

# Darstellung und Reaktionen von 2-Methylen-canrenon<sup>+,\*)</sup>

Klaus Görlitzer<sup>a)</sup>\*, Peter Moormann<sup>a)</sup>, Kunhard Pollow<sup>b)</sup> und Michael Schaffrath<sup>b)</sup>

<sup>a)</sup> Institut für Pharmazeutische Chemie der Technischen Universität Braunschweig, Beethovenstraße 55, 38106 Braunschweig

<sup>b)</sup> Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauenkrankheiten, Abt. für Experimentelle Endokrinologie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstraße 1, 55131 Mainz

Eingegangen am 30. Juni 1994

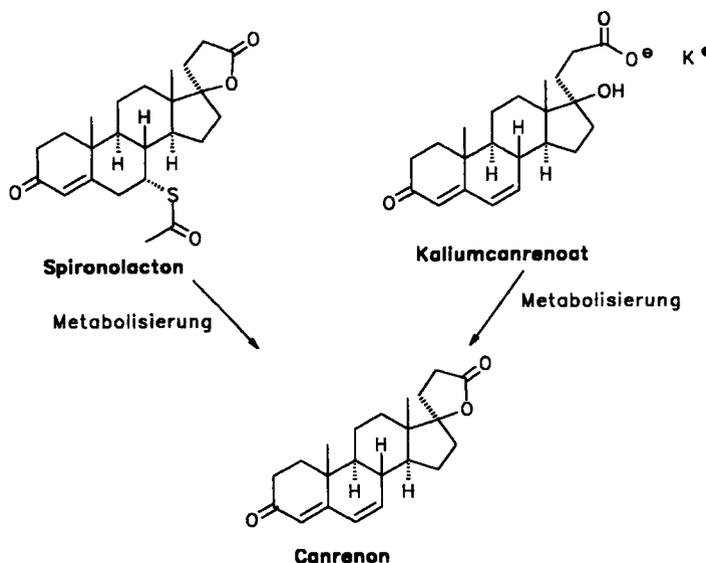
Ausgehend vom *Mannich*-Salz **1** des Aldosteronantagonisten Canrenon oder von 2-Methylen-canrenon (**2**) wurden die am A-Ring anellierte Hetero- und Carbocyclen **5**, **6**, **8-13** dargestellt. Mit den Verbindungen **2**, **3**, **4b**, **5**, **6b**, **8** und **12** wurden Bindungsstudien am Estradiol-, Progesteron-, Androgen-, Glucocorticoid- und Mineralocorticoid-Rezeptor sowie an den Serumproteinen Sexualhormonbindendes Globulin (SHBG) und Corticosteroidbindendes Globulin (CBG) durchgeführt. Die relativen Bindungsaffinitäten lagen bei CBG unter 1%, in allen anderen Fällen niedriger als 0.01%.

## Synthesis and Reactions of 2-Methylene-canrenone

Starting from the *Mannich* salt **1** of the aldosterone antagonist canrenone or from 2-methylene-canrenone (**2**) the A-ring annulated hetero- and carbocycles **5**, **6**, **8-13** were prepared. Receptor (estradiol, progesterone, androgen, gluco- and mineralocorticoid) binding studies and competition studies with the serum proteins SHBG and CBG were carried out using the compounds **2**, **3**, **4b**, **5**, **6b**, **8** and **12**. The relative binding affinities with CBG are below 1%, in all other cases lower than 0.01%.

17-Spirolacton-Steroide sind als Aldosteron-Antagonisten von Bedeutung<sup>1)</sup>. Spironolacton sowie das wasserlösliche und somit injizierbare Kaliumcanrenoat sind als kaliumsparende Diuretika zur Therapie der Hypertonie zugelassen, wobei Canrenon der gemeinsame, wirksame Hauptmetabolit dieser Arzneistoffe ist<sup>2)</sup>. Spironolacton gilt zwar als weitgehend spezifischer Aldosteron-Antagonist, trotzdem besitzt es noch antiandrogene sowie gestagene Restwirkungen<sup>2)</sup>. Unser Ziel war es, durch Substitution oder Anellierung am A-Ring Derivate des Canrenons zu synthetisieren, die verminderte hormonelle Nebenwirkungen aufweisen (Schema 1).

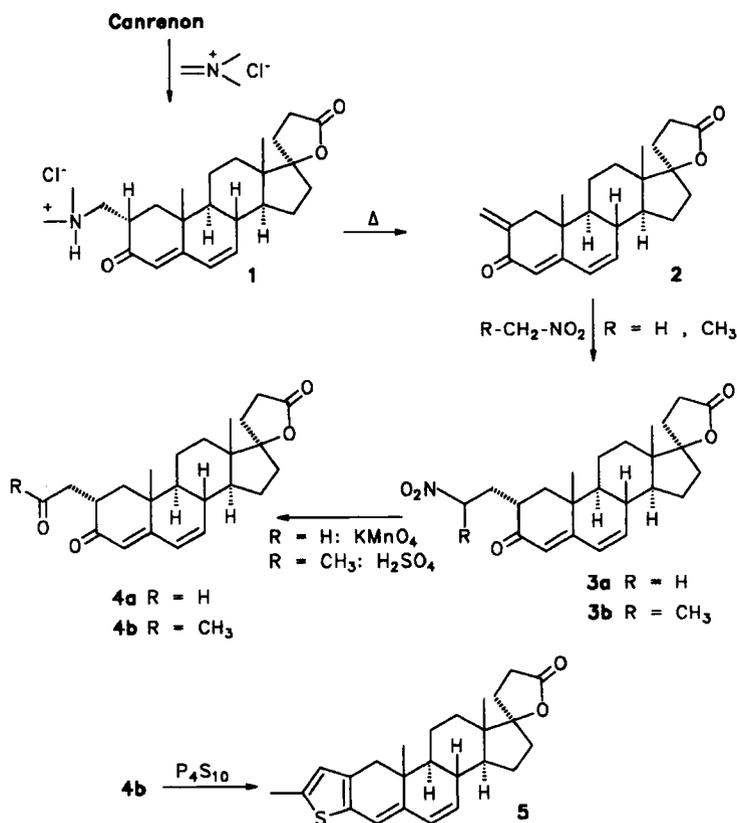
Am Beginn der synthetischen Untersuchungen stand die Darstellung der Schlüsselverbindung 2-Methylen-canrenon (**2**), die durch  $\beta$ -Eliminierung von Dimethylamin aus dem *Mannich*-Salz **1** erhalten wurde. Die Anwendung der "klassischen" *Mannich*-Reaktion<sup>3)</sup> bei Canrenon zur Darstellung von **1** lieferte kein einheitliches Produkt, während bei Verwendung von *N,N*-Dimethylmethyleniminiumchlorid<sup>4)</sup> **1** in hoher Ausb., regioselektiv, diastereomeren- und zugleich analysenrein zugänglich war<sup>5)</sup>.



