

Mikrobiologische Umwandlungen nichtsteroider Strukturen, VIII ¹⁾**Mikrobiologische Umwandlungen von (±)-8-Hydroxy-6α,11α-dimethyl-3-alkyl- oder -3-acyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocinen***Hans-Jörg Vidic, Georg-Alexander Hoyer und Klaus Kieslich**

Forschungslaboratorien der Schering AG, Berlin/Bergkamen,
Max-Dohrn-Straße, D-1000 Berlin 10

Eingegangen am 31. Oktober 1975

(±)-8-Hydroxy-6α,11α-dimethyl-3-(3-methylbutyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (1) wird mikrobiologisch zur 3'-Hydroxyverbindung (2) umgewandelt. Das *N*-Benzoylderivat (8) der entsprechenden 3-Desalkylverbindung wird durch unterschiedliche Fungi in 1α-Stellung (9) hydroxyliert. Die Hydroxylierung der 4- und 4'-Stellung (11, 12), die Oxidation zu einer 3-(3,4-Epoxy-1,7-cyclohexadiencarbonyl)-Struktur (13) und die Bildung eines 8-Pentosylglycosids (10) treten als Nebenreaktionen auf. Bei der Fermentation des *N*-Cyclohexylcarbonyl-Derivates (14) entstehen Hydroxylierungsprodukte des Cyclohexylrestes in den axialen 3'- und 4'-Positionen (15 und 17) und in der äquatorialen 4'-Position (16).

Microbiological Transformations of Nonsteroidal Structures, VIII ¹⁾**Microbiological Transformations of (±)-8-Hydroxy-6α,11α-dimethyl-3-alkyl- or -3-acyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocins**

(±)-8-Hydroxy-6α,11α-dimethyl-3-(3-methylbutyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (1) is transformed microbiologically to the 3'-hydroxy-compound (2). The *N*-benzoate of the corresponding 3-desalkyl-compound is hydroxylated by several fungi in 1α-position (9). The hydroxylation of the 4- and 4'-position (11, 12), the oxidation to a 3-(3,4-epoxy-1,5-cyclohexadiene-carbonyl) structure (13) and the formation of a 8-pentosyl glycoside (10) are sidereactions. The fermentation of the *N*-cyclohexylcarbonyl derivative (14) leads to hydroxylations of the cyclohexylring in the axial 3'- and 4'- (15 and 17) and in the equatorial 4'-position (16).

3-Alkyl-8-hydroxy-6α,11α-dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocine ²⁾, die auch als *N*-alkyl-substituierte 5,9-Dimethyl-2'-hydroxy-6,7-benzomorphone bezeichnet werden ³⁾, besitzen starke analgetische Eigenschaften bei gesenkter Suchterregung. Zur weiteren Verminderung dieser unerwünschten Begleitaktivität wurde eine Vielzahl unterschiedlicher Derivate (und Abkömmlinge) auf chemischem Wege hergestellt.

In Erweiterung der Methodik versuchten wir, durch mikrobiologische Umwandlungen einiger *N*-alkyl- und *N*-acyl-substituierter 8-Hydroxy-6α,11α-dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexa-

¹⁾ VII. Mitteil.: K. Kieslich, H.-J. Vidic, K. Petzoldt und G.-A. Hoyer, Chem. Ber. 109, 2259 (1976).

²⁾ *Sterling Drug*, Belg. Pat. 611000 (30. Mai 1962) [C. A. 58, 2439c (1963)].

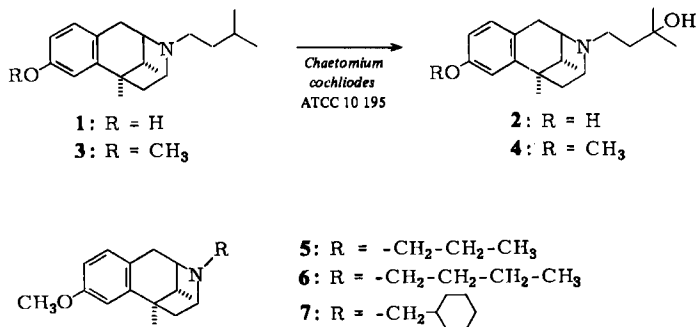
³⁾ S. Archer, N. F. Albertson, L. S. Harris, A. K. Pierson und J. G. Bird, J. Med. Chem. 7, 123 (1964).

hydro-2,6-methano-3-benzazocine neue Hydroxylverbindungen dieser Strukturklasse zu erhalten.

Entgegen unseren Erwartungen wurde das zunächst eingesetzte 3-Methyl-2-butenyl-Derivat (Generic name Pentazocin) von einer größeren Anzahl von Mikroorganismen nicht angegriffen oder ohne verwertbare Akkumulation von Intermediärprodukten vollständig abgebaut.

Überraschenderweise wurde die analoge Verbindung mit hydriertem *N*-Alkyl-Substituenten, das *N*-3-Methylbutyl-Derivat **1** von *Chaetomium cochliodes* ATCC 10 195 monohydroxyliert. Die Hydroxylgruppe wurde in Ausbeuten bis zu 40% in die tertiäre 3'-Stellung des Isopentylrestes zu **2** eingeführt. Analog verläuft die Hydroxylierung des 8-Methyläthers **3** als Substrat zu dem entsprechenden 3'-Hydroxyprodukt **4**. Die Stellung der Hydroxygruppe ergibt sich einmal aus dem NMR-Spektrum durch das Erscheinen eines 6-Protonensingulets bei $\delta \approx 1.14$ ppm – es ist keine vicinale Kopplung mehr vorhanden – und zum anderen durch Abspaltung eines $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\dot{\text{O}}\text{H}$ -Radikals sowie Bildung eines Bruchstücks der Masse 59, $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\dot{\text{O}}\text{H}$ im Massenspektrum.

Das Umwandlungsprodukt **4** ist auch auf chemischem Weg zugänglich⁴⁾. Die *N*-Alkylsubstituenten *n*-Propyl(**5**), *n*-Butyl(**6**) und Cyclohexylmethyl(**7**) wurden mikrobiologisch nicht angegriffen.



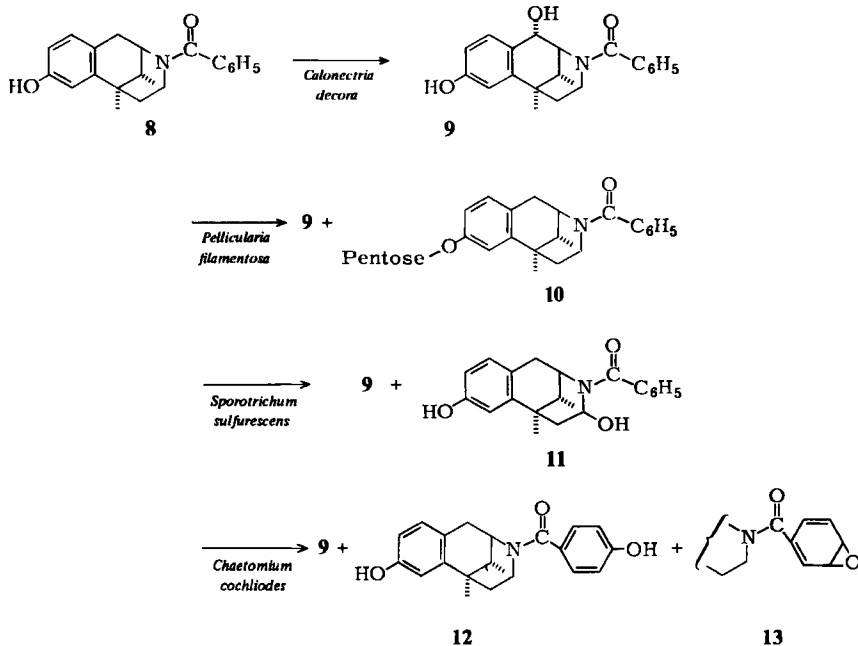
In eingehenden Untersuchungen wurde von Johnson und Mitarbb.⁵⁾ gefunden, daß Hydroxylierungen unterschiedlicher Aza-cycloalkyl-Verbindungen bei Einsatz der *N*-Acyl-Derivate stattfinden. In Übertragung dieses Prinzips einer begünstigten Substratfixierung am Enzym durch die elektronenreiche Carbonylgruppe eines Amids auf das vorliegende 8-Hydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin wurde das *N*-Benzoylderivat **8** untersucht. Im Gegensatz zur schwer angreifbaren unsubstituierten >NH-Verbindung wurde das Substrat **8** von mehreren Fungi umgewandelt.

