

126. Über $9\beta,10\alpha$ -Steroide

4. Mitteilung [1]

Strukturaufklärung von mikrobiologischen Umsetzungsprodukten

von **H. Els, G. Englert, A. Fürst, P. Reusser und A. J. Schocher**

Chemische und physikalische Forschungsabteilung, VEF-Abteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel

(15. IV. 69)

Summary. The structure and the stereochemistry of some 8- and 9-hydroxy- $9\beta,10\alpha$ (*retro*)-steroids of the androstan and pregnane series, obtained microbiologically, have been elucidated. Chemical and spectroscopic evidence are presented in support of the structures proposed.

In Fortsetzung unserer Arbeiten [2] über mikrobiologische Umsetzungsprodukte von $9\beta,10\alpha$ (*retro*)-Steroiden der Androstan- und Pregnan-Reihe haben wir die Strukturen einiger neuer Derivate aufgeklärt, über die hier berichtet wird.

Das mit Hilfe von *Nocardia brasiliensis* aus $9\beta,10\alpha$ -Pregna-4,6-dien-3,20-dion [3] hergestellte **2** [4] ist auf Grund von Analyse und Massenspektrum ein Monohydroxy-Derivat. Das eingeführte Hydroxyl konnte weder acetyliert noch oxydiert werden. Da im NMR.-Spektrum kein Signal auftritt, welches auf ein sekundäres Hydroxyl hinweist, muss dieses tertiären Charakter haben. Die 17α -Stellung wurde durch direkten Vergleich mit authentischem Material [5] ausgeschlossen. Von den übrigen möglichen Stellungen, nämlich 8β , 9β und 14α , konnte die 8β -Stellung auf Grund spektroskopischer und chemischer Daten eindeutig festgelegt werden: im NMR.-Spektrum ist, gegenüber dem Ausgangsmaterial, das Signal des 18-CH_3 um +0,24 ppm und dasjenige des 19-CH_3 um +0,03 ppm nach tieferem Felde verschoben¹⁾. Die zusätzliche chemische Verschiebung des 18-CH_3 -Signals von +0,24 ppm stimmt gut mit den von anderen Autoren [6] für die 8β -Hydroxygruppe gefundenen Wert überein²⁾. Das Spektrum von **2** in CDCl_3 zeigt bei 6,09 ppm ein Singulett, das den beiden Vinylprotonen H-C(6) und H-C(7) zugeteilt werden kann. In Pyridin aufgenommen, ist jedoch die chemische Verschiebung dieser Protonen nicht mehr gleich. Die zuzuordnenden Signale bilden ein gut ausgeprägtes *AB*-Quartett bei 6,17 ppm ($J_{6,7} = 10 \text{ Hz}$ | $\delta_6 - \delta_7 = 0,14 \text{ ppm}$). Da keine Kopplung mit H-C(8) beobachtet wird, muss die OH-Gruppe demnach die Stellung 8β einnehmen.

¹⁾ Vgl. Tabelle S. 1160.

²⁾ Der C/D-Ring-Teil von $9\beta,10\alpha$ -Steroiden ist praktisch deckungsgleich mit demjenigen der normalen Reihe ($9\alpha,10\beta$ -Steroide). Der A/B-Teil von $9\beta,10\alpha$ -Steroiden ist dagegen annähernd Spiegelbild zum A/B-Teil von $9\alpha,10\beta$ -Steroiden. Gleichwertige Substituenten im C- oder D-Ring beider Reihen müssen daher einen gleichen oder annähernd gleichen Abschirmungs- bzw. Entschirmungs-Effekt auf die 18-CH_3 -Gruppe haben. Das gleiche gilt für gleichwertige Substituenten im A- und B-Ring beider Reihen, die bezüglich der 19-CH_3 -Gruppe gleiche räumliche Lage einnehmen. Vergleiche auch [7].

Ferner entsteht bei der Behandlung von **2** mit Mesylchlorid in Dimethylformamid-Collidin [8] in guter Ausbeute $9\beta,10\alpha$ -Pregna-4,6,8(14)-trien-3,20-dion (**3**), das identisch ist mit einem auf anderem Weg hergestellten Präparat³⁾. Somit steht Struktur **2** für diese Hydroxyverbindung fest.

8-Hydroxy- $9\beta,10\alpha$ -pregna-4,6-dien-3,20-dion (**2**) liess sich mit Pd/CaCO₃-Katalysator leicht hydrieren und ergab in guter Ausbeute das 6,7-Dihydroderivat **1**. Letzteres erwies sich als identisch mit einem aus $9\beta,10\alpha$ -Pregn-4-en-3,20-dion [3] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Curvularia lunata* erhaltenen Produkt [4]. Somit ist die Struktur dieser Verbindung als 8-Hydroxy- $9\beta,10\alpha$ -pregn-4-en-3,20-dion (**1**) gesichert. Auch **1** zeigt im NMR.-Spektrum die zusätzliche chemische Verschiebung des 18-CH₃-Signals um +0,25 ppm¹⁾.

Durch eine Reihe von Messungen an entsprechenden *retro*-Steroiden wurden die genauen Additivitätswerte für die 8β -OH-Gruppe bezüglich der 18-CH₃- und der 19-CH₃-Gruppe bestimmt [9].