Schema 1

<sup>+) Herrn Prof. Dr. H. Möhrle mit den besten Wünschen zum 65. Geburtstag gewidmet.</sup>

<sup>\*) Aus der Dissertation P. Moormann, TU Braunschweig, 1994.</sup>



Schema 2

Als vorteilhaft erwies sich, daß bei der Mehrzahl der Synthesen auch das Mannich-Salz **1** eingesetzt werden konnte, da dieses *in situ* **2** bildete. Es stellte sich die Frage, ob aus dem Dienon **2** über die Reaktionsfolge Michael-Addition<sup>6</sup>, Nef-Reaktion<sup>7</sup> und Paal-Knorr-Synthese<sup>8,9</sup> anellierte Furane, Pyrrole und Thiophene synthetisiert werden können. Durch Michael-Addition von Nitromethan bzw. Nitroethan unter Natriumalkoholat-Katalyse<sup>10</sup> waren die  $\gamma$ -Nitrocarbonylverbindungen **3a** und **3b** darstellbar. **3a** lag als reines Enantiomer vor. Die chirale Induktion erstreckte sich jedoch nicht auf die C-2-Seitenkette, so daß **3b** als Diastereomergemisch (1:1) anfiel. Während sich **3b** durch "klassische" Nef-Reaktion<sup>7</sup> zur 1,4-Dicarbonylverbindung **4b** abbauen ließ, waren zur Darstellung des Ketoaldehyds **4a** aus **3a** mildere Reaktionsbedingungen nötig, nämlich in Anlehnung an die Variante von Shechter und Williams die Verwendung von  $\text{KMnO}_4$  in nahezu neutralem Medium<sup>11,12</sup>. Im Rahmen von Paal-Knorr-Synthesen ließ sich nur die Cyclisierung von **4b** zum anellierten Thiophen **5** mit  $\text{P}_4\text{S}_{10}$  in THF<sup>13</sup> realisieren. Offenbar war der ausgeprägte aromatische Charakter des Thiophens entscheidend, denn die entspr. Pyrrole konnten durch Erhitzen von **4a** und **4b** mit Ammoniumacetat in Ethanol oder Eisessig<sup>14</sup> nicht dargestellt werden. Auch die korrespondierenden Furane ließen sich durch Umsetzung von **4a** und **4b** mit dehydratisierenden Agenzien wie

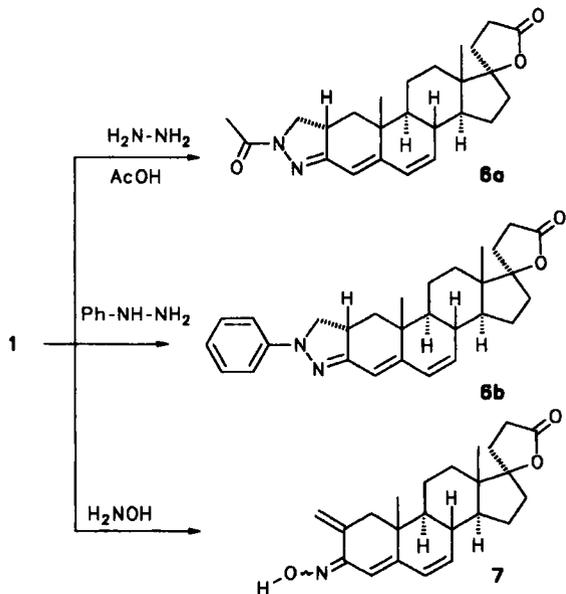
Acetanhydrid<sup>9</sup> oder Polyphosphorsäure<sup>15</sup> nicht isolieren (Schema 2).

Die Kondensation von Enonen mit Arylhydrazinen ist eine präparativ wertvolle Möglichkeit zur Darstellung von 1-Aryl-2-pyrazolinen, während die Verwendung von Hydrazin bzw. Alkylhydrazinen weniger gebräuchlich ist<sup>16</sup>. Bei der Umsetzung von **1** mit Hydrazin konnte nur in Eisessig ein einheitliches Produkt, nämlich das *N*-Acetylpyrazolin **6a** erhalten werden. Das Phenylpyrazolin **6b** wurde aus **1** und Phenylhydrazin gebildet und zeigt eine intensive gelbliche Fluoreszenz.

Die Umsetzung von **1** mit Hydroxylamin führte anstelle eines anellierten Isoxazolins<sup>17</sup> nur zum ungesättigten Oxim **7**. **7** liegt als *E/Z*-Gemisch 9:1 vor. Für die Zuordnung ist die chem. Verschiebung des olefinischen 4-H maßgeblich, das bei *syn*-Oximen von  $\Delta^4$ -3-Oxo-steroiden<sup>18,19</sup> bei tieferem Feld in Resonanz tritt (Schema 3).

Erfolgreich verlief die Darstellung einiger Sechsring-anellierter Hetero- und Carbocyclen aus dem Dienon **2**. Bei der Kondensation von **1** mit Thioharnstoff wurde das Tetrahydropyrimidin **8** erhalten<sup>20</sup>. Die Hantzsch-Pyridinsynthese<sup>21</sup> aus Enonen, Acetessigester und Ammoniak wird üblicherweise in Lösungsmitteln wie Ethanol, Toluol oder Eisessig durchgeführt<sup>22</sup>.

Die Umsetzung von **1** ließ sich jedoch nur durch eine Schmelze mit  $\beta$ -Aminocrotonsäuremethylester<sup>23</sup> realisieren