Pellicularia filamentosa (ATCC 13 289) und *Calonectria decora* (ATCC 14 767) bilden in Ausbeuten von 10 bis 25% ein Umwandlungsprodukt, dessen Struktur als 1 α -Hydroxyverbindung **9** aufgeklärt wurde. Der erste Stamm liefert als Nebenprodukt ein Glycosid **10** der phenolischen Hydroxylgruppe, dessen Zuckerkomponente eine nicht näher bestimmte

⁴⁾ Sterling Drug (Erf. N. F. Albertson, D. Rosi und A. J. Merola), US-Pat. 3 639 410 (26. Juli 1968), Seitenkettenhydroxyl. [C. A. **76**, 113 101 w (1972)].

⁵⁾ R. A. Johnson, M. E. Herr, H. C. Murray und L. M. Reineke, J. Amer. Chem. Soc. **93**, 4880 (1971), und vorhergehende Arbeiten.

Pentose ist. Benzomorphone mit einer 1 β -Hydroxylgruppe sind dagegen bereits bekannt, aber bisher nur auf vergleichsweise ungünstigerem chemischen Weg über die oxidative Einführung einer 1-Ketogruppe mit anschließender Reduktion zugänglich⁶⁾.



Die mikrobiologische 1 α -Hydroxylierung wurde auch mit *Sporotrichum sulfurescens* ATCC 7159 erzielt, begleitet von einer 4 β -Hydroxylierung zu **11**. Schließlich ergab auch die Fermentation mit *Chaetomium cochlioides* ATCC 10 195 zu 1 % die 1 α -Hydroxy-Verbindung **9**; dabei wurden zwei weitere Produkte isoliert, die einen Angriff auf den Phenylring des Benzoylteiles aufweisen. Die eine Verbindung **12** besitzt eine 4'-Hydroxygruppe, während die andere wahrscheinlich eine 3',4'-Dihydro-3',4'-epoxy-Konstitution **13** besitzt. **13** kann als Intermediärprodukt des hydroxylierten Aromaten **12** aufgefaßt werden, obwohl eine Epoxidzwischenstruktur nur selten beschrieben ist und zu vicinalen Dihydroxyverbindungen führt⁷⁾.

Die Verbindung **9** besitzt nach dem massenspektrometrisch bestimmten Molekulargewicht eine Hydroxygruppe mehr als die Ausgangsverbindung **8**. Diese Hydroxygruppe muß in 1 α -Stellung angeordnet sein, weil 1. das 10-H um 0.33 ppm im NMR paramagnetisch verschoben ist, 2. die Kopplung $J_{1,2}$ höchstens 1 Hz beträgt (bei 1 β -OH $J_{1,2}$ = 6 Hz; bei 1 α -OH $J_{1,2}$ = 1 Hz⁸⁾) und 3. die 11 α -Methylgruppe um 0.12 ppm zu tiefem Feld verschoben wird, was eine räumliche Nachbarschaft zwischen 11 α -CH₃ und 1 α -OH voraussetzt⁹⁾.

⁶⁾ Sterling Drug, DOS 2127819 (13. Jan. 1972), 1 Keto \rightarrow 1 β -OH [C. A. 76, 113099b (1972)].

⁷⁾ E. Griffiths und W. C. Evans, Biochem. J. **95**, 51 P (1965).

⁸⁾ W. F. Michne und N. F. Albertson, J. Med. Chem. **15**, 1278 (1972); J. J. Fauley und J. B. La Pidus, ebenda **16**, 181 (1973).

⁹⁾ R. F. Zürcher, Helv. Chim. Acta **46**, 2054 (1963).

Auch **11** hat gegenüber der Ausgangsverbindung **8** eine zusätzliche Hydroxygruppe, wie die massenspektrometrische Untersuchung ergibt. Das Fragment m/e 164⁺ ($C_6H_5CONH=CHCH_3 + 1$ O-Atom) zeigt, daß die Hydroxygruppe sich am Phenylrest oder am N-tragenden Bügel befinden muß. Nach dem NMR-Spektrum ist der Phenylrest noch unversehrt vorhanden, andererseits erscheint ein schmales Einprotonenmultiplett bei δ 4.77 ppm. Das beweist, daß die Hydroxygruppe geminal zum N und zugleich axial (4 β) stehen muß.

Bei **10** hat eine Glycosidierung stattgefunden. Aus dem Molekülion wird bevorzugt ein Pentoserest $C_5H_8O_4$ abgespalten. Die weitere Fragmentierung gleicht dann der von **8**. Weil im NMR-Spektrum das 1'-H des Zuckers eine Aufspaltung von 7 Hz aufweist, liegt die Pentose wahrscheinlich als β (äquatorial) verknüpfter 6-Ring vor.

12 und **13** enthalten nach dem Massenspektrum ein zusätzliches O-Atom. Im NMR-Spektrum ist deutlich zu erkennen, daß der Phenylrest angegriffen worden ist. **12** besitzt ein charakteristisches AA'BB'-System, das nach seinen chemischen Verschiebungen typisch für eine *p*-Hydroxybenzoyl-Gruppierung ist. Bei **13** dagegen sind überhaupt keine aromatischen Phenylprotonen, sondern nur noch olefinische und epoxidische Protonen vorhanden. Nach Lage und Aufspaltung dieser Protonen ist eine 3,4-Benzoloxid-Struktur wahrscheinlich. NMR-Daten von derartigen Systemen sind schon beschrieben worden¹⁰⁾. Die Übereinstimmung mit unseren Werten ist gut. Das Massenspektrum von **13** ist identisch mit dem von **12**. Das zeigt, daß **13** unter den massenspektrometrischen Aufnahmebedingungen in ein *p*- oder *m*-Hydroxybenzoyl-System umgewandelt wird, was bei der angenommenen Benzoloxid-Struktur zu erwarten ist.

