

eingetragen und das Ganze 30 Min. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Das nach dem Abkühlen und Verdünnen mit Aceton erhaltene *Anhydrid VII* schmilzt bei 360–364° (Zers.) und ist unlöslich in kalter konz. Schwefelsäure.

$C_{22}H_{10}O_3$  (322.3) Ber. C 81.98 H 3.13 Gef. C 82.05 H 3.25

Decarboxylierung von VII mit Natronkalk bei 360° im Stickstoffstrom und anschließende Vakuumsublimation liefert 1.2-Benzpyren (VIII), das durch sein UV-Absorptionsspektrum eindeutig identifiziert werden konnte.

*Chinon IXa oder b*: In eine siedende Lösung von 0.5 g 7-Methylen-dihydrobenzanthren<sup>2)</sup> in 15 ccm Nitrobenzol werden 0.24 g *p*-Benzochinon eingetragen und das Ganze 30 Min. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Das *Chinon IXa oder b* kristallisiert aus der heißen Lösung in langen, braunroten Nadeln (0.16 g). Zur Reinigung wurde es heiß mit Nitrobenzol extrahiert und bei ca. 500°/0.2 Torr sublimiert; Schmp. > 450°, unlöslich in kalter konz. Schwefelsäure. Charakteristische IR-Banden (KBr) bei : 1666/cm ( $\omega_{C=O}$ ); 902, 834, 755, 736/cm ( $\gamma_{CH}$ ).

$C_{42}H_{20}O_2$  (556.6) Ber. C 90.63 H 3.62 Gef. C 91.10 H 3.80

KLAUS BRÜCKNER, KLAUS IRMSCHER, FRITZ V. WERDER,  
KARL-HEINZ BORK und HARALD METZ

## Reaktionen an 16-Methylen- und 16-Hydroxymethylen-17-keto-steroiden

Aus dem Forschungslaboratorium der E. Merck AG, Darmstadt  
(Eingegangen am 27. April 1961)

Es wurden Reaktionen von 16-Methylen-17-keto-steroiden an der Keto- und der Methylengruppe sowie die Darstellung heterocyclisch substituierter Steroide aus 16-Methylen- und aus 16-Hydroxymethylen-17-keto-steroiden untersucht. Dabei wurden einige überraschende Aufspaltungs- und Umlagerungsreaktionen am Ring D gefunden.

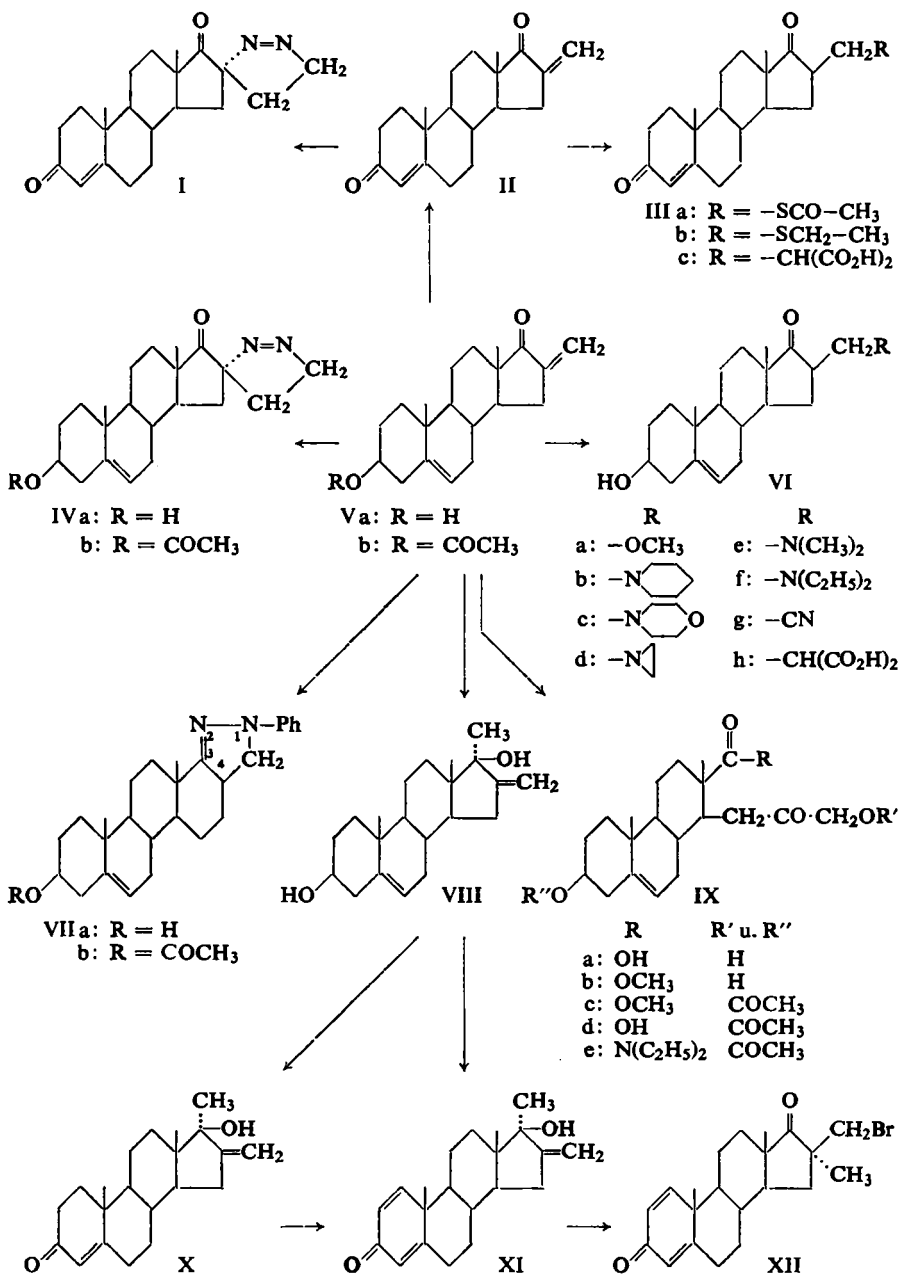
Im Verlauf von Untersuchungen zur Gewinnung möglicherweise anabol wirkender Steroide mit geringer androgener Wirkung wurde die Darstellung verschiedener, bisher unbekannter, am Ring D substituierter Steroidtypen angestrebt. Dabei erschien die 16-Methylen-17-keto-Gruppierung als ein reaktives System, das eine große Mannigfaltigkeit verschiedener Reaktionen erlauben sollte.