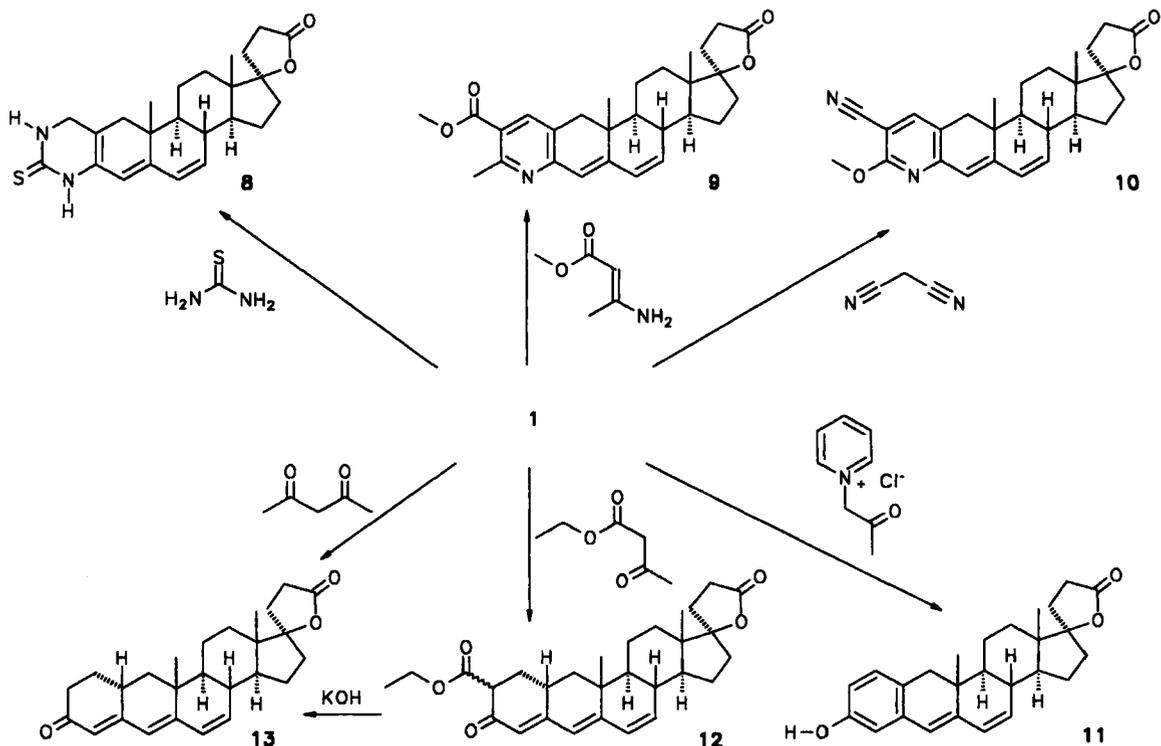


Schema 3

und führte durch Luftsauerstoff-Oxidation des intermediär gebildeten 1,4-Dihydropyridins zum Pyridin 9.

Durch Cyclokondensation von 1 mit Malodinitril war nach Otto<sup>24</sup>) das 5'-Cyano-6'-methoxy-pyridin 10 zugänglich.

Nach Eichinger<sup>25</sup>) können substituierte Phenole aus Enonen in einem Schritt durch Umsetzung mit Pyridinium-acetylchlorid<sup>26</sup>) dargestellt werden. Nach diesem Verfahren gelang die Synthese des Phenols 11 aus 1.



Schema 4

Große präparative Bedeutung, insbesondere bei der Total-synthese von Steroiden, besitzt die Robinson-Anellierung<sup>27,28,29</sup>). Nach Mannich<sup>30</sup>) gelang die Darstellung des  $\beta$ -Ketoesters 12 aus 1 durch Umsetzung mit Acetessigsäureethylester in Gegenwart von Natriumethanolat. Die Verwendung von Acetylaceton lieferte unter gleichen Bedingungen über die entspr. 5'-Acetylverbindung in einer Tandem-Reaktion durch Abspaltung von Ethylacetat im Sinne einer retro-Claisen-Reaktion das Trienon 13. 13 wurde auch durch Verseifung und Decarboxylierung von 12 mit KOH erhalten (Schema 4).

Nach den erweiterten Woodward-Regeln<sup>31</sup>) für ungesättigte Carbonylverbindungen ließ sich für den Trienon-Chromophor von 12 und 13 das Absorptionsmaximum von  $\lambda = 333 \text{ nm}$  abschätzen. Für 12 wurde experimentell  $\lambda = 334 \text{ nm}$  und für 13  $\lambda = 332 \text{ nm}$  ermittelt.

Bei den Verbindungen 1, 3, 4, 6, 12 und 13 wurde durch NOE-Differenzspektren bewiesen, daß 2-H  $\beta$ -ständig sein muß. Nach Sättigung des 19-H<sub>3</sub>-Singulets wurden die Resonanzsignale für 2-H und 18-H<sub>3</sub> verstärkt. Ebenso erhöhte sich die Intensität für 19-H<sub>3</sub>, wenn bei 2-H eingestrahlt wurde.

### Pharmakologische Untersuchungen

Die Canrenon-Derivate 2, 3, 4b, 5, 6b, 8 und 12 wurden mittels Kompetitionstudien an den Serumproteinen SHBG und CBG sowie auf Rezeptorebene (Estradiol-, Progesteron-, Androgen-, Glucocorticoid- und Mineralocorticoidrezeptor) auf ihre Bindungsfähigkeit untersucht. Alle Verbindungen erwiesen sich gegenüber den Steroid-Rezeptortypen und SHBG mit relativen Bindungsaffinitäten (RBA) < 0.01% als inaktiv.

Schwache Bindungsaktivität zeigen **3**, **4b** und **12** gegenüber CBG mit RBA < 1%. Biologische Experimente am Ganztier, die Aussagen über die Wirksamkeit der Steroide ermöglichen würden, wurden nicht durchgeführt.

Der Firma Schering AG, Berlin, danken wir für die großzügige Überlassung von Kaliumcanrenoat.

## Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Linström-Gerät, nicht korrigiert.- Elementaranalysen: C-H-N-O-Elemental Analyzer 1106 Carlo Erba.- IR: Philips PU 98000.- UV: Philips PU 8730.- NMR: Bruker AM 400: TMS als interner Standard.- MS: Finnigan Mat 8430, Ionisierungsenergie 70 eV.- Spezifische Drehung: Polarimeter Perkin Elmer 241.- Fluorimeter: Zeiss PMQ 2.- SC: Kieselgel 63-200 µm (Woelm), Aluminiumoxid N Super I (Woelm).- HPLC: LiChroGraph L-6200 Gradientenpumpe, L-3000 Photodiodenarray Detektor, DAD-Manager Software, LiChro Cart 125-4, LiChroSpher 100 RP-8 (5 µm), Eluent: Acetonitril/H<sub>2</sub>O = 1 + 1. Nettoretentionszeit: t<sub>s</sub> (in min).- Kaliumcanrenoat wurde durch halbstündiges Erhitzen in Eisessig zu Canrenon cyclisiert.

### 2α-Dimethylaminomethyl-3-oxo-17α-pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton-Hydrochlorid (**1**)

0.35 g (1 mmol) Canrenon wurden in 10 ml Acetonitril gelöst. Nach Zugabe von 0.30 g (3 mmol) *N,N*-Dimethylmethyleniminiumchlorid<sup>4)</sup> wurde 1 d bei Raumtemp. gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt, mit Acetonitril gewaschen und i.Vak. getrocknet. Ausb. 0.36 g (86%) farbloses Pulver, Schmp. 217°C (Acetonitril).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2617-2487 (NH), 1766 (C=O, Lacton), 1657 (C=O), 1627 cm<sup>-1</sup> (C=C).- UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 286 nm (4.06).- <sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  = 0.93 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.17 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.20-2.60 (m, 17 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.77 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.01 (dd, J = 13; J = 7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>H-N), 3.14 (mc-sept, 1H, 2-H), 3.53 (dd, J = 13; J = 7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>H-N), 5.71 (s, 1H, 4-H), 6.20 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 6.25 (dd, J = 10; J = 2 Hz, 1H, 7-H), 10.20 (s, 1H, NH, a).- MS (EI): m/z (%) = 397 (3) [M<sup>+</sup>; freie Base], 352 (8), 58 (100).- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +35.5 (c = 0.05 in 0.1 M HCl).- HPLC: t<sub>s</sub> = 1.2.- C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>ClNO<sub>3</sub> (434.0) Ber. C 69.2 H 8.36 N 3.3 Cl 8.2 Gef. C 69.1 H 8.42 N 3.1 Cl 8.0.