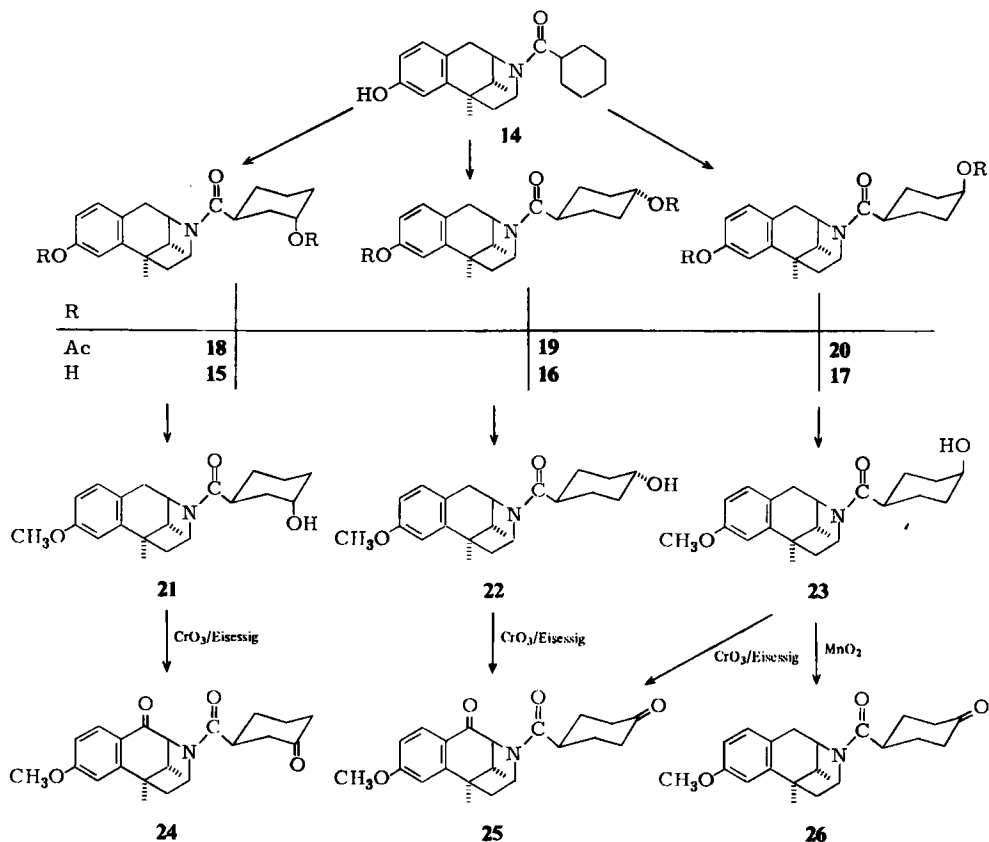
Beim Einsatz der *N*-Cyclohexylcarbonyl-Verbindung **14** an Stelle des *N*-Benzoyl-Derivates **8** wird der zuvor nur als Nebenreaktion beobachtete Angriff auf den *N*-Substituenten zur Hauptreaktionsrichtung unter stark verminderter Bildung von Hydroxylierungsprodukten des Benzomorphan-Grundgerüsts. *Calonectria decora* ATCC 14 767 führte eine axiale Hydroxygruppe in die 3-Stellung des Cyclohexylrestes zu **15** ein. *Chaetomium cochliodes* ATCC 10 195 bildete das gleiche Produkt **15** und hydroxylierte den Cyclohexanring parallel dazu in 4-Stellung sowohl in äquatorialer wie in axialer Position zu **16** bzw. **17**. Das Gemisch der Reaktionsprodukte wurde über deren Diacetate **18**, **19** und **20** aufgetrennt und ergab erst bei Rückverseifung die reinen Verbindungen **15**, **16** und **17**.

Zur Struktursicherung wurden die Hydroxy-Verbindungen **15**, **16** und **17** in die 8-Methyläther **21**, **22** und **23** übergeführt und als Rohprodukte mit Chromtrioxid in Eisessig oxidiert. Diese Methode führt neben der Oxidation der freien Hydroxygruppen zusätzlich eine Ketogruppe in 1-Stellung ein⁵⁾, so daß die Diketone **24** und **25** entstanden. Parallel dazu wurde die 4'(ax)-Hydroxyverbindung **23** auch mit MnO_2 zum Monoketon **26** oxidiert.

Aus den massenspektrometrischen Fragmentierungen (s. Versuchsteil), besonders der Abspaltung des substituierten Cyclohexylcarbonyl-Restes, geht klar hervor, daß die mikrobiologische Hydroxylierung jeweils nur am Cyclohexanring stattgefunden hat. Die Konfiguration der eingeführten Hydroxygruppe ergibt sich auf der Stufe der Hydroxyverbindungen (**15**) oder der Acetoxy-Derivate (**18**–**20**) anhand der Halbwertsbreiten der

¹⁰⁾ E. Vogel und H. Günther, Angew. Chem. **79**, 429 (1967); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **6**, 385 (1967).

NMR-Signale der geminal dazu angeordneten Protonen. Die Position der Hydroxygruppe am Cyclohexanring kann über die Diketone **24** und **25** bestimmt werden. Zum einen führen **19** und **20** zum gleichen Diketon **25**, was aus der Identität der IR- und NMR-Spektren folgt, während **18** ein anderes Diketon **24** bildet.



Eine Ketogruppe in 2'-Stellung scheidet aus, weil ein $\text{OC}-\text{CH}-\text{CO}-$ oder ein $\text{OC}-\text{C}=\text{C}-\text{OH}$ -System weder NMR- noch UV-spektroskopisch nachzuweisen ist. Die UV-Spektren der Diketone **24** und **25** sind einander sowohl im neutralen als auch im alkalischen Milieu gleich. Andererseits erscheint bei **24** ein deutlich abgesetztes 2-Protonendublett mit einer Aufspaltung $J' = 9 \text{ Hz}$ bei $\delta 2.66 \text{ ppm}$. Dieses Erscheinungsbild ist nur mit einem 3'-Keton vereinbar. Die beiden Protonen 2'-H sind zufällig magnetisch äquivalent und werden durch das 1'-H zu einem Dublett mit einer gemittelten Kopplung $J' = \frac{1}{2}(J_{1,2\text{ax}} + J_{1,2\text{eq}})$ gemäß den Regeln der „deceptive simplicity“ bei ABX-Systemen aufgespalten¹¹⁾. Das Diketon **25** zeigt nur ab $\delta 2.60 \text{ ppm}$ zu hohem Feld einen breiten Mehrprotonenberg. Einen Hinweis in die gleiche Richtung liefern auch die Massen-

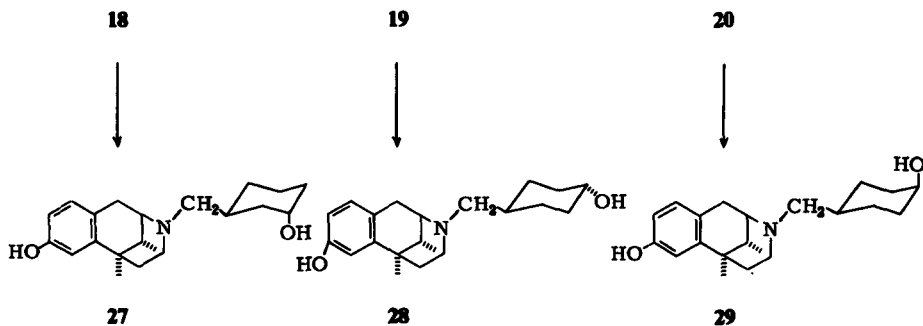
¹¹⁾ R. A. Spragg, Deceptive Simplicity and Virtual Coupling, Perkin-Elmer NMR Quarterly, Nr. 8, Juni 1973.

spektren. Während **24** stark bevorzugt eine Propylabspaltung aus dem Molekülion erleidet, verliert **25** 28 (CO und/oder C_2H_4) und 56 (CO + C_2H_4) Masseneinheiten. Nach dem Fragmentierungsmuster des Cyclohexanons¹²⁾ ist die Propylabspaltung beim 3'-Keton und die Eliminierung von 28 sowie 56 Masseneinheiten beim 4'-Keton zu erwarten. Das 3'-Keton **24** zeigt außerdem als Basispeak ein Acetylion (m/e 43), das offenbar sehr leicht nach der Übertragung eines Protons aus dem Rest des Moleküls gebildet wird. Zur weiteren Absicherung haben wir die Diketone **24** und **25** mit 10proz. DCl/ D_3PO_4 -Lösung in D_2O/CH_3OD 24 h unter Rückfluß deuteriert¹³⁾. In **24** wurden 3H und in **25** nur 2H ausgetauscht. Offenbar reagieren die CH_2 -Gruppen neben der Carbonylfunktion unterschiedlich. Im Massenspektrum von deuteriertem **24** wird der Peak der Masse 300 ($M^+ - C_4H_5O$) zu 302 verschoben, während beim deuterierten **25** das Ion der Masse 300 seine Lage unverändert beibehält. Dieser Befund beweist, daß **24** eine 3-Oxocyclohexylcarbonylgruppe besitzen muß, weil eine zur Ketogruppe benachbarte CH_2 -Gruppe in dem durch Abspaltung eines C_4 -Bruchstücks entstandenen Fragment enthalten ist. Demzufolge muß **25** die entsprechende 4-Ketoverbindung sein.