Als Ausgangsmaterialien der folgenden Arbeiten dienten einmal das 16-Methylen- $\Delta^5$ -androsthenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (Va) und sein Acetat (Vb), die erstmals von JULIAN und Mitarbb. dargestellt und in 16-Methyl-testosteron umgewandelt worden waren<sup>1)</sup>. Ferner wurde das 16-Methylen- $\Delta^4$ -androstendion-(3.17) (II) verwendet, das SONDHEIMER und Mitarbb.<sup>2)</sup> dargestellt und in 16-Methylen-testosteron übergeführt hatten. Das 3 $\beta$ -Acetoxy-16-methylen- $\Delta^5$ -androsthenon-(17) (Vb) konnte neuerdings außer-

<sup>1)</sup> P. L. JULIAN, E. W. MEYER und H. C. PRINTY, J. Amer. chem. Soc. 70, 3872 [1948].

<sup>2)</sup> F. NEUMANN, O. MANCERA, G. ROSENKRANZ und F. SONDHEIMER, J. Amer. chem. Soc. 77, 5676 [1955].

dem in fast quantitativer Ausbeute aus 3 $\beta$ -Acetoxy-16-methylen-20-oximino- $\Delta^5$ -pregnen durch Beckmannsche Umlagerung gewonnen werden<sup>3)</sup>.

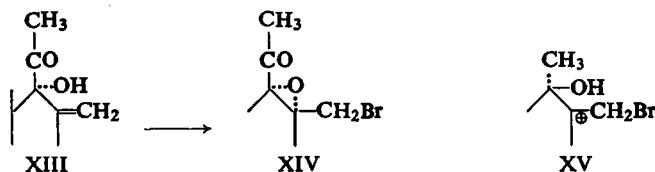


<sup>3)</sup> H. J. MANNHARDT, F. v. WERDER, K. H. BORK, H. METZ und K. BRÜCKNER, Tetrahedron Letters [London] Nr. 16, 21 [1960].

Da die Oxydation des 16-Methylen- $\Delta^5$ -androst-enol-(3 $\beta$ )-ons-(17) (Va) zum 16-Methylen- $\Delta^4$ -androstendion-(3.17) (II) bisher nur mit 18-proz. Ausbeute gelungen war<sup>2)</sup>, wurde zunächst nach einer präparativ befriedigenden Oxydationsmethode gesucht. Als solche bot sich die mikrobiologische Reaktion mit *Flavobacterium dehydrogenans* an, mit der durchschnittliche Ausbeuten von 70% erreicht werden konnten.

Im Hinblick auf die oral androgen bzw. anabol hochwirksamen 17 $\alpha$ -Methyl-Analogen des Testosterons bzw. 1-Dehydro-testosterons wurde die 17-Keto-Gruppe mit Methyl-lithium umgesetzt. Dabei resultierte aus Va in guter Ausbeute als einziges Reaktionsprodukt das 16-Methylen-17 $\alpha$ -methyl- $\Delta^5$ -androstendiol-(3 $\beta$ .17 $\beta$ ) (VIII). Die 17 $\alpha$ -Stellung der eintretenden Methylgruppe darf in Analogie zu entsprechenden Reaktionen an C-17 als sicher gelten. Für die anschließende Oxydation zum 16-Methylen-17 $\alpha$ -methyl-testosteron (X) erwies sich die schon oben erwähnte mikrobiologische Methode mittels *Flavobacterium dehydrogenans* als am besten geeignet. Die 1-Dehydrierung dieses Stoffes wurde in üblicher Weise mit *Corynebacterium simplex*<sup>4)</sup> durchgeführt, doch ließ sich interessanterweise das 1-Dehydro-16-methylen-17 $\alpha$ -methyl-testosteron (XI) in noch besserer Ausbeute mit demselben Organismus in direkter Reaktion aus 16-Methylen-17 $\alpha$ -methyl- $\Delta^5$ -androstendiol-(3 $\beta$ .17 $\beta$ ) (VIII) gewinnen. In vorläufigen Testen zeigte dieses bei etwas niedrigerer absoluter Wirkung einen noch besseren Index von anaboler zu androgener Wirkung als das 1-Dehydro-17 $\alpha$ -methyl-testosteron<sup>5)</sup>.

Vor kurzem war als Produkt der Reaktion eines 16-Methylen-17 $\alpha$ -hydroxy-20-keto-steroids (XIII) mit *N*-Brom-succinimid die Bildung des entsprechenden 16 $\beta$ -Brommethyl-16 $\alpha$ .17 $\alpha$ -oxido-20-keto-steroids (XIV) beschrieben worden<sup>6)</sup>. Im vorliegenden Fall des 1-Dehydro-16-methylen-17 $\alpha$ -methyl-testosterons (XI) entstand dagegen unter diesen Bedingungen ein Steroid, das auf Grund seiner Analyse und seiner physikalischen Eigenschaften als 16 $\alpha$ -Methyl-16 $\beta$ -brommethyl- $\Delta^{1,4}$ -androstadiendion-(3.17)



(XII) angesprochen werden muß. Im Verlaufe dieser Reaktion entsteht offenbar das Carbenium-Kation XV, das sich durch Pinakolinumlagerung stabilisiert. Die Abwesenheit einer Hydroxylbande und das Auftreten einer Carbonylbande bei 1742/cm im IR-Absorptionsspektrum, die im Verein mit der Analyse nur durch eine Ketogruppe im Ring D gedeutet werden können, beweisen die angegebene Struktur. Beide Reaktionen ließen sich auch mit elementarem Brom durchführen. Bei Anwendung von *N*-Chlor-succinimid oder Chlor entstanden die entsprechenden Chlor-steroid.

In einer weiteren Reihe von Reaktionen sollte die Additionsfähigkeit der in Konjugation zur 17-Ketogruppe stehenden 16-Methylen-Gruppe ausgenutzt werden. Sehr

<sup>4)</sup> A. NOBILE, W. CHARNEY, P. L. PERLMAN, H. L. HERZOG, C. C. PAYNE, M. E. TULLY, M. A. JEVNIK und E. B. HERZOG, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 4184 [1955].

<sup>5)</sup> E. VISCHER, CH. MEYSTRE und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **38**, 1502 [1955].

<sup>6)</sup> R. D. HOFFSOMMER, D. TAUB und N. L. WENDLER, *Chem. and Ind.* **1961**, 251.

überraschend verlief dabei die Behandlung mit alkalischem Wasserstoffperoxyd. Hierbei wurde der Ring D zwischen den C-Atomen 16 und 17 aufgespalten und die 16-Hydroxymethyl-16.17-seco- $\Delta^5$ -androsthenol-(3 $\beta$ )-on-(16)-säure-(17) (IXa) erhalten. Die Konstitution dieses Stoffes wurde durch folgende Reaktionen erhärtet: Verätherung mit Diazomethan lieferte einen Methylester (IXb), dieser ließ sich durch Behandlung mit Acetanhydrid/Pyridin in ein Diacetat (IXc) überführen, das wiederum ein einheitliches Oxim lieferte. Die freie Säure ergab ebenfalls ein Diacetat (IXd), das sich in ein Diäthylamid (IXe) umwandeln ließ. Mit diesen Befunden schien uns die Konstitution dieses interessanten Aufspaltungsproduktes genügend bestätigt zu sein.