### 2-Methylen-3-oxo-17α-pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (**2**)

0.43 g (1 mmol) **1** wurden in 10 ml Eisessig 1 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde **2** durch H<sub>2</sub>O ausgefällt. Der Niederschlag wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt. Ausb. 0.30 g (86%) farblose Kristalle, Schmp. 199°C (Ethanol).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1776 (C=O, Lacton), 1661 (C=O), 1610 cm<sup>-1</sup> (C=C).- UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 305 nm (4.38).- <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.04 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.05 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.13-2.63 (m, 11 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.71 (d, J = 14 Hz, 1H, 1-H<sub>H</sub>), 5.31 (s, 1H, =CH<sub>H</sub>), 5.82 (s, 1H, 4-H), 6.08 (t, J = 2 Hz, 1H, =CH<sub>H</sub>), 6.12 (d, J = 9 Hz, 1H, 6-H), 6.19 (dd, J = 9; J = 2 Hz, 1H, 7-H).- MS (EI): m/z (%) = 352 (100) [M<sup>+</sup>].- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +9.7 (c = 0.05, in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).- HPLC: t<sub>s</sub> = 5.7.- C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub> (352.5) Ber. C 78.4 H 8.01 Gef. C 78.3 H 7.99.

### 2α-Nitroethyl-3-oxo-17α-pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (**3a**)

0.35 g (1 mmol) **2** wurden in 10 ml Methanol gelöst, eine Lösung aus 0.24 g (4 mmol) Nitromethan sowie 0.12 g (5 mmol) Na in 5 ml Methanol zugetropft und 12 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Eindampfen der Lösung i.Vak. wurde der Rückstand in H<sub>2</sub>O aufgenommen und sofort mit Eisessig

angesäuert. Der Niederschlag wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt. Ausb. 0.31 g (75%) farbloses Pulver, Schmp. 114°C (Ethylacetat).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1773 (C=O, Lacton), 1661 (C=O), 1619 (C=C), 1557, 1390 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>).- UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 283 nm (4.30).- <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.04 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.17 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.20-2.62 (m, 19 H, CH, CH<sub>2</sub>), 4.64 (mc, 2H, CH<sub>2</sub>-NO<sub>2</sub>), 5.67 (s, 1H, 4-H), 6.10 (d, J = 9 Hz, 1H, 6-H), 6.14 (d, J = 9 Hz, 1H, 7-H).- MS (EI): m/z (%) = 413 (44) [M<sup>+</sup>], 366 (80), 340 (100).- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +29.8 (c = 0.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).- HPLC: t<sub>s</sub> = 6.0.- C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>3</sub> (413.5) Ber. C 69.7 H 7.56 N 3.4 Gef. C 69.8 H 7.65 N 2.9.

### 2α-(2-R,S-Nitropropyl)-3-oxo-17α-pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (**3b**)

0.35 g (1 mmol) **2** wurden in 10 ml Ethanol gelöst, eine Lösung von 0.05 g (2 mmol) Na in 5 ml Ethanol sowie 0.38 g (5 mmol) Nitroethan zugetropft und 2 h rückfließend erhitzt. Nach Eindampfen i.Vak. wurde der Rückstand in H<sub>2</sub>O aufgenommen und sofort mit Eisessig angesäuert. Der Niederschlag wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt. Ausb. 0.35 g (82%) farbloses Pulver, Schmp. ab 88°C (Ethylacetat).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1773 (C=O, Lacton), 1661 (C=O), 1619 (C=C), 1547, 1358 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>).- UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 283 nm (4.48).- <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.03 und 1.04 (2s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.14 und 1.15 (2s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.58 (d, J = 8 Hz, 3H, CH-CH<sub>3</sub>), 1.21-1.57 und 1.63-2.71 (2m, 20 H, CH, CH<sub>2</sub>), 4.85 und 5.09 (2mc, 1H, CH-NO<sub>2</sub>), 5.66 und 5.68 (2s, 1H, 4-H), 6.12 (m, J = 8 Hz, 2H, 6-H, 7-H).- MS (EI): m/z (%) = 427 (3) [M<sup>+</sup>], 380 (100).- HPLC: t<sub>s</sub> = 8.0.- C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>5</sub> (427.5) Ber. C 70.2 H 7.78 N 3.3 Gef. C 70.2 H 7.84 N 3.1.

### 3-Oxo-2α-(2-oxoethyl)-17α-pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (**4a**)

0.41 g (1 mmol) **3a** wurden in 100 ml 0.1 M NaOH und 10 ml Aceton gelöst. Nach Zugabe von 30 ml 20proz. MgSO<sub>4</sub>-Lösung und 300 ml Eiswasser wurde eine Lösung von 0.157 g (1 mmol) KMnO<sub>4</sub> in 20 ml Wasser zugetropft. Nach 10 min Rühren bei Raumtemp. wurde mit 10proz. Oxalsäure angesäuert und mit 200 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Der Rückstand wurde 30 min in 10 ml Eisessig unter Rückfluß erhitzt und anschließend mit H<sub>2</sub>O ausgefällt. Ausb. 0.25 g (65%) farbloses Pulver, Schmp. 112°C (Eisessig/H<sub>2</sub>O).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1770 (C=O, Lacton), 1722 (C=O, Aldehyd), 1660 (C=O), 1617 cm<sup>-1</sup> (C=C).- UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 284 nm (4.12).- <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.04 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.22 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.25-2.63 (m, 17 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.99 (mc, 1H, CH<sub>H</sub>-CHO), 3.18 (mc, 1H, CH<sub>H</sub>-CHO), 3.74 (mc, 1H, 2-H), 5.71 (s, 1H, 4-H), 6.10 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 6.14 (dd, J = 10; J = 3 Hz, 1H, 7-H), 9.86 (s, 1H, CHO).- MS (EI): m/z (%) = 354 (100) [M - CO]<sup>+</sup>.- MS (Cl/NH<sub>3</sub>): m/z (%) = 383 (100) [M + H]<sup>+</sup>.- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -4.1 (c = 0.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).- HPLC: t<sub>s</sub> = 3.3.- C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (382.5) Ber. C 75.4 H 7.91 Gef. C 75.2 H 7.99.