Die Position der Hydroxygruppe am Cyclohexanring kann auch auf der Stufe der Hydroxyderivate **15** und **17** bestimmt werden. Im Massenspektrum der Ausgangsverbindung **14** tritt ein Ion der Masse 271 auf, das nach Hochauflösung dem Verlust von C_4H_8 entspricht. Dieses Spaltstück kann nur aus dem Cyclohexylrest stammen. Im Massenspektrum von **15** ist ein Ion gleicher Masse vorhanden, besitzt aber im Vergleich zu dem von **14** erheblich höhere Intensität. Es entspricht dem Verlust von C_4H_8O . Im Massenspektrum von **17** (hergestellt als Mikroprobe durch Verseifen von **20** mit 10proz. methanol. NaOH) erscheint ein Peak der Masse 271 nur ganz schwach. Eine 3-Hydroxygruppe am Cyclohexanring sollte das bei der genannten Spaltung entstehende Radikal besser stabilisieren als eine 4-Hydroxygruppe oder überhaupt keine Hydroxygruppe und somit die Spalttendenz erhöhen.

Beim Monoketon **26** fehlt die 1-Ketogruppe, denn man findet keine Ketobande bei 1680 cm^{-1} im IR- und keine paramagnetische Verschiebung von 10-H im NMR-Spektrum.

N-Acyl-8-hydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocine sind häufig weniger wirksam als analoge *N*-Alkyl-Verbindungen. Deshalb wurden die erhaltenen hydroxylierten Cyclohexylcarbonyl-Verbindungen **15**, **16** und **17** in die ent-



¹²⁾ H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, Mass Spectrometry of Organic Compounds, S. 143ff., Holden-Day, Inc., San Francisco, Cambridge, London, Amsterdam 1967.

¹³⁾ J. Seibl und T. Gäumann, Helv. Chim. Acta **46**, 2857 (1963).

sprechenden Cyclohexylmethyl-Verbindungen **27**, **28** und **29** übergeführt. Dazu wurden die Diacetate **18**, **19** und **20** mit Lithiumaluminiumhydrid reduziert.

Bei allen drei Verbindungen **27**, **28** und **29** sind im IR-Spektrum keine Carbonylbanden, sondern nur noch starke HO-Banden bei 3320 cm^{-1} vorhanden. Das zeigt die erfolgreiche Reduktion der Amidgruppierung und die hydrierende Abspaltung der Acetoxygruppen an.

Wir danken Herrn Dr. D. Rahtz für wichtige Strukturhinweise und Diskussionen und Herrn Prof. Dr. G. Spiteller für wertvolle Anregungen und Hilfen. Fräulein E. Grunert sowie die Herren G. Ast und M. Margraf haben uns bei den präparativen Arbeiten unterstützt.

Experimenteller Teil

Die verwendeten Meß- und Arbeitsgeräte sowie die allgemein angewandten analytischen Methoden wurden bereits in der vorhergehenden Mitteilung¹⁾ beschrieben. Für die zusätzlich angewandte Gaschromatographie wurde ein Hewlett-Packard 5750 mit Trennsäule 50 cm mit Füllung Chromosorb W mit 10% UCC-W-982 (250°C) mit FID und Stickstoff-Detektor benutzt. Bei den MS-Daten werden nur die charakteristischen Fragment-Ionen mit einer Erklärung ihrer Entstehung angegeben. Die Basispeaks sind jeweils kursiv gedruckt. Wenn bei den Fragmentionen Bruttoformeln angegeben sind, wurden diese durch Hochauflösung mit einem Varian MAT 731 bei 70 eV ermittelt.

Analytische Untersuchungen zur Auswahl geeigneter Mikroorganismen

Für die Prüfung eines Stammes wurde ein 100-ml-Erlenmeyerkolben mit 20 ml Nährlösung aus 3.0% Glucose, 0.1% KH_2PO_4 , 0.2% K_2HPO_4 , 1% Cornsteep liquor, 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2% NaNO_3 , 0.002% FeSO_4 und 0.05% KCl beschickt, bei 120°C 30 min sterilisiert und nach dem Erkalten mit einer Sporensuspension beimpft, die durch Abschwemmen einer 1 bis 2 Wochen alten Schrägagarkultur mit physiologischer NaCl-Lösung erhalten wurde. Der Kolben wurde 72 h bei 30°C und 145 U/min auf einem Rotationsschüttler bewegt. Danach wurden je 2 ml der Kultur in je einen 100-ml-Erlenmeyerkolben mit 20 ml des gleichen Mediums unter sterilen Bedingungen übergeführt und weiter geschüttelt. Pro Stamm wurden jeweils 3 bis 4 Schüttelkolben angelegt. Nach 6 h wurden jeweils 4 mg Substrat – gelöst in 0.2 ml Dimethylformamid – zugesetzt und 24, 48 und 94 h, in Ausnahmen auch 160 h, fermentiert. Danach wurden pro Kolben ca. 200 bis 400 mg Kaliumcarbonat oder bei N-Acyl-Substraten 0.5 ml 2 N HCl und 4 ml Isobutylmethylketon zugegeben, ausgeschüttelt, gegebenenfalls Emulsionen durch Zentrifugieren zerstört und 20 µl des Extraktes auf Kieselgel-Fertigplatten (Merck Kieselgel GF 254) aufgetragen. Die Dünnschichtplatten wurden in den Systemen 1. Chloroform/Methanol (95 + 5), 2. Chloroform/Methanol (90 + 10), 3. Hexan/Aceton (1 + 1) oder 4. Chloroform/Methanol/Eisessig (80 + 20 + 1) aufsteigend entwickelt. Die Substanzflecken wurden durch Chlorgas und Ansprühen mit Tolidin-Reagenz sichtbar gemacht.