Den erwarteten normalen Verlauf nahmen dagegen die folgenden Additionsreaktionen: Addition von Diazomethan an II und V lieferte die Spiro-Steroide I und IV<sup>7)</sup>, deren sterische Konfiguration nicht untersucht wurde, jedoch ist die  $\alpha$ -Stellung der Stickstoffatome wahrscheinlich.

Gleichfalls normal und fast immer in besten Ausbeuten verliefen die Anlagerungen zu den substituierten 16-Methyl-steroiden III und VI. Die Methylengruppe erwies sich dabei als äußerst reaktionsfähig. Alle Additionen wurden bei Raumtemperatur unter Zusatz von Säuren oder Basen als Katalysator durchgeführt. Teilweise verliefen die Reaktionen sogar exotherm. Im einzelnen wurden addiert: Methanol, Basen wie Piperidin, Morpholin, Äthylennimin, ferner Blausäure, Thioessigsäure, Äthylmercaptan und Malonsäure.

Die Reaktionen lieferten einheitliche Stoffe, deren Konfiguration bezüglich der Stellung der substituierten 16-Methylgruppe wie folgt untersucht wurde. Aus der Literatur<sup>8)</sup> ist ausführlich bekannt, daß 16 $\beta$ -substituierte Steroide eine positivere Drehung als die entsprechenden 16 $\alpha$ -substituierten Substanzen besitzen. Für den eigenen Fall wurden daher die optischen Drehungen der mittels Mannich-Reaktion gewonnenen 16-aminomethyl-substituierten 17-Keto-steroiden<sup>1)</sup> und der durch Addition an die Methylengruppe entstandenen Steroide verglichen. Die Produkte aus beiden Reaktionstypen waren nicht identisch und wiesen charakteristische Drehungsdifferenzen auf. Die anschließende Tabelle zeigt, daß die durch JULIAN hergestellten Produkte der Mannich-Reaktion die negativere Drehung besitzen und somit als 16 $\alpha$ -Aminomethylsteroiden betrachtet werden müssen, die durch Anlagerung von Aminen an die 16-Methylen-17-keto-steroiden gewonnenen Produkte dagegen als 16 $\beta$ -substituiert.

	Mannich-Reaktion	Anlagerung
16-Dimethylaminomethyl-	-62.3°	± 0°
16-Diäthylaminomethyl-	-90.7°	+ 12°
16-Piperidinomethyl-	-76°	+ 33°

(Die Drehungen wurden in Chloroform gemessen und beziehen sich auf die entsprechenden Abkömmlinge des  $\Delta^5$ -Androsthenol-(3 $\beta$ )-ons-(17)).

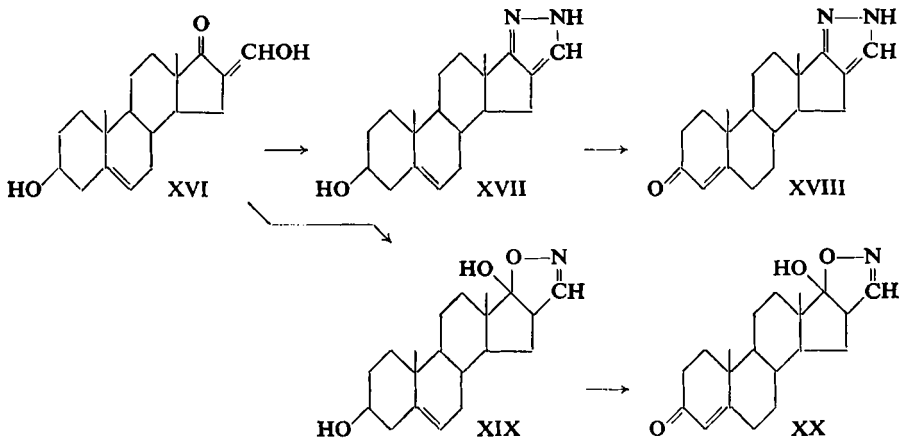
<sup>7)</sup> D. TAUB, R. D. HOFFSOMMER, H. L. SLATES, C. H. KUO und N. L. WENDLER, J. Amer. chem. Soc. **82**, 4012 [1960], beschreiben ein analoges Steroid.

<sup>8)</sup> D. K. FUKUSHIMA und T. F. GALLAGHER, J. Amer. chem. Soc. **73**, 196 [1951]; D. GOULD, E. L. SHAPIRO, L. E. FINCKENOR, F. GRUEN und E. B. HERSHBERG, J. Amer. chem. Soc. **78**, 3158 [1956]; J. FAJKOŠ, Chem. Listy **48**, 1800 [1954] und Collect. czechoslov. chem. Commun. **20**, 312 [1955].

Gleichzeitig dürften damit auch alle anderen durch Addition an die 16-Methylen-Gruppe gewonnenen Steroide (III, VI) als 16 $\beta$ -substituiert zu betrachten sein. Die Ergebnisse zeigen, daß sowohl die im Verlauf der Mannich-Reaktion erfolgende Herausnahme eines 16-ständigen Protons als auch der Eintritt des Protons in 16-Stellung im Verlauf der Additionsreaktionen von der sterisch begünstigten  $\alpha$ -Seite erfolgen.

Auch die 16 $\beta$ -aminomethyl-substituierten Steroide lassen sich leicht durch Wasserdampfdestillation zum 16-Methylen- $\Delta^5$ -androst-enol-(3 $\beta$ )-on (17) abbauen.

Von Interesse erschien uns weiterhin die Darstellung von heterocyclisch am Ring D substituierten Steroiden, dies besonders im Hinblick auf die ausgezeichnet anabol wirkenden, am Ring A heterocyclisch substituierten Steroid[3.2-c]pyrazole<sup>9)</sup> und -[2.3-d]isoxazole<sup>10)</sup>.



Ausgehend vom 3 $\beta$ -Acetoxy-16-methylen- $\Delta^5$ -androst-enol-(17) (Vb) gelang die Darstellung eines Pyrazolins lediglich bei Umsetzung mit Phenylhydrazin. Hier ließ sich das 1'-Phenyl- $\Delta^2$ -pyrazolino-[4'.3':16.17]- $\Delta^5$ -androst-enol-(3 $\beta$ )-acetat (VII b) in guter Ausbeute darstellen, dessen Struktur durch das UV-Absorptionsspektrum (Maxima bei 251 und 280 m $\mu$ )<sup>11)</sup> und das Fehlen einer NH-Schwingung im IR-Absorptionsspektrum gesichert ist. Nachdem jedoch die Darstellung nicht phenyl-substituierter Pyrazoline auf Schwierigkeiten stieß, wurde zur Darstellung dieser Heterocyclen das 16-Hydroxymethylen- $\Delta^5$ -androst-enol-(3 $\beta$ )-on-(17) (XVI)<sup>12)</sup> verwendet. So wurde durch Umsetzung mit Hydrazin in hoher Ausbeute das Pyrazolo-

<sup>9)</sup> R. O. CLINTON, A. J. MANSON, F. W. STONNER, A. L. BEYLER, G. O. POTTS und A. ARNOLD, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 1513 [1959]; R. D. CLINTON, A. J. MANSON, F. W. STONNER, H. C. NEUMANN, R. G. CHRISTIANSEN, R. L. CLARKE, J. H. ACKERMANN, D. F. PAGE, J. W. DEAN, W. B. DICKINSON und CARABATEAS, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 1478 [1961].