### 3-Oxo-2α-(2-oxopropyl)-17α-pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (**4b**)

0.42 g (1 mmol) **3b** wurden in 10 ml 0.5 M methanolischer KOH gelöst, 3 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend langsam in 100 ml eiskalte 3 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getropft. Nach 2 h wurde der Niederschlag abgesaugt und durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt. Ausb. 0.30 g (75%), farblose Kristalle, Schmp. 94°C (Ethylacetat).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1770 (C=O, Lacton), 1715 (C=O), 1660 (C=O), 1610 cm<sup>-1</sup> (C=C).- UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 283 nm (4.47).- <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.03 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.21 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.25-2.16 und 2.28-2.62 (m, 18 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.22 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-CO), 3.06 (dd, J = 18; J = 5 Hz, 1H, CH<sub>H</sub>-CO), 3.13 (mc, 1H, CH<sub>H</sub>-CO), 5.68 (s, 1H, 4-H), 6.10 (d, J = 10 Hz, 6-H), 6.13 (dd, J = 10; J = 3 Hz, 7-H).- MS (EI): m/z (%) = 396 (98) [M<sup>+</sup>], 381 (30), 378 (76), 323 (100).-

$[\alpha]_D^{20} = -12.9$  ( $c = 0.05$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )- HPLC:  $t_R = 3.9$ -  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_4$  (396.5) Ber. C 75.7 H 8.13 Gef. C 75.8 H 8.16.

*5'-Methyl-thieno[3',2':2,3]-17 $\alpha$ -pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (5)*

0.40 g (1 mmol) **4b** sowie 0.5 g (10 mmol)  $\text{P}_4\text{S}_{10}$  wurden in 20 ml THF 3 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemp. wurde die Suspension über Aluminiumoxid mit Ethylacetat/Cyclohexan (1 + 1) filtriert. Der Rückstand wurde durch SC an Kieselgel mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gereinigt. Ausb. 0.21 g (53%), hellgelbe Kristalle, Schmp. 178°C ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{n-Hexan}$ )- IR (KBr):  $\tilde{\nu} = 1775$  (C=O, Lacton), 1456  $\text{cm}^{-1}$  (C=C)- UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 260 nm (3.77), 324 (4.32), 338 (4.47), 355 (4.37)-  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.94$  (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.01 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.08-2.43 (m, 13 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.44 (s, 3H, 5'-CH<sub>3</sub>), 2.45-2.61 (m, 3H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.74 (d, J = 16 Hz, 1H, 1-HH), 5.61 (dd, J = 10; J = 2 Hz, 1H, 7-H), 6.06 (s, 1H, 4-H), 6.06 (dd, J = 10; J = 2 Hz, 1H, 6-H), 6.50 (s, 1H, 4'-H)- MS (EI):  $m/z$  (%) = 394 (100) [ $\text{M}^+$ ]-  $[\alpha]_D^{20} = -343$  ( $c = 0.05$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )- HPLC:  $t_R > 30$ -  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{S}$  (394.5) Ber. C 76.1 H 7.66 S 8.1 Gef. C 76.0 H 7.71 S 8.2.

*1'-Acetyl-4',5'-dihydro-2 $\beta$ H-pyrazolo[4',3':2,3]-17 $\alpha$ -pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (6a)*

0.43 g (1 mmol) **1** wurden mit 0.1 g (1.2 mmol) Natriumacetat sowie 0.1 g (2 mmol) Hydrazinhydrat in 15 ml Eisessig 5 h rückfließend erhitzt. Es wurde in 100 ml Eiswasser gegossen, mit 3 x 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt und i.Vak. eingeengt. Der Rückstand wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt. Ausb. 0.25 g (61%), farblose Kristalle, Schmp. 169°C (Ethylacetat)- IR (KBr):  $\tilde{\nu} = 1771$  (C=O, Lacton), 1655 (C=O, Amid), 1615, 1556  $\text{cm}^{-1}$  (C=N, C=C)- UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 312 nm (4.42)-  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.03$  (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.11 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.13-2.18 (m, 18 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.29 (s, 3H, H<sub>3</sub>C-CO), 3.25 (t, J = 11 Hz, 1H, NCHH), 3.38 (mc, 1H, 2-H), 4.36 (t, J = 11 Hz, 1H, NCHH), 5.86 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 6.08 (s, 1H, 4-H), 6.16 (dd, J = 2; J = 10 Hz, 1H, 7-H)- MS (EI):  $m/z$  (%) = 408 (65) [ $\text{M}^+$ ], 366 (100)-  $[\alpha]_D^{20} = -190$  ( $c = 0.05$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )- HPLC:  $t_R = 4.8$ -  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 3/4 \text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$  (474.6) Ber. C 70.9 H 8.07 N 5.9 Gef. C 70.9 H 8.15 N 5.8.

*4',5'-Dihydro-1'-phenyl-2 $\beta$ H-pyrazolo[4',3':2,3]-17 $\alpha$ -pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (6b)*

0.43 g (1 mmol) **1** und 0.2 g (1.5 mmol) Phenylhydrazin-Hydrochlorid wurden in 15 ml Ethanol sowie 1 ml 2 M NaOH gelöst und 3 h rückfließend erhitzt. Dann wurde mit 2 M HCl angesäuert, mit  $\text{H}_2\text{O}$  bis zur Trübung versetzt und gekühlt. Der Niederschlag wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt. Ausb. 0.23 g (52%), gelblich fluoreszierende Kristalle, Schmp. 252°C (Zers.) (Ethanol)- IR (KBr):  $\tilde{\nu} = 1779$  (C=O), 1597, 1500  $\text{cm}^{-1}$  (C=N, C=C)- UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 267 nm (4.26), 375 (4.52)-  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta = 0.92$  (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.07 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.14-2.57 (m, 17 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.98 (dd, J = 9; J = 15 Hz, 1H, N-CHH), 3.40-3.50 (m, 1H, 2-H), 4.26 (t, J = 9 Hz, 1H, N-CHH), 5.80 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 6.15 (s, 1H, 4-H), 6.18 (dd, J = 2; J = 10 Hz, 1H, 7-H), 6.77-7.22 (m, 5H, Aryl)-  $[\alpha]_D^{20} = +469$  ( $c = 0.05$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )- MS (EI):  $m/z$  (%) = 442 (100) [ $\text{M}^+$ ]- Fluorimetrie: Emmissionsmaximum  $\lambda = 515$  nm (Anregungslicht  $\lambda = 365$  nm)- HPLC:  $t_R = 9.5$ -  $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2$  (442.6) Ber. C 78.7 H 7.74 N 6.3 Gef. C 78.5 H 7.74 N 6.2.