(±)-8-Hydroxy-3-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-6α,11α-dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (**2**): Zwei 2-Liter-Erlenmeyerkolben wurden mit je 500 ml einer Nährlösung, bestehend aus 3.0% Glucose, 1% Cornsteep-liquor, 0.1% KH_2PO_4 , 0.2% K_2HPO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2% NaNO_3 , 0.002% FeSO_4 und 0.05% KCl, beschickt, bei 120°C 30 min sterilisiert und nach dem Erkalten mit einer Sporensuspension beimpft, die durch Abschwemmen einer ein bis zwei Wochen auf Schrägagar gewachsenen Kultur von *Chaetomium cochliodes* ATCC 10195 mit physiologischer Kochsalzlösung erhalten wurde. Nach dreitägigem Wachstum auf einem Rotationsschüttler bei 30°C und 145 U/min wurde die Mycelsuspension als Inoculum für die Beimpfung eines 20-Liter-Glasfermenters verwendet, der mit 15 Liter eines sterilisierten Mediums der gleichen Zusammensetzung beschickt worden war. Die Germination wurde bei 29°C, einer Belüftung von 15 Liter/min und einer Rührgeschwindigkeit von 220 U/min durchgeführt, unter

gelegentlicher Zugabe von Silicon SH als Antischaummittel. Nach einer Anwachszeit von 12 h wurde eine sterilfiltrierte Lösung von 3 g (\pm)-8-Hydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-3-(3-methylbutyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (1) in 150 ml Dimethylformamid zugesetzt. Die Umwandlung wurde durch Entnahme von Intervallproben kontrolliert, die mit Isobutylmethylketon extrahiert und durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel-Platten (System 4) und nach Chlorbehandlung der Platte durch Ansprühen mit Tolidinreagenz analysiert wurden. Das Ausgangsmaterial (R_F 0.51) war nach 83 h bis auf 10% umgewandelt zu einem Hauptprodukt (R_F 0.30). Der Fermenter wurde nach Einstellen des pH-Wertes auf 8.0 mit Kaliumcarbonat geerntet, indem das Mycel unter Zusatz von Celite abfiltriert und mit Isobutylmethylketon nachgewaschen und das Kulturfiltrat dreimal mit Isobutylmethylketon extrahiert wurde. Die vereinigten Extrakte wurden im Umlaufverdampfer bei 30°C i. Vak. auf ca. 1 Liter konzentriert und im Rotationsverdampfer bei 40–50°C zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wurde zweimal mit je 100 ml Hexan von anhaftendem Siliconöl gewaschen. Das verbleibende Rohprodukt (3.5 g) chromatographierte man über 150 g Kieselgel mit einem Lösungsmittelgradienten aus A) 3 Liter Chloroform/Eisessig (99 + 1) und B) 3 Liter Chloroform/Eisessig/Methanol (79 + 1 + 20). Nach zwei größeren Vorfraktionen, die restliches unumgewandeltes Ausgangsmaterial, Biosyntheseprodukte und andere Umwandlungsprodukte enthielten, isolierte man aus den Folgefraktionen 1.3 g des Hauptmetaboliten (\pm)-2. Eine Probe von 300 mg wurde in Äthanol in das Perchlorat übergeführt und dieses aus Aceton/Hexan umkristallisiert.

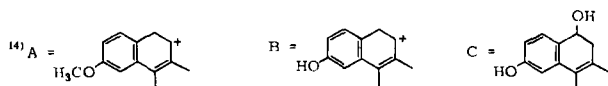
(\pm)-2-Perchlorat, Schmp. 150°C. – IR (KBr): 3400, 3120 (HO), 2750–2400 (NH^\oplus), 1610, 1580, 1500 (C=C), 1170–1030 und 630 cm^{-1} (ClO_4^\ominus). – NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.81 (d, J = 7.0 Hz, 3 H, 11 α -CH₃), 1.16 (s, 6 H, (CH₃)₂C–O), 1.32 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 6.59 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1 H, 9-H), 6.65 (m, $W_{1/2}$ = 4 Hz, 1 H, 7-H), 6.96 ppm (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 10-H).

(\pm)-3-(3-Hydroxy-3-methylbutyl)-8-methoxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (4): Unter den Bedingungen des vorstehenden Beispiels wurden in zehn 2-Liter-Schüttelkolben anstatt des 20-Liter-Versuchsfermenters insgesamt 1 g (\pm)-8-Methoxy-6 α ,11 α -dimethyl-3-(3-methylbutyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (3) in 50 ml Dimethylformamid mit *Chaetomium cochliodes* ATCC 10 195 fermentiert. Nach 108 h Kontaktzeit wurden bei gaschromatographischer Analytik (Einspritzen des Isobutylmethylketon-Probenextraktes) nur noch geringe Anteile an unumgewandelten Ausgangsmaterials beobachtet und ca. 50% eines Hauptreaktionsproduktes. Die Aufarbeitung ergab jedoch nur 153 mg Rohprodukt, welches über präparative Dünnschichtchromatographie an Aluminiumoxid gereinigt wurde: 30 mg (\pm)-4.

UV (Methanol): λ_{max} (ϵ) 227 (8020), 280 (2140), 287 nm (1940). – IR (Film): 3230 (HO), 1610, 1575, 1500 cm^{-1} (C=C). – NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.76 (d, J = 7.0 Hz, 3 H, 11 α -CH₃), 1.11 (s, 6 H, (CH₃)₂C–O), 1.30 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 3.70 (s, 3 H, OCH₃), 6.64 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1 H, 9-H), 6.70 (m, $W_{1/2}$ = 4 Hz, 1 H, 7-H), 6.97 ppm (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 10-H). – MS: m/e 317 (M^+), 302 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$), 258 ($\text{M}^+ - (\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}-\text{OH}$), 244 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)_2$), 187 (A^{14}), 186, 59 ($(\text{CH}_3)_2\text{C}=\dot{\text{O}}\text{H}$), 58 (H_3CCOCH_3).

Umwandlung von (\pm)-3-Benzoyl-8-hydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (8)

a) Mit *Pellicularia filamentosa* (ATCC 13 289): Unter den Bedingungen des ersten Beispiels wurden 3 g 8 in einem 20-Liter-Glasfermenter mit *Pellicularia filamentosa* (ATCC 13 289) in 36 h Kontaktzeit umgewandelt. In der Fermenterbrühe wurden 25% eines Hauptproduktes (R_F 0.38)



und 10% eines Nebenproduktes (R_F 0.15) dünnschichtanalytisch nachgewiesen (System $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 95 + 5$). Das nach Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde über Kieselgel mit einer Gradientenelution Hexan/Hexan + Aceton (1 + 1) aufgetrennt. Hauptprodukt (682 mg) und Nebenprodukt (282 mg) wurden durch präp. Dünnschichtchromatographie mehrmals weiter gereinigt: 80 mg (\pm)-3-Benzoyl-1 α ,8-dihydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (9), Schmp. 191°C (aus Dichlormethan/Isopropyläther). — UV (Methanol): λ_{max} (e) 230 (15200), 275 (2090), 283 nm (1740). — IR (KBr): 3260 (HO), 1610 (C=O), 1610, 1580, 1500 cm^{-1} (C=C). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.91 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H, 11 α -CH₃), 1.34 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 4.45 (s, 1 H, 1 β -H), 4.89 (d, $J = 3.0$ Hz, 1 H, 2-H), 6.65 (m, $W_{1/2} = 10$ Hz, 2 H, 7-H u. 9-H), 7.23 (d, $J = 9$ Hz, 1 H, 10-H), 7.39 ppm (s, 5 H, Phenyl). — MS: m/e 337 (M^+), 319 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 232 ($\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$), 214 ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{NO}$; 319 — $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$), 190 ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$; C^{14}), 172 ($\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}$; 190 — H_2O), 149 ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}$), 148 ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{NO}$; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CON}^+ = \text{CHCH}_3$), 105 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$), 77 (Phenyl), 51 (77 — $\text{HC}\equiv\text{CH}$).

