toluol-Essigester-Gemischen chromatographiert. Man erhält 35,8 g 21-Acetoxy-17 α -isopropoxymethoxy-4-pregnen-3,20-dion, das nach Kristallisation mit Pentan einen Schmelzpunkt von 111 - 117 °C zeigt.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung von Steroiden der allgemeinen Formel I



worin

..... eine Einfachbindung oder eine Doppelbindung

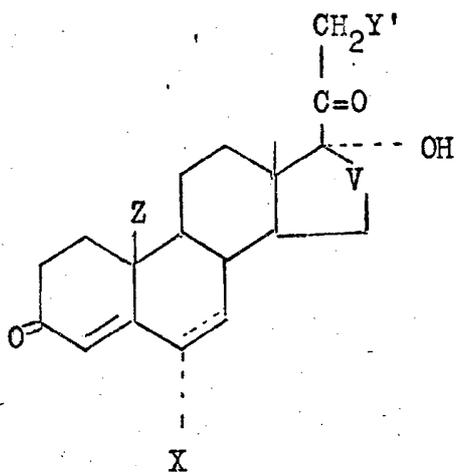
- X ein Wasserstoffatom, ein Fluoratom oder eine Methylgruppe,
- Y ein Wasserstoffatom, eine Hydroxygruppe oder eine Alkanoyloxygruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen,
- Z ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe
und
- V eine Methylengruppe, eine Äthylidengruppe, eine Hydroxymethylengruppe oder eine Vinylidengruppe bedeuten und

R_1 eine 1 bis 6 Kohlenstoffatome enthaltende, gegebenenfalls durch ein Sauerstoffatom unterbrochene Alkylgruppe und

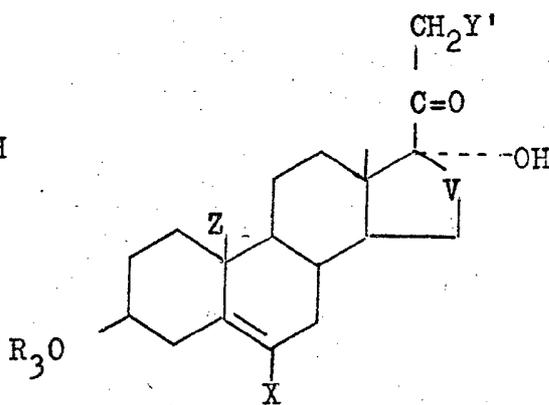
R'_2 ein Wasserstoffatom oder eine 1 bis 6 Kohlenstoffatome enthaltende Alkylgruppe darstellen oder

R'_1 und R'_2 gemeinsam eine Tri- oder Tetramethylen-
gruppe bedeuten, falls

Y eine Hydroxygruppe oder eine Alkanoyloxygruppe ist, gekennzeichnet dadurch, daß man ein Steroid der allgemeinen Formel II oder III



(II),



(III),

worin

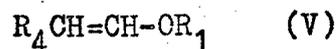
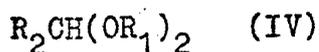
....., X, V und Z die oben genannte Bedeutung besitzen
und

Y' ein Wasserstoffatom oder eine Alkanoyloxygruppe
mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen sowie

R₃ eine Alkanoylgruppe mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen
darstellen,

mit einem Acetal der allgemeinen Formel IV

oder einem Vinyläther der allgemeinen Formel V,



worin R₁ und R₂ die oben genannte Bedeutung besitzen
und R₄ Wasserstoff oder eine 1 bis 5 Kohlenstoffatome
enthaltende Alkylgruppe oder gemeinsam mit R₁ eine
Trimethylen- oder Äthylengruppe darstellen, falls Y
eine Hydroxylgruppe oder eine Alkanoylgruppe ist,
umsetzt,

gegebenenfalls Estergruppen verseift und eine 3β-
Hydroxygruppe unter gleichzeitiger Isomerisierung der
Δ⁵-Doppelbindung oxydiert.