*(E/Z)-3-Hydroxyimino-2-methylen-17 $\alpha$ -pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (7)*

0.43 g (1 mmol) **1** sowie 0.17 g (2 mmol) Hydroxylammoniumchlorid wurden in 15 ml Pyridin 5 h rückfließend erhitzt. Nach Abkühlen der

Lösung wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt und der Niederschlag aus Methanol/ $\text{H}_2\text{O}$  umkristallisiert. Ausb. 0.25 g (66%) farblose Kristalle, Schmp. 258°C- IR (KBr):  $\tilde{\nu} = 3388$  (OH), 1755 (C=O, Lacton), 1600  $\text{cm}^{-1}$  (C=N, C=C)- UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 292 nm (4.42)-  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta = E/Z$ : 0.86 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 0.91 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 0.96-2.46 (m, 18 H, CH, CH<sub>2</sub>), 4.91 (s, 1H, =CHH); E: 5.54 (s, 0.9 H, =CHH), 5.93 (d, J = 10 Hz, 0.9 H, 6-H), 6.17 (dd, J = 10; J = 2 Hz, 0.9 H, 7-H), 6.44 (s, 0.9 H, 4-H), 11.10 (s, 0.9 H, OH, a); Z: 5.50 (s, 0.1 H, =CHH), 5.78 (d, J = 10 Hz, 0.1 H, 6-H), 6.12 (dd, J = 10; J = 2 Hz, 0.1 H, 7-H), 6.25 (s, 0.1 H, 4-H), 11.45 (s, 0.1 H, OH, a)- MS (EI):  $m/z$  (%) = 367 (100) [ $\text{M}^+$ ]- HPLC:  $t_R = 5.1$ -  $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_3 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$  (376.5) Ber. C 73.4 H 8.03 N 3.7 Gef. C 73.0 H 7.95 N 3.5- a: H/D Austausch.

*1',2',3',6'-Tetrahydro-2'-thioxo-pyrimido[5',4':2,3]-17 $\alpha$ -pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (8)*

0.43 g (1 mmol) **1** sowie 0.08 g (1.1 mmol) Thioharnstoff wurden in 15 ml Ethanol gelöst und nach Zugabe von 1 ml 2 M NaOH 2 h rückfließend erhitzt. Anschließend wurde mit 2 M HCl neutralisiert, das Produkt durch  $\text{H}_2\text{O}$ -Zugabe ausgefällt und der Niederschlag durch SC an Aluminiumoxid mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gereinigt. Ausb. 0.20 g (49%), gelbes Pulver, Schmp. ab 264°C (Zers.) ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )- IR (KBr):  $\tilde{\nu} = 3418$ , 3213 (NH), 1774 (C=O, Lacton), 1616, 1585 (C=C), 1518  $\text{cm}^{-1}$  (C=S)- UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 282 nm (4.57), 342 (3.68)-  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta = 0.87$  (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 0.89 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.24-2.57 (m, 17 H, CH, CH<sub>2</sub>), 3.76 (d, J = 16 Hz, 1H, 6'-HH), 3.83 (d, J = 16 Hz, 1H, 6'-HH), 5.56 (s, 1H, 4-H), 5.69 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 5.97 (d, J = 10 Hz, 1H, 7-H), 8.22 (s, 1H, NH), 9.49 (s, 1H, NH)- MS (EI):  $m/z$  (%) = 410 (100) [ $\text{M}^+$ ]-  $[\alpha]_D^{20} = -128$  ( $c = 0.05$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )- HPLC:  $t_R = 3.4$ -  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$  (410.6) Ber. C 70.2 H 7.36 N 6.8 S 7.8 Gef. C 70.2 H 7.48 N 6.5 S 7.8.

*5'-Methoxycarbonyl-6'-methyl-pyrido[3',2':2,3]-17 $\alpha$ -pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (9)*

0.43 g (1 mmol) **1** sowie 0.35 g (3 mmol) 3-Aminocrotonsäuremethylester wurden in einem Mörser gut verrieben und anschließend 2 h unter Rühren bei 120°C geschmolzen. Nach Abkühlen und Zugabe von 10 ml 2 M HCl wurde mit 3 x 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Das Lösungsmittel wurde i.Vak. abdestilliert und der Rückstand durch SC an Aluminiumoxid mit Ethylacetat gereinigt. Ausb. 0.23 g (51%), gelbe Kristalle, Schmp. 221°C (EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$ )- IR (KBr):  $\tilde{\nu} = 1780$  (C=O, Lacton), 1730 (C=O, Ester), 1670, 1590  $\text{cm}^{-1}$  (C=N, C=C)- UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 238 nm (4.21), 342 (4.44)-  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.90$  (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.03 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.15-2.63 (m, 16 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.68 (d, J = 15 Hz, 1H, 1-HH), 2.78 (s, 1H, 6'-CH<sub>3</sub>), 2.82 (d, J = 15 Hz, 1H, 1-HH), 3.90 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 5.89 (d, J = 9 Hz, 1H, 6-H), 6.23 (dd, J = 9; J = 2 Hz, 1H, 7-H), 6.35 (s, 1H, 4-H), 7.91 (s, 1H, 4'-H)- MS (EI):  $m/z$  (%) = 447 (100) [ $\text{M}^+$ ]-  $[\alpha]_D^{20} = -178$  ( $c = 0.05$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )- HPLC:  $t_R = 6.4$ -  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{NO}_4$  (447.5) Ber. C 75.1 H 7.43 N 3.1 Gef. C 74.9 H 7.53 N 3.0.

*5'-Cyano-6'-methoxy-pyrido[3',2':2,3]-17 $\alpha$ -pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (10)*

0.43 g (1 mmol) **1** wurden in einer Lösung aus 0.1 g (4 mmol) Na in 10 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 0.08 g (1.1 mmol) Malodinitril 1 h rückfließend erhitzt. Nach Neutralisation mit 2 M HCl wurde das Produkt durch  $\text{H}_2\text{O}$  ausgefällt. Der Niederschlag wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat/Cyclohexan (1 + 1) gereinigt. Ausb. 0.25 g (58%), gelbe Kristalle, Schmp. 224°C (Methanol)- IR (KBr):  $\tilde{\nu} = 2218$  (C=N), 1775 (C=O, Lacton), 1620, 1591  $\text{cm}^{-1}$  (C=N, C=C)- UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 237 nm (4.24), 294 (4.00), 363 (4.45)-  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.91$  (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.03 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.20-2.60 (m,

15 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.62 (d, J = 16 Hz, 1H, 1-HH), 2.75 (d, J = 16 Hz, 1H, 1-HH), 4.01 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.95 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 6.21 (dd, J = 10; J = 2 Hz, 1H, 7-H), 6.24 (s, 1H, 4-H), 7.51 (s, 1H, 4'-H).- MS (EI): m/z (%) = 430 (100) [M<sup>+</sup>].- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -314 (c = 0.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).- HPLC: t<sub>s</sub> = 15.- C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 1/2 CH<sub>3</sub>OH (446.6) Ber. C 74.0 H 7.22 N 6.3 Gef. C 74.1 H 7.04 N 6.3.