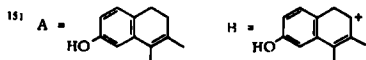
84 mg (\pm)-3-Benzoyl-6 α ,11 α -dimethyl-8-pentasyloxy-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (10). — IR (KBr): 3400 (HO), 1610 (C=O), 1610, 1575, 1500 (C=C), 1120–1040 cm^{-1} (C—O). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.77 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H, 11 α -CH₃), 1.35 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 2.95 bis 3.90 (m, CH—N und CH—O), 4.81 (d, $J = 7$ Hz, 1 H, 1'-H), 6.81 (dd, $J = 8.0$ und 2.5 Hz, 1 H, 9-H), 6.87 (m, $W_{1/2} = 4$ Hz, 1 H, 7-H), 7.01 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 10-H), 7.35 ppm (m, $W_{1/2} = 8$ Hz, 5 H, Phenyl). — MS: m/e 453 (M^+), 435 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 321 ($\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_8\text{O}_4$), 306 (321 — CH_3), 173 (B^{14}), 172, 149, 148 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CON}^+ = \text{CHCH}_3$), 105 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$), 77 (Phenyl), 51 (77 — $\text{HC}\equiv\text{CH}$).

b) Mit *Calonectria decora* ATCC 14 767: Unter gleichen Bedingungen entstanden mit *Calonectria decora* ATCC 14 767 bei unvollständiger Umwandlung nach 124 h Kontaktzeit 10 bis 20% der 1 α -Hydroxyverbindung 9 als einziges Umwandlungsprodukt.

c) Mit *Sporotrichum sulfurescens* ATCC 7159: Unter gleichen Bedingungen wurden 3 g Substrat mit *Sporotrichum sulfurescens* ATCC 7159 fermentiert. Nach 180 h Kontaktzeit waren noch 50% Ausgangsmaterial unumgewandelt und neben 35% der 1 α -Hydroxyverbindung als Hauptmetabolit 5% eines Nebenproduktes (R_F 0.37) (System $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 + 1) entstanden. Durch Chromatographie des Rohproduktes an Kieselgel mit einer Gradientenelution Chloroform/Chloroform + Methanol (60 + 40) wurden 1 g Ausgangsmaterial zurückgewonnen und 250 mg und 109 mg der beiden rohen Reaktionsprodukte erhalten, die durch präp. Dünnschichtchromatographie im System $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95 + 5) bzw. Benzol/Essigester (1 + 1) weiter gereinigt wurden:

168 mg (5.6%) (\pm)-9 (ölig), nach IR, NMR und MS identisch mit der unter a) beschriebenen Verbindung 9,

und 39 mg (1%) (\pm)-3-Benzoyl-4 β ,8-dihydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (11) (ölig). — UV (Methanol): λ_{max} (e) 217 s (13750), 228 s (11600), 281 (2120), 287 s nm (1920). — IR (KBr): 3380 (HO), 1600 (C=O), 1610, 1575, 1500 cm^{-1} (C=C). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.79 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H, 11 α -CH₃), 1.28 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 4.77 (m, $W_{1/2} = 7$ Hz, 1 H, 4 α -H), 6.56 (dd, $J = 8.0$ und 2.5 Hz, 1 H, 9-H), 6.68 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H, 7-H), 6.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 10-H), 7.38 ppm (s, 5 H, Phenyl). — MS: m/e 337 (M^+), 308 ($\text{M}^+ - \text{CHO}$), 174 (A^{15}), 165, 164 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CON}^+ = \text{C}(\text{OH})-\text{CH}_3$), 159 (174 — CH_3), 122 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2\text{H}$), 105 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$), 77 (Phenyl), 51 (77 — $\text{HC}\equiv\text{CH}$).



d) Mit *Chaetomium cochliodes* ATCC 10 195: Unter gleichen Bedingungen wurden 3 g Substrat mit *Chaetomium cochliodes* ATCC 10 195 fermentiert. Nach 146 h Kontaktzeit waren noch 60 bis 70 % Ausgangsmaterial unumgewandelt und neben geringen Anteilen von Nebenprodukten drei Reaktionsprodukte entstanden zu 10 % (R_F 0.52), 5 % (R_F 0.39) und 5 % (R_F 0.29) (System Chloroform/Methanol 9 + 1).

Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde an Kieselgel mit einer Gradientenelution Chloroform/Chloroform + Methanol (95 + 5) chromatographiert. Neben 1.97 g Ausgangsmaterial wurden folgende ölige Produkte gewonnen, die durch präp. Dünnschichtchromatographie (System: Benzol/Essigester 1 + 1) weiter gereinigt wurden:

60 mg (1 %) (\pm)-9, nach IR, NMR und MS identisch mit der unter a) beschriebenen Verbindung 9,

24 mg (0.8 %) (\pm)-8-Hydroxy-3-(4-hydroxybenzoyl)-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (12). — UV (Methanol): λ_{\max} (ϵ) 225 (14500), 245 (9110), 274 (4720), 283 nm (3700). — IR (KBr): 3280 (HO), 1600 (C=O), 1610, 1575, 1515, 1500 (C=C), 840 cm^{-1} (=C—H). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.77 (d, J = 7.0 Hz, 3H, 11 α -CH₃), 1.31 (s, 3H, 6 α -CH₃), 6.56 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1H, 9-H), 6.67 (m, $W_{1/2}$ = 4 Hz, 1H, 7-H), 6.89 (d, J = 8.0 Hz, 1H, 10-H), 6.77 und 7.21 ppm (AA'BB'-System, J' = 9 Hz, 4H, *p*-HOC₆H₄CO). — MS: m/e 337 (M^+), 322 ($M^+ - \text{CH}_3$), 216 ($M^+ - \text{HOC}_6\text{H}_4\text{CO}$), 173 (B^{15}), 172, 165, 164 (HOC₆H₄CON⁺=CHCH₃), 121 (HOC₆H₄CO), 93 (HOC₆H₄), 65 (93 — CO),

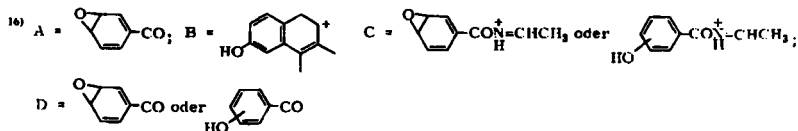
und 96 mg (3 %) (\pm)-3-(3,4-Epoxy-1,5-cyclohexadiencarbonyl)-8-hydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (13). — UV (Methanol): λ_{\max} (ϵ) 219 s (11100), 226 s (9220), 276 (3910), 287 s nm (3030). — IR (KBr): 3360 (HO), 1600 (C=O), 1610, 1580, 1500 (C=C), 750 cm^{-1} (=C—H). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.82 (d, J = 7.0 Hz, 3H, 11 α -CH₃), 1.33 (s, 3H, 6 α -CH₃), 4.29 (s, 2H, —CH—CH—), 5.80 und 5.92 (AB-System, J = 10.0 Hz, 2H, —CH=CH—),

5.84 (s, 1H, =CH—), 6.58 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1H, 9-H), 6.70 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 6.88 ppm (d, J = 8.0 Hz, 1H, 10-H). — MS: m/e 337 (M^+), 322 ($M^+ - \text{CH}_3$), 216 ($M^+ - A^{16}$), 173 (B^{16}), 172, 165, 164 (C^{16}), 121 (D^{16}), 93 (121 — CO), 65 (93 — CO).