Auf Grund dieser Bestimmungen und mit Hilfe der IR.-, MS.- und UV.-Spektren konnte der Hydroxyverbindung, die durch mikrobiologische Umsetzung von 17β -Hydroxy- $9\beta,10\alpha$ -androst-4-en-3-on [10] mit *Aspergillus nidulans* [4] erhalten wurde, die Struktur des $8,17\beta$ -Dihydroxy- $9\beta,10\alpha$ -androst-4-en-3-ons (**6**) zugeordnet werden. Die zusätzlichen chemischen Verschiebungen für die 18-CH₃- und die 19-CH₃-Gruppe der Verbindung **6** betragen +0,24 ppm bzw. -0,07 ppm¹⁾.

In dem durch Fermentation von $9\beta,10\alpha$ -Pregna-4,6-dien-3,20-dion [3] mit *Cephalothecium roseum* [4] erhaltenen Monohydroxy-Derivat **5** muss die Hydroxygruppe ebenfalls tertiar gebunden sein (NMR.). Durch direkten Vergleich konnten die Stellungen 17α und 8β ausgeschlossen werden, so dass noch die 9β - oder die 14α -Stellung in Frage kam. Im NMR.-Spektrum von **5** ist das 18-CH₃-Signal um +0,11 ppm und das 19-CH₃-Signal um +0,08 ppm gegenüber denjenigen des Ausgangsmaterials nach tieferem Felde verschoben. Ebenso ist eine starke Verschiebung des H-C(4)-Signales um +0,22 ppm nach tieferem Felde festzustellen. Die H-C(6)- und H-C(7)-Protonen-Signale bilden den AB-Teil eines ABX-Spektrums (H-C(6): Doppelte bei 6,25 ppm; $J_{6,7} = 10$ Hz; H-C(7): Quartett bei 6,08 ppm; $J_{7,6} = 10$ Hz, $J_{7,1} = 3,5$ Hz). Die Grösse und Richtung der Verschiebung des 19-CH₃-Signals [6]²⁾ sowie die zusätzliche Verschiebung des H-C(4)-Signals machen es sehr wahrscheinlich, dass sich die Hydroxylgruppe in Stellung 9β befindet (**5**). Verbindung **5** liess sich mit Pd/CaCO₃-Katalysator leicht zum 6,7-Dihydroderivat **4** hydrieren. Letzteres erwies sich als identisch mit einem aus $9\beta,10\alpha$ -Pregn-4-en-3,20-dion [3] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Cephalothecium roseum* [4] erhaltenen monohydroxylierten Produkt. Ferner entsteht bei der Behandlung von **4** mit Mesylchlorid in Dimethylformamid-Collidin [8] in guter Ausbeute ein Gemisch der Dehydroverbindungen **7** und **8**, wobei **7** in ca. $70 \pm 5\%$ und **8** in ca. $20 \pm 5\%$ anfiel (NMR.-Analyse). Das Doppelbindungsisomere **9** konnte nicht mit Sicherheit identifiziert werden. Nach Reinigung und Kristallisation erwies sich **7** als identisch mit dem früher auf anderem Wege hergestellten 10α -Pregna-4,9(11)-dien-3,20-dion [2]. Die Entstehung dieses Dehydratisierungsproduktes zusammen mit der Interpretation des NMR.-Spektrums¹⁾ erlauben es nunmehr, mit Sicherheit zu sagen, dass das tertäre Hydroxyl der Verbindung **4** die 9β -Stellung ein-

³⁾ Unveröffentlichte Arbeiten aus unserem Arbeitskreis.

nehmen muss. Durch die erfolgte Verknüpfung von **4** mit **5** ist somit auch die letztere Struktur gesichert.

Wird Verbindung **5** in Äthylenchlorid bei 60° mit Phosphoroxychlorid behandelt, so kann aus dem Reaktionsprodukt nur **3** isoliert werden. Die Wasserabspaltung unter diesen energischeren Bedingungen erfolgt bei **5** somit unter gleichzeitiger Wanderung der Doppelbindung in die 8(14)-Stellung.

Vergleich einiger chemischer Verschiebungen von 8β- und 9β-Hydroxy-substituierten 9β,10α-Steroiden mit denjenigen der unsubstituierten Verbindungen (Lösungsmittel: CDCl₃)

Verbindung	zusätzl. liche Funktion	Nr. C(4)	H- ppm	Δ ^{b)} ppm	18- CH ₃ ppm	Δ ^{b)} ppm	19- CH ₃ ppm	Δ ^{b)} ppm
9β,10α-Pregna-4,6-dien-3,20-dion	–	a)	5,62	–	0,72	–	1,31	–
9β,10α-Pregn-4-en-3,20-dion	–	b)	5,71	–	0,69	–	1,38	–
21-Hydroxy-9β,10α-pregn-4-en-3,20-dion	–	c)	5,70	–	0,70	–	1,37	–
17β-Hydroxy-9β,10α-androsta-4,6-dien-3-on	–	d)	5,67	–	0,84	–	1,25	–
17β-Hydroxy-9β,10α-androst-4-en-3-on	–	e)	5,73	–	0,81	–	1,33	–
17β-Acetoxy-9β,10α-androst-4-en-3-on	–	f)	5,73	–	0,86	–	1,33	–
9β,10α-Androst-4-en-3,17-dion	–	g)	5,76	–	0,95	–	1,31	–
8-Hydroxy-9β,10α-pregna-4,6-dien-3,20-dion	8β-OH ^{a)}	2	5,73	+ 0,11	0,96	+ 0,24	1,34	+ 0,03
8-Hydroxy-9β,10α-pregn-4-en-3,20-dion	8β-OH ^{b)}	1	5,75	+ 0,04	0,94	+ 0,25	1,33	- 0,05
8,17β-Dihydroxy-9β,10α-androst-4-en-3-on	8β-OH ^{e)}	6	5,75	+ 0,02	1,05	+ 0,24	1,26	- 0,07
9-Hydroxy-9β,10α-pregna-4,6-dien-3,20-dion	9β-OH ^{a)}	5	5,84	+ 0,22	0,83	+ 0,11	1,39	+ 0,08
9-Hydroxy-9β,10α-pregn-4-en-3,20-dion	9β-OH ^{b)}	4	5,83	+ 0,12	0,78	+ 0,09	1,48	+ 0,10
9,21-Dihydroxy-9β,10α-pregn-4-en-3,20-dion	9β-OH ^{c)}	12	5,81	+ 0,11	0,80	+ 0,10	1,45	+ 0,08
9,17β-Dihydroxy-9β,10α-androsta-4,6-dien-3-on	9β-OH ^{d)}	14	5,84	+ 0,17	0,95	+ 0,11	1,34	+ 0,09
9,17β-Dihydroxy-9β,10α-androst-4-en-3-on	9β-OH ^{e)}	13	5,83	+ 0,10	0,91	+ 0,10	1,43	+ 0,10
9-Hydroxy-17β-acetoxy-9β,10α-androst-4-en-3-on	9β-OH ^{f)}	10	5,80	+ 0,07	0,95	+ 0,09	1,42	+ 0,09
9-Hydroxy-9β,10α-androst-4-en-3,17-dion	9β-OH ^{g)}	15	5,81	+ 0,05	1,04	+ 0,09	1,41	+ 0,10