<sup>10)</sup> R. O. CLINTON, A. J. MANSON, F. W. STONNER, R. G. CHRISTIANSEN, A. L. BEYLER, G. O. POTTS und A. ARNOLD, *J. org. Chemistry* **26**, 279 [1961]; J. A. ZDERIC, O. HALPERN, H. CARPIO, A. RUIZ, D. C. LIMON, L. MAGANA, H. JIMONEZ, A. BOWERS und H. J. RINGOLD, *Chem. and Ind.* **1960**, 1625.

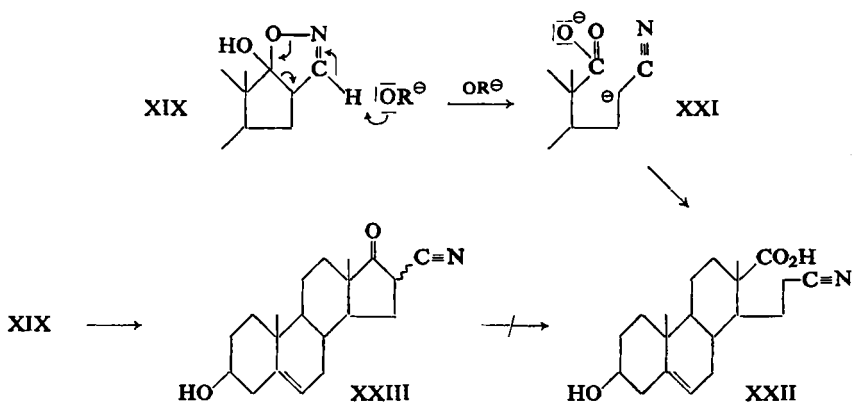
<sup>11)</sup> G. F. DUFFIN und J. D. KENDALL, *J. chem. Soc. [London]* **1954**, 408.

<sup>12)</sup> L. RUZICKA, V. PRELOG und J. BATTEGAY, *Helv. chim. Acta* **31**, 1296 [1948]. Zur Synthese anderer heterocyclischer Steroid-Derivate bereits verwendet von B. G. KETCHEON und A. TAURINS, *Canad. J. Chem.* **38**, 972 [1960].

[4'.3':16.17]- $\Delta^5$ -androst-enol-(3 $\beta$ ) (XVII) gewonnen, das anschließend durch mikrobiologische Reaktion zum Pyrazolo-[4'.3':16.17]- $\Delta^4$ -androst-enon-(3) (XVIII) oxydiert werden konnte.

Überraschenderweise entstand bei der Umsetzung des Hydroxymethylenketons XVI mit Hydroxylamin ebenfalls ein Heterocyclus, obwohl es nach W. S. JOHNSON und Mitarbb.<sup>13)</sup> als Fünfring-Hydroxymethylenketon ein Bis-[1-keto-2-cyclopentyliden-methyl]-hydroxylamin hätte bilden sollen. Im Gegensatz zu diesen farbigen intermolekularen Reaktionsprodukten war unsere Substanz farblos. Sie zeigte keine selektive UV-Absorption oberhalb von 205  $m\mu$ ; das IR-Spektrum wies keine Carbonylbande und keine NH-Bande, wohl aber eine C=N-Doppelbindungsbande auf. Nach der Analyse enthielt sie 1 Mol. Wasser mehr als das entsprechende hypothetische Isoxazol. Danach handelte es sich um das durch Halbacetalbildung des Aldehydoxims mit der 17-Ketogruppe gebildete  $\Delta^{2'}$ -Isoxazolino-[4'.5':16.17]- $\Delta^5$ -androstendiol-(3 $\beta$ .17) (XIX). Es ist in seiner Struktur dem aus Sechsring-Hydroxymethylenketon gebildeten Isoxazol analog, doch scheint am gespannten Steroidfünfring die Dehydratisierung zum Isoxazol sehr erschwert zu sein. Wasserabspaltungsversuche mit Eisessig verliefen negativ. Uns ist kein ähnlicher Fall eines stabilen 5-Hydroxy-isoxazolins bekannt.

Das Isoxazolin XIX bildete bei der Behandlung mit Natriummethylat bei Raumtemperatur wie die Isoxazole<sup>13, 14)</sup> ein alkalilösliches Nitril; jedoch besaß die alkalische Lösung des Nitrils im Gegensatz zu denen der  $\alpha$ -Nitriloketone keine UV-Absorption. Vielmehr entstand aus dem Isoxazolin XIX in fast quantitativer Ausbeute die Nitrilcarbonsäure XXII, wobei der Ring D auf eine bisher unbekannte und sehr milde Weise geöffnet wurde. Die Reaktion könnte nach folgendem Mechanismus ablaufen:



Bei noch milderer Behandlung dagegen, z. B. mit Methylat bei  $-30^\circ$  oder mit methanolischer Kalilauge bei Raumtemperatur, entstand aus dem Isoxazolin XIX das 16-Cyan- $\Delta^5$ -androst-enol-(3 $\beta$ )-on-(17) (XXIII). Dieses ließ sich durch Methylatbehandlung bei Raumtemperatur nicht zur Nitrilcarbonsäure XXII aufspalten.

<sup>13)</sup> W. J. JOHNSON und W. E. SHELBERG, J. Amer. chem. Soc. 67, 1745 [1945]; W. S. JOHNSON, J. M. ANDERSON und W. E. SHELBERG, J. Amer. chem. Soc. 66, 218 [1944].

<sup>14)</sup> F. WINTERNITZ, C. MENOU und E. ARNAL, Bull. soc. chim. France 1960, 505.

Wie das Pyrazol XVII ließ sich auch das Isoxazolin XIX mikrobiologisch zum entsprechenden  $\Delta^4$ -En-3-keton XX oxydieren.

Über die pharmakologischen Eigenschaften der neuen Verbindungen wird an anderer Stelle ausführlicher berichtet werden.

Herrn Dr. B. HAMPEL danken wir für die Aufnahme und Diskussion der UV- und IR-Spektren.