Umwandlung von (\pm)-3-Cyclohexylcarbonyl-8-hydroxy-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (14)

a) Mit *Calonectria decora* ATCC 14 767: In zehn 2-Liter-Erlenmeyerkolben mit einer Gesamtfüllung von 5 Liter Nährlösung wurde 1 g Substrat mit *Calonectria decora* ATCC 14 767 fermentiert. Nach 63 h Kontaktzeit war das Ausgangsmaterial bis auf 10 % umgewandelt zu 20 % eines Hauptproduktes (R_F 0.26) (System $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95 + 5) und zu Nebenprodukten (R_F 0.05/0.14/0.58) in geringen Mengen. Das erhaltene Rohprodukt von ca. 1 g wurde durch präp. Dünnschichtchromatographie (System $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95 + 5) aufgetrennt, wobei das Hauptprodukt als Öl rein gewonnen wurde:

169 mg (16 %) (\pm)-8-Hydroxy-3-(3(ax)-hydroxycyclohexylcarbonyl)-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (15), $[\alpha]_D = +63^\circ$ (EtOH). — UV (Methanol): λ_{\max} (ϵ) 218 s (12200), 227 s (8840), 281 nm (2220). — IR (KBr): 3340 (HO), 1610 (C=O), 1610, 1585, 1500 cm^{-1} (C=C). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.81 (d, J = 7.0 Hz, 3H, 11 α -CH₃), 1.30 (s, 3H, 6 α -CH₃), 3.95 (m, $W_{1/2}$ = 10 Hz, 1H, 3'-H eq), 6.54 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1H, 9-H), 6.67 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 7-H),



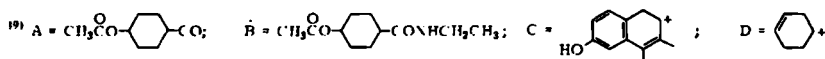
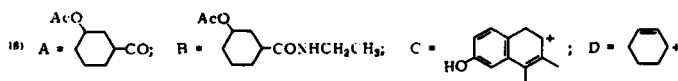
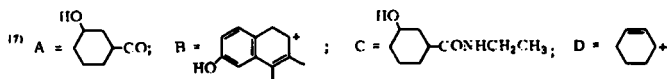
6.84 ppm (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 10-H). — MS: m/e 343 ($C_{21}H_{29}NO_3$; M^+), 271 ($C_{17}H_{21}NO_2$; $M^+ - CH_2CH_2CH_2CHOH$), 216 ($C_{14}H_{18}NO$; $M^+ - A^{17}$), 173 (B^{17}), 172, 171 ($C_9H_{17}NO_2$; C^{17}), 153 (C_6H_5NO ; 171 — H_2O), 82 (C_6H_{10}), 81 (C_6H_9 ; D^{17}).

b) Mit *Chaetomium cochliodes* ATCC 10 195: In einem 50-Liter-Fermenter aus nichtrostendem Stahl mit einem Fassungsvermögen von 30 Liter wurden 5.5 g Substrat mit *Chaetomium cochliodes* ATCC 10 195 fermentiert. Bereits nach 18 h Kontaktzeit war das Ausgangsmaterial vollständig umgewandelt zu drei Reaktionsprodukten (R_F 0.13–0.16) (System Hexan/Aceton 1 + 1) zu jeweils 2 bis 5%. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel mit einer Gradientenelution Hexan/Hexan + Aceton (1 + 1) chromatographisch gereinigt zu 4.437 g Produktgemisch, das mit Acetanhydrid/Pyridin in 17 h bei Raumtemp. acetyliert und durch Säulenchromatographie mit Gradientenelution $CHCl_3 - CHCl_3/MeOH$ (99 + 1) aufgetrennt wurde:

528 mg (\pm)-8-Acetoxy-3-(3(ax)-acetoxy-cyclohexylcarbonyl)-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (18). — UV (Methanol): λ_{max} (e) 261 s (588), 267 (787), 274 nm (787). — IR (KBr): 1760 (aromat. OAc), 1730 (OAc), 1630 (C=O), 1605, 1575, 1490 (C=C), 1240 (OAc), 1205 (aromat. OAc), 1010 cm^{-1} (C—O). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.81 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, 11 α -CH₃), 1.33 (s, 3H, 6 α -CH₃), 2.00 (s, 3H, OCOCH₃), 2.25 (s, 3H, aromat. OCOCH₃), 5.03 (m, $W_{1/2} = 10$ Hz, 1H, 3'-H eq), 6.88 (dd, $J = 8.0$ Hz und 2.5 Hz, 1H, 9-H), 6.99 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 7.12 ppm (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 10-H). — MS: m/e 427 (M^+), 385 ($M^+ - CH_2CO$), 368 ($M^+ - OCOCH_3$), 367 ($M^+ - HOCOCH_3$), 325 ($M^+ - CH_2CO - HOCOCH_3$), 259, 258 ($M^+ - A^{18}$), 216 (258 — CH_2CO), 213 (B^{18}), 173 (C^{18}), 172, 153 (213 — $HOCOCH_3$), 82, 81 (D^{18}), 43 ($H_3CC \equiv O^+$).

406 mg (\pm)-8-Acetoxy-3-(4(ax)-acetoxy-cyclohexylcarbonyl)-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (20). — UV (Methanol): λ_{max} (e) 261 s (610), 267 (805), 274 nm (811). — IR (KBr): 1760 (aromat. OAc), 1730 (OAc), 1636 (C=O), 1610, 1580, 1495 (C=C), 1245 (OAc), 1210 (aromat. OAc), 1035, 1015 cm^{-1} (C—O). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.82 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, 11 α -CH₃), 1.32 (s, 3H, 6 α -CH₃), 1.99 (s, 3H, OCOCH₃), 2.25 (s, 3H, aromat. OCOCH₃), 4.86 (m, $W_{1/2} = 10$ Hz, 1H, 4'-H eq), 6.86 (dd, $J = 8.0$ und 2.5 Hz, 1H, 9-H), 6.98 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 7.10 ppm (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 10-H). — MS: m/e 427 (M^+), 385 ($M^+ - CH_2CO$), 368 ($M^+ - OCOCH_3$), 367 ($M^+ - HOCOCH_3$), 325 ($M^+ - CH_2CO - HOCOCH_3$), 259, 258 ($M^+ - A^{19}$), 216 (258 — CH_2CO), 213 (B^{19}), 173 (C^{19}), 172, 153 (213 — $HOCOCH_3$), 82, 81 (D^{19}), 43 ($H_3CC \equiv O^+$).

143 mg (\pm)-8-Acetoxy-3-(4(eq)-acetoxy-cyclohexylcarbonyl)-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (19). — UV (Methanol): λ_{max} (e) 261 s (621), 267 (819), 274 nm (830). — IR (KBr): 1765 (aromat. OAc), 1730 (OAc), 1635 (C=O), 1605, 1585, 1495 (C=C), 1245 (OAc), 1205 (aromat. OAc), 1040, 1020 cm^{-1} (C—O). — NMR (CD_3SOCD_3): δ 0.82 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, 11 α -CH₃), 1.33 (s, 3H, 6 α -CH₃), 1.98 (s, 3H, OCOCH₃), 2.25 (s, 3H, aromat. OCOCH₃), 4.56 (m, $W_{1/2} = 24$ Hz, 1H, 4'-H ax), 6.86 (dd, $J = 8.0$ und 2.5 Hz, 1H, 9-H), 6.97 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 7.09 ppm (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 10-H). — MS: m/e 427 (M^+), 385 ($M^+ - CH_2CO$), 368



($M^+ - OCOCH_3$), 367 ($M^+ - HOCOCH_3$), 325 ($M^+ - CH_2CO - HOCOCH_3$), 259, 258 ($M^+ - A^{19}$), 216 (258 - CH_2CO), 213 (B^{19}), 173 (C^{19}), 172, 153 (213 - $HOCOCH_3$), 82, 81 (D^{19}), 43 ($H_3CC \equiv O^+$).