a-g) Diese Verbindungen liefern die Grundwerte für die Berechnung der zusätzlichen chemischen Verschiebungen.

^{b)} Δ ± 0,01 ppm; Vorzeichen (+) = Verschiebung nach tieferem, (-) = Verschiebung nach höherem Felde.

Durch mikrobiologischen Abbau von **4** mit *Gliocladium roseum* [11] gelangte man in guter Ausbeute zu den Verbindungen **10** und **13**, wobei **10** als intermediärer Metabolit in diesem Abbau auftritt. Verbindung **13**, welche auch bei der Fermentation von 17β-Hydroxy-9β,10α-androst-4-en-3-on [10] mit *Choanephora circinans* [4] erhalten wurde, liess sich durch Acetylierung quantitativ in **10** überführen.

Aus einer Umsetzung von 21-Hydroxy-9β,10α-pregn-4-en-3,20-dion [5]³⁾ mit *Mucor corymbifer* [4] wurde ein hydroxyliertes Produkt **12** isoliert, das die für in 9-hydroxylierte 9β,10α-Steroide charakteristischen Verschiebungen der 18-CH₃-, 19-CH₃- und H-C(4)-Signale im NMR. aufwies¹⁾. Durch mikrobiologischen Seitenketten-

Abbau mit Hilfe von *Gliocladium roseum* [11] konnte **12** in das entsprechende 17β -Hydroxyderivat **13** übergeführt werden. Somit steht für **12** die Struktur des 9,21-Dihydroxy- $9\beta,10\alpha$ -pregn-4-en-3,20-dions fest. Das bei diesem Abbau intermediär auftretende **11** wurde nicht isoliert, konnte aber plattenchromatographisch nachgewiesen werden.

Mikrobiologische Hydroxylierung von 17β -Hydroxy- $9\beta,10\alpha$ -androsta-4,6-dien-3-on [10] mit *Nocardia lurida* [4] ergab ebenfalls ein tertiär monohydroxyliertes Derivat, dem auf Grund seiner physikalischen Eigenschaften die Struktur **14** zugewiesen wurde. Verbindung **14** liess sich mit Pd/CaCO₃-Katalysator glatt zu **13** hydrieren, womit **14** mit obigen 9-Hydroxyverbindungen verknüpft ist.

$9,17\beta$ -Dihydroxy- $9\beta,10\alpha$ -androst-4-en-3-on (**13**) wurde ferner durch Oxydation mit Chromtrioxid in Aceton-Schwefelsäure [12] in guter Ausbeute in das entsprechende 17-Keton **15** übergeführt.

Wir danken Herrn Dr. O. A. DE BRUIN, Weesp (Holland), für Ausgangsmaterial und Herrn A. SMIT †, Weesp (Holland), für den Austausch von Vergleichspräparaten.

Für die Mikroanalysen (Dr. A. DIRSCHERL), Bestimmung der ORD.-Spektren (Dr. F. BURKHARDT), der IR.-Spektren (Dr. L. CHOPARD), der UV.-Spektren (Dr. J. WÜRSCH), der Massenspektren (Dr. W. VETTER) und für die Durchführung einiger Trennungen durch präparative Dünnschichtchromatographie (Dr. P. SOMMER) möchten wir ebenfalls unseren Dank aussprechen.

Experimenteller Teil

Die Smp. wurden in einer evakuierten Kapillare bestimmt und sind korrigiert. Die UV.-Spektren wurden in Feinspritlösung, die IR.-Spektren in KBr aufgenommen. Die Messungen der Rotationsdispersionsspektren erfolgte in ca. 0,1-proz. Lösung in Dioxan, 1-dm-Rohr (min = Minimum, max = Maximum, s = Schuler). Die $[\alpha]_{589}^{25}$ -Werte stammen aus den ORD.-Kurven. Die NMR.-Spektren wurden auf einem VARIAN-A-60 und auf einem VARIAN-HA-100, sofern nicht anders vermerkt, in Deuteriochloroform aufgenommen; Tetramethylsilan (TMS) als interner Standard. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm (TMS = 0) angegeben.