#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert; die UV-Absorptionsspektren wurden in Äthanol gemessen. Die Analysen wurden im analytischen Laboratorium der Firma E. MERCK AG unter Leitung von Dr. M. HOCHENEGGER durchgeführt.

*16-Methylen- $\Delta^4$ -androstendion-(3.17)<sup>2)</sup> (II)*: In einem Versuchsfermenter von 130 l Gesamtvolumen wurden 100 l einer Nährlösung aus 0.3% Glucose, 0.1% Hefeextrakt, 0.1% Ammoniumchlorid, 0.05% Magnesiumsulfat und mit Phosphatpuffer nach Sørensen auf pH 7 gepuffert, mit 8 l einer 19 Stdn. alten Submerskultur von *Flavobacterium dehydrogenans* var. *hydrolyticum* beimpft. Nach 20 Stdn. Wachstum bei 28° unter Rühren und starker Belüftung wurden 65 g *16-Methylen- $\Delta^5$ -androstenol-(3 $\beta$ )-on-(17)* (Va) in 1 l Methanol zugesetzt. Die Umsetzung wurde durch halbstündliche Proben dünn-schichtchromatographisch verfolgt. 3 Stdn. nach dem Zusatz war das Ausgangsmaterial umgesetzt, nach 4 Stdn. wurde der Ansatz abgebrochen. Die Fermentationslösung wurde anschließend mit Chloroform extrahiert, der Chloroformauszug in Vakuum eingedunstet und der Rückstand mit Petroläther digeriert. Es kristallisierten 50 g rohes II mit einem Schmp. von 152–155°. Aus Aceton umkristallisiert, schmolz das Produkt bei 161–162° (Ausbeute 41 g).

*16-Methylen-17 $\alpha$ -methyl- $\Delta^5$ -androstendiol-(3 $\beta$ .17 $\beta$ ) (VIII)*: 70 g *16-Methylen- $\Delta^5$ -androstenol-(3 $\beta$ )-on-(17)* (Va) wurden in 3.7 l absol. Tetrahydrofuran gelöst und unter Eiskühlung mit 25.6 g *Methyl-lithium* in 2.95 l Tetrahydrofuran versetzt. Nach 3 stündiger Aufbewahrung bei Raumtemperatur wurde die Lösung in 10 l Wasser eingegossen, mit Äther extrahiert, der Ätherauszug mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedunstet. Aus Methanol kristallisierten 56 g VIII, Schmp. 180–181°;  $[\alpha]_D$ :  $-136^\circ$  (in Dioxan).

$C_{21}H_{32}O_2$  (316.5) Ber. C 79.70 H 10.19 Gef. C 78.81 H 10.45

*16-Methylen-17 $\alpha$ -methyl-testosteron (X)*: In 2 parallel laufenden Kleinfärmenter-Versuchen wurden je 17 g VIII in 350 ccm Methanol einer 20 Stdn. alten 15-l-Kultur von *Flavobacterium dehydrogenans* var. *hydrolyticum* zugesetzt (Nährlösung: 0.4% Glucose, 0.15% Hefeextrakt, 0.1% Ammoniumchlorid, 0.05% Magnesiumsulfat, mit Sørensen-Phosphatpuffer auf pH 7 gepuffert). Die Kultur wurde bei 28° stark belüftet und gerührt, die Umsetzung wurde dünn-schichtchromatographisch verfolgt und war nach 5 Stdn. beendet; nach 6 Stdn. wurde der Ansatz abgebrochen. Die Fermentationslösung wurde anschließend mit Chloroform extrahiert, der Auszug mit Wasser gewaschen, eingedunstet und der Rückstand anschließend über 50 g Aluminiumoxyd (Aktivitätsstufe II, neutral) chromatographiert. Aus den Chloroformfraktionen kristallisierten 8.2 g X aus Cyclohexan; Schmp. 144–146°;  $[\alpha]_D$ :  $-5^\circ$  (in Dioxan);  $\lambda_{max}$  240 m $\mu$ ,  $\epsilon = 17750$ .

$C_{21}H_{30}O_2$  (314.5) Ber. C 80.21 H 9.62 Gef. C 79.98 H 9.65

*Oxim*: Aus Aceton Schmp. 235–237°;  $[\alpha]_D$ :  $+47^\circ$  (in Dioxan);  $\lambda_{max}$  240 m $\mu$ ,  $\epsilon = 19300$ .

$C_{21}H_{31}NO_2$  (329.5) Ber. C 76.55 H 9.48 N 4.25 Gef. C 76.84 H 9.56 N 4.30

*1-Dehydro-16-methylen-17 $\alpha$ -methyl-testosteron (XI)*: a) 3.6 g X wurden in 200 ccm Methanol einer 5 Stdn. alten 12-l-Kleinfärmenter-Kultur von *Corynebacterium simplex* zugesetzt

(Nährlösung: 0.05% Basamin Bush, 0.05% Pepton aus Fleisch, mit Sörensen-Phosphatpuffer auf pH 7.0 gepuffert). Unter starkem Belüften und Rühren bei 28° wurde X innerhalb von 14 Stdn. restlos zu XI umgesetzt. Die Fermentationslösung wurde mit Chloroform extrahiert, dann wie üblich aufgearbeitet, der Rückstand in Benzol über Aluminiumoxyd chromatographiert und die gesammelte Benzolfraktion aus Cyclohexan kristallisiert. Das gereinigte XI schmolz bei 145–148°;  $[\alpha]_D$ :  $-101^\circ$  (in Dioxan);  $\lambda_{\max}$  244 m $\mu$ ,  $\epsilon = 17300$ .

$C_{21}H_{28}O_2$  (312.5) Ber. C 80.73 H 9.03 Gef. C 80.70 H 9.22

*Oxim*: Schmp. 209–213°;  $[\alpha]_D$ :  $-35^\circ$  (in Dioxan);  $\lambda_{\max}$  245 m $\mu$ ,  $\epsilon = 16450$ .

$C_{21}H_{29}NO_2$  (327.5) Ber. C 77.03 H 8.93 N 4.28 Gef. C 77.31 H 9.10 N 4.40

b) In zwei parallel laufenden 12-l-Kleinfärmer-Versuchen wurden je 7 g VIII einer 8 Stdn. alten Kultur von *Corynebacterium simplex* zugesetzt (Nährlösung: 0.05% Basamin Bush, 0.05% Pepton aus Fleisch, auf pH 7.0 gepuffert). Nach 10 Stdn. Laufzeit unter starkem Belüften und Rühren bei 28° wurde die Fermentation abgebrochen, nachdem dünn-schicht-chromatographisch die restlose Umsetzung von VIII zu XI nachgewiesen worden war. Während der Umsetzung ließ sich X als Zwischenprodukt nachweisen. Die Fermentations-lauge wurde wie üblich aufgearbeitet, der Rückstand in benzolischer Lösung über Aluminiumoxyd filtriert, die gereinigte Lösung danach eingengt und der Rückstand aus Cyclohexan kristallisiert. Es wurden 7.2 g des oben beschriebenen XI erhalten.