**4'-Hydroxy-benzo[1'.2':2,3]-17α-pregna-4,6-dien-21,17-carbolacton (11)**

0.43 g (1 mmol) **1**, 0.24 g (1 mmol) Pyridiniumacetonylchlorid<sup>26)</sup> und 0.33 g (4 mmol) Natriumacetat wurden in 15 ml Ethanol gelöst und 6 h rückfließend erhitzt. Danach wurde i.Vak. eingeengt und das Produkt durch H<sub>2</sub>O ausgefällt. Der Niederschlag wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat/Cyclohexan (1 + 1) gereinigt. Ausb. 0.12 g (31%), farblose Kristalle, Schmp. ab 284°C (Zers.) (Ethanol).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 3426 (OH), 1755 (C=O, Lacton), 1618, 1570 cm<sup>-1</sup> (C=C).- UV (Methanol): λ<sub>max</sub> (lg ε) = 233 nm (4.22), 241 (4.24), 249 (4.20), 292 (4.38), 305 (4.29), 323 (4.08).- <sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO): δ = 0.77 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 0.91 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.23-2.59 (m, 16 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.68 (d, J = 15 Hz, 1H, 1-HH), 5.74 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 6.11 (s, 1H, 4-H), 6.13 (dd, J = 10; J = 2 Hz, 1H, 7-H), 6.49 (mc, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.92 (d, J = 8 Hz, 1H, 6'-H), 9.15 (s, 1H, OH).- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -200 (c = 0.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).- MS (EI): m/z (%) = 390 (100) [M<sup>+</sup>].- HPLC: t<sub>s</sub> = 10.2.- C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> (390.5) Ber. C 80.0 H 7.74 Gef. C 79.7 H 7.77.

**(5'RS)-5'-Ethoxycarbonyl-4'-oxo-2βH-cyclohexa[1'.2':2,3]-17α-pregna-2',4,6-trien-21,17-carbolacton (12)**

0.43 g (1 mmol) **1** wurden in 15 ml Ethanol nach Zutropfen einer Lösung aus 0.1 g (4 mmol) Na in 5 ml Ethanol sowie 0.6 g (5 mmol) Acetessigsäureethylester 3 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde mit 2 M HCl neutralisiert, mit 3 x 20 ml Ethylacetat ausgeschüttelt und i.Vak. abdestilliert. Ausb. 0.30 g (65%), gelbe Kristalle, Schmp. 191°C (Methanol).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1771 (C=O, Lacton), 1740 (C=O, Ester), 1655 (C=O), 1588 cm<sup>-1</sup> (C=C).- UV (Methanol): λ<sub>max</sub> (lg ε) = 334 nm (4.61).- <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.03 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.09 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.30 (t, J = 7 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.41-2.65 (m, 19 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.65-2.81 (m, 1H, 2-H), 3.48 (m, 1H, 5'-H), 4.25 (mc, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 5.81 (d, J = 10 Hz, 1H, 6-H), 5.92 (s, 1H, 4-H), 5.94 (s, br, 1H, 3'-H), 6.11 (dd, J = 2; J = 10 Hz, 1H, 7-H).- MS (EI): m/z (%) = 464 (100) [M<sup>+</sup>].- HPLC: t<sub>s</sub> = 10.7 und 12.1.- C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub> (464.6) Ber. C 75.0 H 7.81 Gef. C 75.0 H 7.85.

**4'-Oxo-2βH-cyclohexa[1'.2':2,3]-17α-pregna-2',4,6-trien-21,17-carbolacton (13)**

**Darstellung A:** 0.43 g (1 mmol) **1** wurden in 15 ml Ethanol nach Zutropfen einer Lösung aus 0.1 g (4 mmol) Na in 5 ml Ethanol sowie 0.3 g (3 mmol) Acetylaceton 2 h rückfließend erhitzt. Nach Neutralisieren mit 10proz. Oxalsäure wurde mit 3 x 25 ml Ethylacetat ausgeschüttelt und i.Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat/Cyclohexan (1 + 1) gereinigt.- Ausb. 0.28 g (71%).

**B:** 0.46 g (1 mmol) **12** wurden in einer Mischung aus 20 ml Methanol, 5 ml H<sub>2</sub>O und 0.5 g (10 mmol) KOH 1 h rückfließend erhitzt. Anschließend wurde i.Vak. abdestilliert, der Rückstand in 20 ml Eisessig gelöst und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach H<sub>2</sub>O-Zugabe fiel das Produkt aus. Der Niederschlag wurde durch SC an Kieselgel mit Ethylacetat/Cyclohexan (1 + 1) gereinigt.- Ausb. 0.20 g (51%), hellgelbe Kristalle, Schmp. ab 209°C (Zers.) (Ethanol).- IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1771 (C=O, Lacton), 1654 (C=O), 1589 cm<sup>-1</sup> (C=C).- UV (Methanol): λ<sub>max</sub> (lg ε) = 332 nm (4.51).- <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.03 (s, 3H, 18-H<sub>3</sub>), 1.09 (s, 3H, 19-H<sub>3</sub>), 1.11-2.62 (m, 21 H, CH, CH<sub>2</sub>), 2.74 (mc, 1H, 2-H), 5.80 (s, 1H,

3'-H), 5.90 (d, J = 7 Hz, 1H, 6-H), 5.94 (s, 1H, 4-H), 6.12 (dd, J = 7; J = 2 Hz, 1H, 7-H).- MS (EI): m/z (%) = 392 (100) [M<sup>+</sup>].- [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +63.9 (c = 0.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).- HPLC: t<sub>s</sub> = 9.8.- C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub> (392.5) Ber. C 79.6 H 8.22 Gef. C 79.1 H 8.16.

**Pharmakologische Untersuchungen**

**Material:** [1, 2, 6, 7-<sup>3</sup>H(N)] Aldosteron (spezif. Akt. 2.96 TBq/mmol), [<sup>3</sup>H] R 5020 (spezif. Akt. 3.22 TBq/mmol), [2, 4, 6, 7-<sup>3</sup>H(N)] Estradiol (spezif. Akt. 3.44 TBq/mmol), [<sup>3</sup>H] R 1881 (Methyltrienolon) (spezif. Akt. 3.22 TBq/mmol), [1, 2, 4, 5, 6, 7-<sup>3</sup>H(N)] Dihydrotestosteron (DHT) (spezif. Akt. 5.29 TBq/mmol) sowie nichtdeutertes R 5020 und R 1881 wurden von New England Nuclear (Dreieich) bezogen.

[1, 2, 4, 6, 7-<sup>3</sup>H(N)] Dexamethason (spezif. Akt. 3.6 TBq/mmol) und [1, 2, 6, 7-<sup>3</sup>H(N)] Cortisol wurden von Amersham Buchler (Braunschweig) erhalten. Die übrigen Steroide wurden von der Schering AG (Bergkamen, Berlin) gespendet oder bei SERVA (Heidelberg) erworben. Alle Chemikalien waren p.a.-Qualitäten der Firma Merck (Darmstadt).

**Gewebeproben:** Estrogen- und Progesteronrezeptoren wurden aus dem Cytosol von humanem Uterusgewebe gewonnen. Die Nieren von Wistar-Ratten, denen die Nebennieren entfernt worden waren, wurden als Quelle für den Mineralocorticoidrezeptor benutzt. Der Glucocorticoidrezeptor wurde aus dem Lebergewebe dieser Ratten gewonnen. Die Bindung der Steroide an den Androgenrezeptor wurde in dem Cytosol der Prostata von kastrierten Ratten ermittelt. Alle Gewebeproben wurden rasch mit flüssigem N<sub>2</sub> bei -80°C eingefroren und bei derselben Temp. bis zur Verwendung aufbewahrt.