Dünnschichtchromatogramme wurden auf üblichen Kieselgelplatten (Silicagel G, MERCK) durchgeführt; Sprühreagens: 50-proz. wässrige *p*-Toluolsulfonsäure, kurzes Erhitzen auf 140°.

1. *8-Hydroxy-9 $\beta,10\alpha$ -pregn-4-en-3,20-dion* (**1**). – a) Aus $9\beta,10\alpha$ -Pregn-4-en-3,20-dion [3] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Curvularia lunata* [4]. Nach Kristallisation aus Methylenchlorid-Isopropyläther und Trocknung bei 80° im Hochvakuum, Smp. 186–188°. MS.: M^+ -Pik bei 330, $[\alpha]_{589}^{25} = +6^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(235)} = -3000^\circ$, $\alpha_{(250)} = -8000^\circ$ (min), $\alpha_{(297)} = 0^\circ$, $\alpha_{(306)} = +460^\circ$ (s), $\alpha_{(310-316)} = +1860^\circ$ (s), $\alpha_{(320)} = +1970^\circ$ (max), $\alpha_{(330-336)} = +1130^\circ$ (s), $\alpha_{(344)} = +635^\circ$ (min), $\alpha_{(348)} = +685^\circ$ (max), $\alpha_{(361)} = +206^\circ$ (min), $\alpha_{(364)} = +223^\circ$ (max), $\alpha_{(375)} = 0^\circ$, $\alpha_{(378)} = -21^\circ$ (min), $\alpha_{(382)} = 0^\circ$, $\alpha_{(400)} = +44^\circ$ (max), $\alpha_{(589)} = +6^\circ$, $\alpha_{(700)} = +5^\circ$. – UV.-Maximum bei 239 nm ($\epsilon = 14300$). – NMR.: 18-CH₃ = 0,94; 19-CH₃ = 1,33; 21-CH₃ = 2,13; H-C(4) = 5,75 ppm. – IR.-Banden: 3424, 1699, 1650, 1613 cm⁻¹.



b) Aus *8-Hydroxy-9 $\beta,10\alpha$ -pregna-4,6-dien-3,20-dion* (**2**) [4]: 80 mg **2** wurden in 5 ml Dioxan (MERCK *p.a.*) gelöst und in Gegenwart von 50 mg Pd/CaCO₃-Katalysator hydriert. Nach Aufnahme von 1,04 Äqu. Wasserstoff wurde die Hydrierung unterbrochen, vom Katalysator filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde aus Methylenchlorid-Isopropyläther kristallisiert und ergab 51 mg reines **1**, Smp. 186–188°, identisch mit dem unter a) beschriebenen Präparat.

2. *8-Hydroxy-9 $\beta,10\alpha$ -pregna-4,6-dien-3,20-dion* (**2**). Aus $9\beta,10\alpha$ -Pregna-4,6-dien-3,20-dion [3] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Cephalothecium roseum*, *Helicostylum piriforme* und *Nocardia brasiliensis* [4]. Nach Kristallisation aus Aceton-Isopropyläther erhält man analysenreines **2**, Smp. 229–231°. $[\alpha]_{589}^{25} = -194^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(260)} = +9000^\circ$, $\alpha_{(270)} = 0^\circ$, $\alpha_{(286)} = -17000^\circ$ (min), $\alpha_{(301)} = 0^\circ$, $\alpha_{(310)} = +5400^\circ$ (max), $\alpha_{(315)} = +4800^\circ$ (min), $\alpha_{(320)} = +5400^\circ$ (max), $\alpha_{(363)} = 0^\circ$, $\alpha_{(390)} = -2084^\circ$ (min), $\alpha_{(408)} = -1820^\circ$ (s), $\alpha_{(589)} = -194^\circ$, $\alpha_{(700)} = -114^\circ$.

UV.-Maximum bei 280 nm ($\epsilon = 26\,600$). – NMR.: 18-CH₃ = 0,96; 19-CH₃ = 1,34; 21-CH₃ = 2,13; H-C(4) = 5,73; H-C(6,7) = 6,09 ppm. In Pyridin: 18-CH₃ = 1,25; 19-CH₃ = 1,31; 21-CH₃ = 2,14; H-C(4) = 5,86; H-C(6,7) = 6,1, 6,24 ($J_{6,7} = 10$ Hz) ppm. – IR.-Banden: 3435, 1693, 1640, 1622, 1580 cm⁻¹.