*16 $\alpha$ -Methyl-16 $\beta$ -brommethyl- $\Delta^{1,4}$ -androstadiendion-(3.17) (XII)*: Eine Lösung von 2 g XI in 40 ccm Dioxan wurde mit 1.25 g *N-Brom-succinimid* und 8 ccm 10-proz. Perchlorsäure versetzt. Nach einstünd. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde das Gemisch in Wasser eingegossen, der Niederschlag abgesaugt und aus Methanol umkristallisiert. Das reine XII schmolz bei 204–205°;  $\lambda_{\max}$  242–244 m $\mu$ ,  $\epsilon = 15700$ ; Ausb. 1.5 g.

$C_{21}H_{27}BrO_2$  (391.4) Ber. C 64.45 H 6.95 Br 20.42 Gef. C 63.70 H 6.94 Br 20.65

*16-Hydroxymethyl-16.17-seco- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(16)-säure-(17) (IXa)*: Zu einer Lösung von 20 g Va in 2 l Methanol wurde eine Lösung von 7 g Natriumhydroxyd in 70 ccm Wasser gegeben, das Ganze auf +15° abgekühlt, mit 132 g 30-proz. Hydroperoxyd versetzt und 4 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit 4 l Wasser versetzt, mit Essigsäure angesäuert und mehrfach mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformextrakte wurden mit Wasser gewaschen, eingengt, i. Vak. abgezogen und der harzige Rückstand in 3 Vol. heißem Aceton gelöst. Beim Erkalten kristallisierte IXa aus, das isoliert und nochmals aus Aceton umkristallisiert wurde. Die reine Säure schmolz bei 227–228°;  $[\alpha]_D$ :  $-61^\circ$  (in Dioxan); Ausb. 30% d. Th.

$C_{20}H_{30}O_5$  (350.5) Ber. C 68.55 H 8.63 Gef. C 68.66 H 8.63

Äquivalentgewicht durch Titration der in 50-proz. Äthanol gelösten Substanz mit Natron-lauge und Phenolphthalein als Indikator: 0.1060 g Subst.: 3.20 ccm  $n/10$  NaOH.

Ber. für eine Monocarbonsäure 350.4 Gef. 331.2

*16-Hydroxymethyl-16.17-seco- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(16)-säure-(17)-methylester (IXb)*: 5 g IXa wurden in 200 ccm Tetrahydrofuran gelöst und mit einer äther. Diazomethanlösung versetzt, die aus 20 g Nitrosomethylharnstoff, 60 ccm 40-proz. Kalilauge und 500 ccm Äther bereitet worden war. Nach dreitägigem Aufbewahren bei Raumtemperatur wurde das überschüss. Diazomethan durch Zusatz von Essigsäure zerstört, die Lösung eingengt und i. Vak. abgezogen. Aus Äther kristallisierte IXb, das, aus Methylacetat umkristallisiert, bei 207° schmolz;  $[\alpha]_D$ :  $-81^\circ$  (in Chlf.).

$C_{21}H_{32}O_5$  (364.5) Ber. C 69.20 H 8.85 Gef. C 69.49 H 8.97



*3 $\beta$ -Acetoxy-16-acetoxymethyl-16.17-seco- $\Delta^5$ -androstenon-(16)-säure-(17)-methylester (IXc)*: 1 g IXb wurde in 10 ccm trockenem Pyridin gelöst und mit 3 ccm *Acetanhydrid* versetzt. Nach 24stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur ließ man das Ganze unter Rühren und Eiskühlung in 100 ccm 5-proz. Salzsäure eintropfen. Die Fällung von IXc wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Äther/Petroläther umkristallisiert. Schmp. 98°;  $[\alpha]_D$ : -75° (in Chlf.).

$C_{25}H_{36}O_7$  (448.6) Ber. C 66.94 H 8.09 Gef. C 67.08 H 8.24

*Oxim*: Aus Methanol Schmp. 181–182°;  $[\alpha]_D$ : -38° (in Chlf.).

$C_{25}H_{37}NO_7$  (463.6) Ber. C 64.78 H 8.05 Gef. C 64.34 H 8.33

*3 $\beta$ -Acetoxy-16-acetoxymethyl-16.17-seco- $\Delta^5$ -androstenon-(16)-säure-(17)-diäthylamid (IXe)*: Mit *Acetanhydrid* in Pyridin wurde aus IXa *3 $\beta$ -Acetoxy-16-acetoxymethyl-16.17-seco- $\Delta^5$ -androstenon-(16)-säure-(17)* (IXd) erhalten, die nach Umkristallisieren aus Aceton bei 262° schmolz;  $[\alpha]_D$ : -75° (Chlf.). 2 g IXd wurden mit einem Gemisch von 20 ccm über Leinöl destilliertem Thionylchlorid und 20 ccm Chloroform 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in 40 ccm absol. Äther gelöst, nach Zusatz von 2 ccm *Diäthylamin*  $\frac{1}{2}$  Stde. unter Rückfluß gekocht, das ausgeschiedene Diäthylaminhydrochlorid abgesaugt und mit absol. Äther ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit verd. Salzsäure und mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingengt. Die nach Aufbewahrung bei +4° abgeschiedenen Kristalle von IXe wurden isoliert. Schmp. 84° (aus Essigester);  $[\alpha]_D$ : -43° (in Chlf.).

$C_{28}H_{43}NO_6$  (489.7) Ber. C 68.68 H 8.85 N 2.86 Gef. C 68.49 H 8.91 N 2.81

*[3 $\beta$ -Acetoxy- $\Delta^5$ -androstenon-(17)]-16-spiro-3'-[ $\Delta^1$ '-pyrazolin] (IVb)*: Zu einer Suspension von 10 g *3 $\beta$ -Acetoxy-16-methylen- $\Delta^5$ -androstenon-(17)* (Vb) in 300 ccm Äther wurde eine äther. *Diazomethanlösung* gegeben, die aus 20 g Nitrosomethylharnstoff, 60 ccm 40-proz. Kalilauge und 250 ccm Äther bereitet worden war. Das Gemisch wurde unter gelegentlichem Umschütteln 6 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen, dann zur Zerstörung überschüss. Diazomethans mit Essigsäure versetzt und eingengt. Das aus der gekühlten Lösung isolierte IVb wurde zweimal aus Aceton umkristallisiert; Ausb. 6 g; Schmp. 163–164°;  $[\alpha]_D$ : +382° (in Chlf.).