Chemische Umwandlung der Diacetate 18, 19 und 20 zu (\pm)-8-Methoxy-6 α ,11 α -dimethyl-3-(3-oxocyclohexylcarbonyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin-1-on (24) bzw. zu (\pm)-8-Methoxy-6 α ,11 α -dimethyl-3-(4-oxocyclohexylcarbonyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin-1-on (25): Ca. 100 mg der Diacetate 18, 19 und 20 wurden jeweils in 2 ml Methanol mit 2 ml 10proz. methanol. NaOH versetzt und 3 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde i. Vak. eingengt, mit 0.2 N HCl angesäuert und mit Isobutylmethylketon extrahiert. Die organische Phase wurde gewaschen, getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Rückstand \approx 100 mg (R_F 0.24–0.26, Dichlormethan/Aceton 1 + 1).

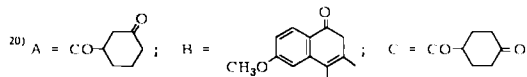
Die Methyläther wurden durch Lösen der Rückstände in ca. 2 ml Methanol und Zufügen einer ätherischen Lösung von Diazomethan im Überschuß dargestellt. Nach 10–20 h wurde i. Vak. eingengt. Rückstand je ca. 100 mg (R_F 0.48–0.53, Dichlormethan/Aceton 1 + 1). Die Rückstände (Methyläther) wurden in je 3 ml Eisessig gelöst. Man gab je 100 mg CrO_3 in 0.2 ml Wasser und 0.8 ml Eisessig zu und ließ 1.5 h bei Raumtemp. stehen. Dann goß man das Gemisch in Kaliumcarbonatlösung und extrahierte mit Isobutylmethylketon. Nach Waschen, Trocknen und Einengen der Lösungen erhielt man je ca. 35 mg (R_F 0.84–0.87, Dichlormethan/Aceton 1 + 1).

Aus 103 mg (\pm)-18 wurden 36 mg (\pm)-24 erhalten. — UV (Methanol): λ_{max} (ϵ) 227 (12000), 290 nm (14700). — IR (KBr): 1710 (3'-C=O), 1680 (1-C=O), 1640 (C=O), 1600, 1570, 1490 cm^{-1} (C=C). — NMR ($CDCl_3$): δ 0.97 (d, J = 7.0 Hz, 3 H, 11 α -CH₃), 1.46 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 2.66 (d, J' = 9.0 Hz, 2 H, 2'-H), 3.88 (s, 3 H, OCH₃), 6.81 (m, $W_{1/2}$ = 3 Hz, 1 H, 7-H), 6.86 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1 H, 9-H), 8.01 ppm (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 10-H). — MS: m/e 369 (M^+), 326 ($M^+ - C_3H_7$), 300 ($M^+ - C_4H_5O$), 245, 244 ($M^+ - A^{20}$), 202 (B^{20}), 43 ($H_3CC \equiv O^+$).

Aus 103 mg (\pm)-19 bzw. aus 102 mg (\pm)-20 wurden 37 mg bzw. 34 mg (\pm)-25 erhalten. — UV (Methanol): λ_{max} (ϵ) 228 (11800), 291 nm (14800). — IR (KBr): 1710 (4'-C=O), 1675 (1-C=O), 1635 (C=O), 1595, 1565, 1490 cm^{-1} (C=C). — NMR ($CDCl_3$): δ 0.99 (d, J = 7.0 Hz, 1 H, 11 α -CH₃), 1.46 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 3.88 (s, 3 H, OCH₃), 6.82 (m, $W_{1/2}$ = 3 Hz, 1 H, 7-H), 6.88 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1 H, 9-H), 8.02 ppm (d, J = 8.0 Hz, 1 H, 10-H). — MS: m/e 369 (M^+), 341 ($M^+ - CH_2=CH_2$ und/oder $M^+ - CO$), 313 ($M^+ - CH_2=CH_2 - CO$), 300 ($M^+ - C_4H_5O$), 245, 244 ($M^+ - C^{20}$), 202 (B^{20}).

Chemische Umwandlung des Diacetates 20 zu (\pm)-8-Methoxy-6 α ,11 α -dimethyl-3-(4-oxocyclohexylcarbonyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (26): 270 mg des Diacetats 20 wurden, wie bei 24 und 25 beschrieben, verseift und danach in Methanol mit überschüssigem Diazomethan methyliert. Die erhaltenen 273 mg rohen Methyläthers 23 wurden in 5 ml Chloroform gelöst, mit 295 mg MnO_2 versetzt und 16 h bei Raumtemp. gerührt. Danach sowie nach weiteren 16 und 72 h wurden nochmals je 300 mg MnO_2 zugesetzt. Nach insgesamt 120 h wurde die Lösung filtriert und eingengt. Man reinigte durch präp. DC und erhielt 53 mg (\pm)-26 (R_F = 0.9, $CHCl_3$ /Methanol 95 + 5).

UV (Methanol): λ_{max} (ϵ) 225 (10700), 280 (2390), 287 nm (2230). — IR (Flüssigfilm): 1715 (4'-C=O), 1630 (C=O), 1610, 1575, 1500 cm^{-1} (C=C). — NMR ($CDCl_3$): δ 0.90 (d, J = 7.0 Hz, 1 H, 11 α -CH₃), 1.40 (s, 3 H, 6 α -CH₃), 3.78 (s, 3 H, OCH₃), 6.70 (dd, J = 8.0 und 2.5 Hz, 1 H, 9-H),

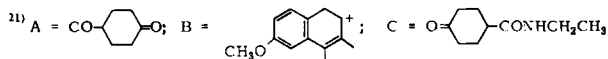


6.82 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H, 7-H), 6.98 ppm (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, 10-H). — MS: m/e 355 (M^+), 340 ($M^+ - CH_3$), 230 ($M^+ - A^{21}$), 187 (B^{21}), 186, 169 (C^{21}).

Chemische Umwandlung der Diacetate 18, 19 und 20 zu (\pm)-8-Hydroxy-3-[3(ax)-hydroxycyclohexylmethyl]-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (27), (\pm)-8-Hydroxy-3-[4(eq)-hydroxycyclohexylmethyl]-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (28) und (\pm)-8-Hydroxy-3-[4(ax)-hydroxycyclohexylmethyl]-6 α ,11 α -dimethyl-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin (29): 1.7 g Diacetat 18 in 100 ml absol. Tetrahydrofuran wurden mit 400 mg Lithiumaluminiumhydrid 2 h unter Rückfluß erhitzt. Man zersetzte durch Zugabe von Essigester und Wasser und säuerte mit 2 N HCl an. Nach Abdestillieren des Tetrahydrofurans und Wassers i. Vak. wurde der Rückstand mit Isobutylmethylketon ausgewaschen. Man versetzte mit einem Überschuß festem K_2CO_3 und extrahierte zweimal mit Isobutylmethylketon. Der Extrakt wurde mit Wasser gewaschen, getrocknet und zur Trockne eingengt. Der ölige Rückstand (1.36 g) wurde in Äthanol mit 2 N HCl auf pH 4.0 angesäuert und eingengt. Nach Zugabe von etwas Wasser wurde gefriergetrocknet. Man erhielt 1.22 g (\pm)-27-Hydrochlorid. Schmp. 175–180°C.

2.48 g Diacetat 19 wurden unter gleichen Bedingungen reduziert und ergaben 1.52 g (\pm)-28-Hydrochlorid. Schmp. 123–127°C.

2.14 g Diacetat 20 wurden unter gleichen Bedingungen reduziert und ergaben 902 mg (\pm)-29-Hydrochlorid. Schmp. 155–160°C.



[491/75]