C₂₁H₂₈O₃ (328,44) Ber. C 76,79 H 8,59 O 14,61% Gef. C 76,64 H 8,59 O 14,55%

3. 9 β ,10 α -Pregna-4,6,8(14)-trien-3,20-dion (3). – a) Aus 2: 50 mg 2 wurden in 2 ml Dimethylformamid und 0,3 ml Collidin (MERCK) gelöst. Nach Zugabe von 0,75 ml Mesylchlorid (enthaltend 4,8% SO₂) [8] wurde 2 Std. bei 25° gerührt. Hierauf wurde 0,5 ml Wasser zugesetzt und 30 Min. weitergeführt. Anschliessend wurde das Reaktionsgemisch in 100 ml Essigester aufgenommen, 2-mal mit je 50 ml 1N HCl, gesättigter Kochsalzlösung und 1N NaOH ausgezogen und mit Wasser neutral gewaschen. Nach dem Eindampfen erhielten wir 45 mg Rohprodukt, das auf einer präparativen Dünnschichtplatte im System Methylenechlorid-10% Aceton chromatographiert wurde. Die Hauptzone lieferte nach Extraktion mit Methylenchlorid-5% Methanol 22 mg reines 3, das aus Aceton-Hexan kristallisierte, Smp. 140–141°. $[\alpha]_{D}^{25} = -540^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(300)} = +1000^\circ$, $\alpha_{(320)} = +14\,000^\circ$ (max), $\alpha_{(380)} = -5900^\circ$ (min), $\alpha_{(390)} = -5750^\circ$ (max), $\alpha_{(398)} = -6330^\circ$ (min), $\alpha_{(589)} = -540^\circ$, $\alpha_{(700)} = -324^\circ$. – UV.-Maxima bei 271, 283, 348 nm ($\epsilon = 7800, 8300, 25\,600$). – NMR.: 18-CH₃ = 0,89; 19-CH₃ = 1,03; 21-CH₃ = 2,19; H-C(4) = 5,72; H-C(6,7) = 6,02, 6,59 ($J_{6,7} = 9,5$ Hz) ppm. – IR.-Banden: 1702, 1664, 1636, 1585 cm⁻¹.

C₂₁H₂₆O₂ (310,42) Ber. C 81,25 H 8,44% Gef. C 81,10 H 8,31%

b) Aus 5: 240 mg 9-Hydroxy-9 β ,10 α -pregna-4,6-dien-3,20-dion (5) wurden in 30 ml Äthylen-dichlorid gelöst und nach Zugabe von 3 ml Phosphoroxychlorid 40 Min. auf 60° erwärmt. Anschliessend wurde noch 16 Std. bei 25° gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde nun auf Wasser (100 ml) gegossen, in 200 ml Essigester aufgenommen, die Lösungsmittelphase mit 2 mal 40 ml 2N Natronlauge gewaschen, mit Wasser neutral gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, 140 mg dunkelbraunes Öl, wurde auf einer präparativen Kieselgelplatte chromatographiert; System Benzol-Essigester. Aus der Hauptzone konnten 68 mg der Verbindung 3 isoliert werden; identisch in jeder Beziehung mit dem unter a) isolierten Präparat. Aus zwei Nebenzonen wurden noch wenige mg von Gemischen isoliert.

4. 9-Hydroxy-9 β ,10 α -pregn-4-en-3,20-dion (4). – a) Aus 9 β ,10 α -Pregn-4-en-3,20-dion [3] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Cephalothecium roseum* [4]: Nach Kristallisation aus Methylenchlorid-Isopropyläther und Trocknung bei 100° im Hochvakuum, Smp. 219–220°. – MS.: M⁺-Pik bei 330. $[\alpha]_{D}^{25} = -13^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(260)} = -6320^\circ$, $\alpha_{(303)} = 0^\circ$, $\alpha_{(310-313)} = +770^\circ$ (s), $\alpha_{(320)} = +1040^\circ$ (max), $\alpha_{(328-330)} = +560^\circ$ (min), $\alpha_{(335)} = +760^\circ$ (max), $\alpha_{(340-343)} = +49^\circ$ (min), $\alpha_{(350)} = +720^\circ$ (max), $\alpha_{(358-360)} = +320^\circ$ (min), $\alpha_{(365)} = +380^\circ$ (max), $\alpha_{(380-385)} = +77^\circ$ (s), $\alpha_{(458)} = 0^\circ$, $\alpha_{(589)} = -13^\circ$, $\alpha_{(700)} = -16^\circ$. – UV.-Maximum bei 241 nm ($\epsilon = 16\,200$). – NMR.: 18-CH₃ = 0,78; 19-CH₃ = 1,48; 21-CH₃ = 2,13; H-C(4) = 5,83 ppm. – IR.-Banden: 3440, 1700, 1658, 1615 cm⁻¹.

C₂₁H₃₀O₃ (330,45) Ber. C 76,32 H 9,15 O 14,53% Gef. C 76,34 H 9,06 O 14,74%

b) Aus 9-Hydroxy-9 β ,10 α -pregna-4,6-dien-3,20-dion (5): 186 mg 5 wurden in 5 ml Dioxan (MERCK p. a.) gelöst und in Gegenwart von 30 mg Pd/CaCO₃-Katalysator hydriert. Nach Aufnahme von 1,04 Äqu. Wasserstoff wurde vom Katalysator filtriert und eingedampft. Der plattenchromatographisch reine Rückstand kristallisierte aus Methylenchlorid-Isopropyläther, Smp. 219–220°; nach Misch-Smp., UV.-, IR.- und NMR.-Spektrum identisch mit obigem Präparat.

5. 9-Hydroxy-9 β ,10 α -pregna-4,6-dien-3,20-dion (5). Aus 9 β ,10 α -Pregna-4,6-dien-3,20-dion [3] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Cephalothecium roseum* [4]. Nach Kristallisation aus Aceton-Isopropyläther erhielt man analysenreines 5; Smp. 229–230°. – MS.: M⁺-Pik bei 328. $[\alpha]_{D}^{25} = -304^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(260)} = +7000^\circ$, $\alpha_{(273)} = 0^\circ$, $\alpha_{(287)} = -17\,000^\circ$ (min), $\alpha_{(304)} = 0^\circ$, $\alpha_{(317)} = +2760^\circ$ (max), $\alpha_{(351)} = 0^\circ$, $\alpha_{(387)} = -2340^\circ$ (min), $\alpha_{(405)} = -2013^\circ$ (s), $\alpha_{(589)} = -304^\circ$, $\alpha_{(700)} = -188^\circ$. – UV.-Maximum bei 283 nm ($\epsilon = 25\,600$). – NMR.: 18-CH₃ = 0,83; 19-CH₃ = 1,39; 21-CH₃ = 2,14; H-C(4) = 5,84; H-C(7) = 6,08 ($J_{7,8} = 3,5$ Hz); H-C(6) = 6,25 ($J_{6,7} = 10$ Hz) ppm. – IR.-Banden: 3444, 1699, 1646, 1628, 1586 cm⁻¹.