$C_{23}H_{32}N_2O_3$  (384.5) Ber. C 71.84 H 8.39 Gef. C 72.20 H 8.49

*[ $\Delta^5$ -Androstenol-(3 $\beta$ )-on-(17)]-16-spiro-3'-[ $\Delta^1$ '-pyrazolin] (IVa)*: 5 g Va wurden in 167 ccm Äther und 30 ccm Dioxan gelöst, mit einer Lösung von 3.5 g *Diazomethan* in 90 ccm Äther versetzt und über Nacht stehengelassen. Die ausgefallenen Kristalle wurden abgesaugt und aus Aceton umkristallisiert. Ausb. 3.2 g IVa; Schmp. 157°;  $[\alpha]_D$ : +425° (in Dioxan).

$C_{21}H_{30}N_2O_2$  (342.5) Ber. C 73.65 H 8.83 N 8.18 Gef. C 73.35 H 8.80 N 8.39

*[ $\Delta^4$ -Androstendion-(3.17)]-16-spiro-3'-[ $\Delta^1$ '-pyrazolin] (I)*: 3 g II wurden in 10 ccm Äther und 40 ccm Dioxan gelöst, mit einer Lösung von 2.11 g *Diazomethan* in 50 ccm Äther versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Der Überschuß an *Diazomethan* wurde mit Essigsäure zerstört und die Lösung i. Vak. bei max. 50° bis zum Rückstand abgezogen. Aus etwas Methanol und Äther kristallisierten 2.6 g I; Schmp. 141–142°;  $[\alpha]_D$ : +547° (in Dioxan);  $\lambda_{max}$  239 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 18600.

$C_{21}H_{28}N_2O_2$  (340.5) Ber. C 74.09 H 8.29 N 8.23 Gef. C 73.80 H 8.43 N 8.24

*16 $\beta$ -Methoxymethyl- $\Delta^5$ -androstenol-(3 $\beta$ )-on-(17)* (VIa): 1 g Vb wurde in 20 ccm *Methanol* mit 1.82 ccm *Acetylchlorid* in Portionen versetzt und 24 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Danach wurde das Reaktionsgemisch mit Äther verdünnt, die Lösung mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingengt, zum Schluß

i. Vak. Der Rückstand von *V Ia* kristallisierte aus Aceton. Ausb. 0.4 g; Schmp. 132–133°;  $[\alpha]_D$ : +31° (in Dioxan).

$C_{21}H_{32}O_3$  (332.5) Ber. C 75.87 H 9.70 Gef. C 75.50 H 9.78

16 $\beta$ -Piperidinomethyl- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (*VIb*): 3 g *V a* wurden mit 15 ccm *Piperidin* und 8.7 ccm 37-proz. Kalilauge über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Das Gemisch wurde mit Wasser verdünnt, die Kristalle wurden abgesaugt und aus Essigester umkristallisiert, Ausb. 3.6 g *VIb*; Schmp. 143–144°;  $[\alpha]_D$ : +33° (in Dioxan).

$C_{25}H_{39}NO_2$  (385.6) Ber. C 77.87 H 10.20 N 3.63 Gef. C 77.67 H 10.32 N 3.70

16 $\beta$ -Morpholinomethyl- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (*VIc*): 1 g *V a* wurde mit 5 ccm *Morpholin* und 2.9 ccm 37-proz. Kalilauge über Nacht stehengelassen. Danach wurde das Ganze in Wasser gegossen und das erhaltene Kristallinat aus Essigester umkristallisiert. Ausb. 0.6 g *VIc*; Schmp. 161–162°;  $[\alpha]_D$ : +88° (in Dioxan).

$C_{24}H_{37}NO_3$  (387.6) Ber. C 74.38 H 9.62 N 3.61 Gef. C 74.11 H 9.64 N 3.80

16 $\beta$ -Äthyleniminomethyl- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (*VI d*): 5 g *V b* wurden mit 25 ccm *Äthylenimin* und 14.5 ccm 37-proz. Kalilauge über Nacht verschlossen stehengelassen, danach in Wasser eingerührt und die erhaltenen Kristalle aus Essigester umkristallisiert. Ausb. 4.1 g *VI d*; Schmp. 168–169°;  $[\alpha]_D$ : +37° (in Dioxan).

$C_{22}H_{33}NO_2$  (343.5) Ber. C 76.92 H 9.68 N 4.08 Gef. C 76.70 H 9.78 N 4.15

16 $\beta$ -Dimethylaminomethyl- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (*VI e*): 25 g *V a* wurden in 250 ccm Dioxan, welche 108 g *Dimethylamin* enthielten, gelöst, mit 72.5 ccm 37-proz. Kalilauge versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach Eingießen in Wasser wurden die Kristalle abgesaugt, getrocknet und aus Aceton umkristallisiert. Ausb. 18.5 g; Schmp. 130–131°;  $[\alpha]_D$ :  $\pm 0^\circ$  (in Chlf.).

$C_{22}H_{35}NO_2$  (345.5) Ber. C 76.48 H 10.21 N 4.05 Gef. C 75.93 H 10.41 N 4.24

16 $\beta$ -Diäthylaminomethyl- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (*VI f*): 10 g *V a* wurden zu einer Mischung von 50 g *Diäthylamin* in 100 ccm Dioxan gegeben. Nachdem alles gelöst war, wurden 100 ccm 37-proz. Kalilauge zugefügt. Das Ganze blieb über Nacht bei Raumtemperatur stehen und wurde danach in Wasser eingerührt. Der Niederschlag von *VI f* wurde aus Aceton/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 9.5 g; Schmp. 78–84°;  $[\alpha]_D$ : +12.0° (in Chlf.).

$C_{24}H_{39}NO_2$  (373.6) Ber. C 77.16 H 10.52 N 3.75 Gef. C 76.62 H 10.69 N 3.60

16 $\beta$ -Cyanmethyl- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (*VI g*): 10 g *V a* wurden in 1.5 l *Dimethylformamid* gelöst, mit 130 g *Kaliumcyanid* in 600 ccm Wasser versetzt und 1.5 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Danach wurde das Gemisch mit Wasser verdünnt, mit Chloroform extrahiert, die Chloroformlösung mit Wasser gewaschen, getrocknet und i. Vak. eingengt. Aus Äther kristallisierte *VI g*, das, aus Chloroform/Essigester umkristallisiert, bei 166–168° schmolz;  $[\alpha]_D$ : +27° (in Dioxan); Ausb. 9.0 g.