**Vorbereitung des Cytosols:** Die gefrorenen Gewebeproben wurden zerkleinert und nach Zugabe von kaltem PENG-Puffer (10 mmol/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mmol/l K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.5 mmol/l EDTA, 3 mmol/l Na<sub>3</sub>N<sub>3</sub>, 5 mmol/l Monothioglycerol, 10 Vol.% Glycerol, pH = 7,4) im Ultra Turrax (Janke und Kunkel, Melsungen) homogenisiert. Das Homogenat wurde bei 105.000 x g und 4°C über 45 min in einem Rotor mit feststehendem Winkel (60 Ti, Beckman Instruments, München) zentrifugiert. Der klare Überstand wurde verwendet. Die Proteinkonzentrationen des Cytosols wurde nach Bradford<sup>32)</sup> bestimmt.

**Kompetitionsstudien:** Die verschiedenen Cytosolzubereitungen wurden mit dem geeigneten Radioliganden (Endkonzentration 8 nmol/l) und steigenden Konzentrationen (1 x 10<sup>-10</sup> bis 1 x 10<sup>-5</sup> mol/l) der zu untersuchenden Steroide inkubiert. Ungebundene Steroidmoleküle wurden durch Inkubation mit 0.5 ml DCC (0.5% Norit A, 0.05% Dextran T400 in PENG-Puffer) über 10 min bei 4°C absorbiert. Nach dem Zentrifugieren (10 min, 4°C, 1.500 x g) wurden 0.5 ml des Überstandes abgezogen und der Radioaktivitätsmessung zugeführt. Die Berechnung der relativen Bindungsaffinitäten (RBA) erfolgte nach Korenman<sup>33)</sup>. a) *Mineralocorticoidrezeptor:* <sup>3</sup>H-Aldosteron diente als Ligand in Gegenwart eines 200-fachen Überschusses an nichtdeutertem R 28362 bei einer Inkubationszeit von 4 h bei 4°C.- b) *Glucocorticoidrezeptor:* <sup>3</sup>H-Dexamethason war der Ligand bei einer Inkubationszeit von 4 h bei 4°C.- c) *Androgenrezeptor:* <sup>3</sup>H-R 1881 fungierte als Ligand in Gegenwart eines 200-fachen Überschusses an nichtdeutertem Triamcinolonacetamid bei einer Inkubationszeit von 4 h bei 4°C.- d) *Progesteronrezeptor:* <sup>3</sup>H-R 5020 war der Ligand bei Inkubation über Nacht bei 4°C.- e) *Estrogenrezeptor:* <sup>3</sup>H-Estradiol diente als Ligand, wobei die Inkubation über Nacht bei 4°C erfolgte. Bei SHBG und CBG diente <sup>3</sup>H-Dihydrotestosteron bzw. <sup>3</sup>H-Cortisol als Referenzsteroid.

**Literatur**

- 1 J.A. Cella, E.A. Brown, R.R. Burtner, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 743-748; J.A. Cella, R.C. Tweit, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1109-1110.

- 2 G. Kuschinsky, H. Lüllmann, *Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 12. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart, **1989**, S. 222-223.
- 3 M. Tramontini, *Synthesis* **1973**, 703-775.
- 4 H. Böhme, K. Hartke, *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 1305-1318.
- 5 G. Kinast, L.F. Tietze, *Angew. Chem.* **1976**, *88*, 261-262.
- 6 A. Michael, *J. Prakt. Chem.* **1887**, *35*, 349-356.
- 7 J.U. Nef, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1894**, *280*, 263-291.
- 8 8a) C. Paal, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 367-371.- 8b) L. Knorr, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 299-311.
- 9 9a) C. Paal, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 2756-2767.- 9b) L. Knorr, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 2863-2870.
- 10 D.W. Clasar, *Synthesis* **1982**, 841-842.
- 11 S. Nametkin, E. Posdnjakova, *J. Russ. Phys. Chem. Soc.* **1913**, *45*, 1420; *Chem. Abstr.* **1913**, *8*, 324.
- 12 H. Shechter, F.T. Williams, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3699-3701.
- 13 J.W. Scheeren, P.H.J. Ooms, R.J.F. Niward, *Synthesis* **1973**, 149-151.
- 14 E. Baltazzi, L.J. Krimen, *Chem. Rev.* **1963**, 511-556.
- 15 G. Nowlin, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 5754-5756.
- 16 N.R. El-Rayes, N.A. Al-Awadi, *Synthesis* **1985**, 1028-1041.
- 17 P. Grünanger, P. Vita-Finzi in *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, Vol. 49, Part 1 (Hrsg.: E.C. Taylor), John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, **1991**, S. 461-467.
- 18 R.H. Mazur, *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 248-250.
- 19 C. Camoutsis, P. Catsoulacos, *J. Heterocycl. Chem.* **1983**, *20*, 1093-1094.
- 20 R. Zimmermann, D. Brähler, H. Hötze, *Angew. Chem.* **1960**, *72*, 78.
- 21 A. Hantzsch, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1882**, *215*, 1-82.
- 22 U. Eisner, J. Kuthan, *Chem. Rev.* **1972**, *72*, 1-42.
- 23 A.H. Cook, J.M. Heilbron, L. Steger, *J. Chem. Soc.* **1943**, 413-417.
- 24 24a) H.-H. Otto, O. Rinus, H. Schmelz, *Monatsh. Chem.* **1979**, *110*, 115-119.- 24b) J.L. Soto, C. Seoane, *An. Quim. Ser. C* **1980**, *76*, 281-285; *Chem. Abstr.* **1981**, *94*, 192085.- 24c) M.M. Al-Arab, H.D. Tabba, B.S. Ghanem, M.M. Olmstead, *Synthesis* **1987**, 1157-1159.- 24d) M.M. Al-Arab, *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26*, 1665-1673.- 24e) P. Victory, J.I. Borrell, A. Vidal-Ferran, C. Seoane, J.L. Soto, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5375-5378.
- 25 K. Eichinger, P. Nussbauer, S. Balkan, G. Schulz, *Synthesis* **1987**, 1061-1066.
- 26 C. Dreser, *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* **1894**, *232*, 183-186.
- 27 W.S. Rapson, R. Robinson, *J. Chem. Soc.* **1935**, 1285-1288.
- 28 R.E. Gawley, *Synthesis* **1976**, 777-794.
- 29 M.E. Jung, *Tetrahedron* **1976**, *32*, 3-31.
- 30 C. Mannich, W. Koch, F. Borkowsky, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1937**, *70*, 355-359.
- 31 R.B. Woodward, *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, *63*, 1123-1126.
- 32 M.M. Bradford, *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248-254.
- 33 S.G. Korenman, *Endocrinology* **1970**, *87*, 1119-1123. [Ph259]