C₂₁H₂₈O₃ (328,44) Ber. C 76,79 H 8,59 O 14,61% Gef. C 76,75 H 8,70 O 15,07%

6. 8,17 β -Dihydroxy-9 β ,10 α -androst-4-en-3-on (6). Aus 17 β -Hydroxy-9 β ,10 α -androst-4-en-3-on [10] durch mikrobiologische Oxydation mit *Aspergillus nidulans* [4]. Die Verbindung kristalli-

sierte aus Methanol-Isopropyläther, Smp. 188–189°. – MS.: M^+ -Pik bei 304, entsprechend $C_{19}H_{28}O_3$. – UV.-Absorption bei 238 nm ($\epsilon = 16400$). – NMR.: $18-\text{CH}_3 = 1,05$; $19-\text{CH}_3 = 1,26$; $H-\text{C}(17) = 3,68$; $H-\text{C}(4) = 5,75$ ppm. – IR.-Banden: 3394, 1643, 1636, 1610 cm^{-1} .

7. *10 α -Pregna-4,9(11)-dien-3,20-dion (7), 10 α -Pregna-4,8-dien-3,20-dion (8) und 9 ξ ,10 α -Pregna-4,8(14)-dien-3,20-dion (9) aus 4.* 500 mg 9-Hydroxy-9 β ,10 α -pregn-4-en-3,20-dion (4) wurden in 15 ml Dimethylformamid und 2 ml Collidin (MERCK) gelöst und mit 0,5 ml Mesylchlorid, enthaltend 4,8% SO_2 [8], versetzt und 2 Std. bei 25° stehengelassen. Darauf wurden 5 ml Wasser zugegeben und nach weiteren 30 Min. wurde das Reaktionsgut in 200 ml Essigester aufgenommen. Die Essigesterphase wurde je 2 mal mit 50 ml 1N HCl, 50 ml gesättigter Kochsalzlösung, 50 ml 1N NaOH und 50 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, 400 mg dunkles Öl, wurde an 100 ml Kieselgel im System Methylenechlorid-10% Aceton chromatographiert (10-ml-Fraktionen). Fraktionen 8–12 enthielten 240 mg eines Gemisches, das nach NMR. aus $75 \pm 5\%$ 7, $20 \pm 5\%$ des Δ^8 -Isomeren 8 und sehr wenig des mutmasslichen Isomeren 9 enthielt. Aus den späteren Fraktionen konnte noch 4 zurückgewonnen werden.

Obiges Gemisch wurde auf der präparativen Kieselgelplatte im Durchlaufverfahren, System Cyclohexan-Essigester 2:1, getrennt; Laufzeit 3 Std.

Zone 1: Enthielt 10 α -Pregna-4,8-dien-3,20-dion 8, das nach NMR. noch ca. 3–5% Verunreinigung enthielt. NMR.: $18-\text{CH}_3 = 0,59$; $19-\text{CH}_3 = 1,36$; $H-\text{C}(4) = 5,76$ ppm.

Zone 2: Enthielt reines 10 α -Pregna-4,9(11)-dien-3,20-dion (7), das aus Methylenechlorid-Isopropyläther kristallisierte, Smp. 171–173°; identisch nach Misch-Smp. (171–173°) sowie UV.-, IR.- und NMR.-Spektrum mit einem authentischen Präparat [2]. $[\alpha]_{D}^{25} = -60^\circ$. – UV.-Maximum bei 238 nm ($\epsilon = 14200$). – NMR.: $18-\text{CH}_3 = 0,56$; $19-\text{CH}_3 = 1,38$; $21-\text{CH}_3 = 2,12$; $H-\text{C}(11) = 5,59$; $H-\text{C}(4) = 5,82$ ppm. – IR.-Banden: 1701, 1658, 1608, 1229 cm^{-1} .

Aus *Zone 3* wurde ein Gemisch von 7 und einer Verbindung extrahiert, bei der es sich um 9 handeln könnte. Letztere Verbindung wurde jedoch nicht rein erhalten.

8. *9-Hydroxy-17 β -acetoxy-9 β ,10 α -androst-4-en-3-on (10) und 9,17 β -Dihydroxy-9 β ,10 α -androst-4-en-3-on (13).* Aus 9-Hydroxy-9 β ,10 α -pregn-4-en-3,20-dion (4) durch mikrobiologische Umsetzung mit *Gliocladium roseum* [11].

a) *Verbindung 10* kristallisierte aus Essigester-Isopropyläther, Smp. 175–176°. – MS.: M^+ -Pik bei 346, entsprechend $C_{21}H_{30}O_4$. $[\alpha]_{D}^{25} = -102^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(235)} = -3000^\circ$, $\alpha_{(246-250)} = -9000^\circ$ (min), $\alpha_{(306)} = -1610^\circ$ (s), $\alpha_{(313)} = -1390^\circ$ (s), $\alpha_{(324-327)} = -900^\circ$ (s), $\alpha_{(336)} = -275^\circ$ (max), $\alpha_{(338)} = -280^\circ$ (min), $\alpha_{(346)} = 0^\circ$, $\alpha_{(348)} = +53^\circ$ (max), $\alpha_{(352)} = 0^\circ$, $\alpha_{(356)} = -123^\circ$ (min), $\alpha_{(363)} = -70^\circ$ (max), $\alpha_{(379-380)} = -303^\circ$ (min), $\alpha_{(589)} = -102^\circ$, $\alpha_{(700)} = -66^\circ$. – UV.-Maximum bei 242 nm ($\epsilon = 15400$). – NMR.: $18-\text{CH}_3 = 0,95$; $19-\text{CH}_3 = 1,42$; $17-\text{OAc} = 2,05$; $H-\text{C}(17) = 4,71$; $H-\text{C}(4) = 5,80$ ppm. – IR.-Banden: 3446, 1740, 1663, 1624, 1245 cm^{-1} .

b) *Verbindung 13* kristallisierte aus Methanol-Isopropyläther, Smp. 167–169°. – MS.: M^+ -Pik bei 304. $[\alpha]_{D}^{25} = -100^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(240)} = -2700^\circ$, $\alpha_{(255)} = -7500$ (min), $\alpha_{(314)} = -1585^\circ$ (s), $\alpha_{(326)} = -1040^\circ$ (s), $\alpha_{(327)} = -274^\circ$ (max), $\alpha_{(341)} = -336^\circ$ (min), $\alpha_{(348)} = 0^\circ$, $\alpha_{(350)} = +98^\circ$ (max), $\alpha_{(354)} = 0^\circ$, $\alpha_{(358)} = -155^\circ$ (min), $\alpha_{(366)} = -62^\circ$ (max), $\alpha_{(378)} = -300^\circ$ (min), $\alpha_{(589)} = -100^\circ$, $\alpha_{(700)} = -68^\circ$. – UV.-Maximum bei 241 nm ($\epsilon = 15700$). – NMR.: $18-\text{CH}_3 = 0,91$; $19-\text{CH}_3 = 1,43$; $H-\text{C}(17) = 3,75$; $H-\text{C}(4) = 5,83$ ppm. – IR.-Banden: 3460, 1658, 1615 cm^{-1} .

$C_{19}H_{28}O_3$ (304,41) Ber. C 74,96 H 9,27% Gef. C 75,29 H 9,55%

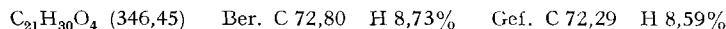
c) *Verbindung 10 aus 13:* 200 mg 10 wurden in 1 ml Pyridin und 10 ml Acetanhydrid gelöst und bei 50° 2 Std. acetyliert. Nach Eindampfen im Vakuum wurde normal aufgearbeitet. Man erhielt 250 mg Rohprodukt, das aus Essigester-Isopropyläther kristallisierte, Smp. 175–176°.

9. *9,17 β -Dihydroxy-9 β ,10 α -androst-4-en-3-on (13). – a) Aus 17 β -Hydroxy-9 β ,10 α -androst-4-en-3-on [10] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Choanephora circinans* [4]. Die Verbindung kristallisierte aus Methanol-Isopropyläther, Smp. 167–169°; identisch in allen Belangen mit dem unter 8 b) beschriebenen Präparat.*

b) Aus 9,17 β -Dihydroxy-9 β ,10 α -androst-4,6-dien-3-on (14). 41 mg 14 wurden in 15 ml Dioxan in Gegenwart von 41 mg Pd/CaCO₃-Katalysator hydriert. Nach Aufnahme von 1,01 Äqu. Wasserstoff wurde die Hydrierung abgebrochen und vom Katalysator filtriert. Nach dem Eindampfen und Kristallisation aus Methanol-Isopropyläther erhielt man reines 13; identisch in jeder Beziehung mit dem unter 8 b) beschriebenen Präparat.

c) Aus 9,21-Dihydroxy- $9\beta,10\alpha$ -pregn-4-en-3,20-dion (**12**) [4]. Durch mikrobiologischen Abbau von **12** mit *Gliocladium roseum* [11]. Smp. nach Kristallisation aus Methanol-Isopropyläther 167 bis 169°. Die Verbindung ist in jeder Beziehung identisch mit dem unter 8 b) beschriebenen **13**.

10. 9,21-Dihydroxy- $9\beta,10\alpha$ -pregn-4-en-3,20-dion (**12**). Aus 21-Hydroxy- $9\beta,10\alpha$ -pregn-4-en-3-on [5]⁸ durch mikrobiologische Umsetzung mit *Mucor corymbifer* [4]. Die Verbindung kristallisierte aus Methylchlorid-Isopropyläther, Smp. 217–218°, – MS.: M^+ -Pik bei 346, $[\alpha]_{589}^{25^\circ} = -10^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(235)} = -8000^\circ$, $\alpha_{(242-245)} = -10500^\circ$ (min), $\alpha_{(296)} = 0^\circ$, $\alpha_{(308-310)} = +550^\circ$ (max), $\alpha_{(316-318)} = +370^\circ$ (min), $\alpha_{(321-323)} = +450^\circ$ (max), $\alpha_{(327-329)} = +310^\circ$ (min), $\alpha_{(335-337)} = +600^\circ$ (max), $\alpha_{(343-344)} = +370^\circ$ (min), $\alpha_{(350)} = +649^\circ$ (max), $\alpha_{(360)} = +294^\circ$ (min), $\alpha_{(365)} = +328^\circ$ (max), $\alpha_{(380)} = +41^\circ$ (min), $\alpha_{(390)} = +46^\circ$ (max), $\alpha_{(589)} = -10^\circ$, $\alpha_{(700)} = -10^\circ$. – UV.-Maximum bei 240 nm ($\epsilon = 15900$). – NMR.: 18-CH₃ = 0,80; 19-CH₃ = 1,45; 21-OH = 3,28; 21-CH₂ = 4,19; H-C(4) = 5,81 ppm. – IR.-Banden: 3500, 3420, 1696, 1652, 1614 cm⁻¹.



11. 9,17 β -Dihydroxy- $9\beta,10\alpha$ -androst-4,6-dien-3-on (**14**). Aus 17 β -Hydroxy- $9\beta,10\alpha$ -androst-4,6-dien-3-on [10] durch mikrobiologische Umsetzung mit *Nocardia lurida* [4]. Die Verbindung kristallisierte aus Essigester, Smp. 208–209°, – MS.: M^+ -Pik bei 302, entsprechend $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_3$, $[\alpha]_{589}^{25^\circ} = -456^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(250)} = +13000^\circ$, $\alpha_{(280)} = 0^\circ$, $\alpha_{(290-298)} = -10000^\circ$ (min), $\alpha_{(333)} = -360^\circ$ (s), $\alpha_{(338-340)} = -300^\circ$ (max), $\alpha_{(353)} = -1050^\circ$ (s), $\alpha_{(373)} = -2490^\circ$ (s), $\alpha_{(386)} = -3265^\circ$ (min), $\alpha_{(402)} = -2820^\circ$ (s), $\alpha_{(589)} = -456^\circ$, $\alpha_{(700)} = -279^\circ$. – UV.-Maximum bei 286 nm ($\epsilon = 24500$). – NMR.: 18-CH₃ = 0,95; 19-CH₃ = 1,34; H-C(17) = 3,73; H-C(4) = 5,84; H-C(7) = 6,05; H-C(6) = 6,25 ppm ($J_{6,7} = 10$ Hz; $J_{7,8} = 3,5$ Hz). – IR.-Banden: 3460, 3420, 1650, 1622, 1582 cm⁻¹.

12. 9-Hydroxy- $9\beta,10\alpha$ -androst-4-en-3,17-dion (**15**). 500 mg **13** wurden in 20 ml Aceton gelöst. Innert 5 Min. wurde 0,6 ml JONES-Reagens (8N CrO₃ in H₂O/H₂SO₄) zugetropft. Nach weiteren 15 Min. wurde in 50 ml Wasser und 100 ml Essigester aufgenommen, die Essigesterphase mit Hydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der feste Rückstand (0,5 g) kristallisierte aus Methylchlorid-Isopropyläther, Smp. 165–166°. – MS.: M^+ -Pik bei 302, $[\alpha]_{589}^{25^\circ} = -23^\circ$. Rotationsdispersion: $\alpha_{(235)} = -6000^\circ$, $\alpha_{(247-256)} = -11000^\circ$ (min), $\alpha_{(280-285)} = -3800^\circ$ (s), $\alpha_{(312)} = +320^\circ$ (s), $\alpha_{(322)} = +1200^\circ$ (max), $\alpha_{(330)} = +610^\circ$ (min), $\alpha_{(335)} = +800^\circ$ (max), $\alpha_{(343)} = +470^\circ$ (min), $\alpha_{(350)} = +745^\circ$ (max), $\alpha_{(360)} = +348^\circ$ (min), $\alpha_{(365)} = +382^\circ$ (max), $\alpha_{(383-388)} = +45^\circ$ (s), $\alpha_{(418)} = 0^\circ$, $\alpha_{(500)} = -26^\circ$ (min), $\alpha_{(589)} = -23^\circ$, $\alpha_{(700)} = -16^\circ$. – UV.-Maximum bei 241 nm ($\epsilon = 15600$). – NMR.: 18-CH₃ = 1,04; 19-CH₃ = 1,41; H-C(4) = 5,81 ppm. – IR.-Banden: 3504, 1728, 1660, 1615 cm⁻¹.



LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 3. Mitteilung: G. SAUCY, M. MÜLLER & A. FÜRST, Helv. 50, 1394 (1967).
- [2] G. SAUCY, H. ELS, F. MIKSCH & A. FÜRST, Helv. 49, 1529 (1966).
- [3] P. WESTERHOF & E. H. REERINK, Rec. Trav. chim. Pays-Bas, 79, 771 (1960).
- [4] A. J. SCHOCHEIR *et al.*, Publikation in Vorbereitung.
- [5] P. WESTERHOF & E. H. REERINK, Rec. Trav. chim. Pays-Bas, 79, 1118 (1960).
- [6] R. F. ZÜRCHER, Helv. 46, 2054 (1963); ALLEN I. COHEN & SAMUEL ROCK JR., Steroids 7, 243 (1964); KAZUO TORI & EIJI KONDO, *ibid.* 7, 713 (1964).
- [7] R. F. ZÜRCHER, Chimia 18, 349 (1964); A. SMIT & J. BAKKER, Rec. Trav. chim. Pays-Bas, 85, 731 (1966).
- [8] G. G. HAZEN & D. W. ROSENBERG, J. org. Chemistry 29, 1930 (1964).
- [9] G. ENGLERT *et al.*, Publikation in Vorbereitung.
- [10] P. WESTERHOF & E. H. REERINK, Rec. Trav. chim. Pays-Bas, 79, 794 (1960).
- [11] A. J. SCHOCHEIR *et al.*, Publikation in Vorbereitung.
- [12] K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & B. C. L. WEEDON, J. chem. Soc. 1946, 39.