$C_{21}H_{29}NO_2$  (327.5) Ber. N 4.28 Gef. N 4.10

16 $\beta$ -[ $\beta$ -*Dicarboxy-äthyl*]- $\Delta^5$ -androgenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (*VI h*): 537 mg Natrium wurden in 74 ccm Alkohol gelöst, mit 4.67 g *Malonsäure-diäthylester* und 2 g *V b* versetzt und unter Feuchtigkeitsschutz 3 Stdn. auf dem Dampfbad unter Rückfluß gekocht. Danach wurde eine Lösung von 8 g Kaliumhydroxyd in 50 ccm 50-proz. Äthanol zugefügt, das Ganze mit 500 ccm Wasser verdünnt, dann zur Abtrennung von Spuren Ausgangsmaterial ausgeäthert. Die wäßrige Lösung wurde nun mit Salzsäure angesäuert, mit Äther extrahiert, der Ätherauszug mit Wasser gewaschen und eingengt. Aus Aceton/Petroläther kristallisierten 1.3 g *VI h* vom Schmp. 163–164°;  $[\alpha]_D$ : +4° (in Dioxan).

$C_{23}H_{32}O_6$  (404.5) Ber. C 68.29 H 7.97 Gef. C 68.32 H 8.20

16 $\beta$ -Acetylmercaptomethyl- $\Delta^4$ -androstendion-(3.17) (IIIa): 3 g II wurden mit 3 ccm Thioessigsäure unter CaCl<sub>2</sub>-Verschluß 1 Stde. bei Raumtemperatur stehengelassen. Das Reaktionsgemisch erwärmte sich von selbst und wurde anschließend i. Vak. bei max. 60° zur Trockne eingeengt. Aus Methanol kristallisierten 2.9 g IIIa; Schmp. 127–128°;  $[\alpha]_D$ : +152° (in Dioxan);  $\lambda_{\max}$  237.5 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 20800.

C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>S (374.5) Ber. C 70.55 H 8.07 S 8.65 Gef. C 70.06 H 8.18 S 8.57

16 $\beta$ -Äthylmercaptomethyl- $\Delta^4$ -androstendion-(3.17) (IIIb): 3 g II wurden mit 9 ccm Äthylmercaptan und 3 Tropfen Piperidin bei Raumtemperatur stehengelassen. Das Reaktionsgemisch erwärmte sich und wurde nach 1 Stde. i. Vak. zur Trockne eingeengt. Aus Essigester kristallisierten 3.0 g IIIb; Schmp. 107–108°;  $[\alpha]_D$ : +172° (in Dioxan);  $\lambda_{\max}$  240 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 18000.

C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>S (360.6) Ber. S 8.89 Gef. S 8.70

16 $\beta$ -[ $\beta$ -Dicarboxy-äthyl]- $\Delta^4$ -androstendion-(3.17) (IIIc): 1.54 g Natrium wurden in 212 ccm Äthanol gelöst, mit 13.38 g Malonsäure-diäthylester und 5 g II versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Danach wurde eine Lösung von 22.9 g Kaliumhydroxyd in 143.5 ccm 50-proz. Äthanol zugefügt, das Ganze mit 1 l Wasser verdünnt, mit Äther extrahiert und der Ätherauszug verworfen. Anschließend wurde der wäßrige Teil angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt, der Ätherauszug mit Wasser gewaschen und zum Rückstand abdestilliert. Aus Essigester kristallisierten 4.5 g IIIc vom Schmp. 239–240°;  $[\alpha]_D$ : +131° (in Dioxan);  $\lambda_{\max}$  240 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 16800.

C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> (402.5) Ber. C 68.64 H 7.51 Gef. C 68.30 H 7.63

1'-Phenyl- $\Delta^2$ -pyrazolino-[4'.3':16.17]- $\Delta^5$ -androsthenol-(3 $\beta$ )-acetat (VIIb): Eine Lösung von 1 g Vb in 10 ccm Eisessig wurde mit 0.3 ccm Phenylhydrazin 17 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen und danach in 200 ccm Wasser eingegossen. Die ausgefällten Kristalle vom Rohschmp. 160–170° wurden mehrmals aus Chloroform/Methanol umkristallisiert. Schmp. 192–197°;  $\lambda_{\max}$  251.5, 280 m $\mu$ ;  $\epsilon$  = 10000, 11500.

C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (432.6) Ber. C 77.74 H 8.39 N 6.48 Gef. C 77.55 H 8.60 N 6.85

Wurde die Reaktion in Äthanol unter Rückfluß im Stickstoffstrom durchgeführt, so war die Ausbeute geringer.

Der entsprechende freie Alkohol, das 1'-Phenyl- $\Delta^2$ -pyrazolino-[4'.3':16.17]- $\Delta^5$ -androsthenol-(3 $\beta$ ) (VIIa) wurde durch 2stdg. Erhitzen von 0.35 g VIIb in 10 ccm Pyridin mit 1 ccm Wasser und 68 mg Natriumhydroxyd auf 100° erhalten. Schmp. 258–261° (aus Chloroform/Methanol);  $\lambda_{\max}$  250, 280 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 10700, 11800.

C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O (390.6) Ber. C 79.96 H 8.78 N 7.17 Gef. C 79.85 H 9.00 N 7.10

Pyrazolo-[4'.3':16.17]- $\Delta^5$ -androsthenol-(3 $\beta$ ) (XVII): a) 20 g 16-Hydroxymethylen- $\Delta^5$ -androsthenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (XVI) wurden mit 4.1 g 85-proz. Hydrazinhydrat, 230 ccm Methanol und 10 ccm Wasser 10 Min. unter Rückfluß erhitzt. Danach wurde das Ganze filtriert, auf das halbe Vol. eingeengt und abgekühlt. Es kristallisierten 11.3 g des Pyrazols vom Schmp. 250–251°, aus der Mutterlauge weitere 7.2 g vom Schmp. 248–250°. Umkristallisation aus Methanol ergab 15.3 g des reinen Pyrazols vom Schmp. 259°;  $[\alpha]_D^{25}$ : –59° (in Chlf.);  $\lambda_{\max}$  223–224 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 5930; IR-Bande bei 1580/cm.

C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O (312.5) Ber. C 76.88 H 9.03 N 8.97 Gef. C 77.13 H 9.35 N 8.76

b) 6 g XVI wurden mit 2.3 g 85-proz. Hydrazinhydrat in 350 ccm 95-proz. Äthanol 90 Min. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach Einengen auf 160 ccm wurde das Gemisch abgekühlt. Es kristallisierten 3.8 g des Pyrazols vom Schmp. 252–255°, aus der Mutterlauge

weitere 1.8 g vom Schmp. 251°. Umkristallisieren aus Methanol ergab 4.7 g des reinen Pyrazols vom Schmp. 259°.

*Pyrazolo-[4'.3':16.17]- $\Delta^4$ -androstenon-(3) (XVIII)*: Ein Kleinfemter von 20 l Inhalt mit 15 l einer Nährlösung, die 60 g Glucose, 30 g Hefe, 15 g Ammoniumchlorid und 7.5 g Magnesiumsulfat enthielt, sowie mit Phosphatpuffer nach SÖRENSEN auf pH 6.8 eingestellt war, wurde mit 400 ccm einer 24 Stdn. alten Schüttelkultur von *Flavobacterium dehydrogenans* beimpft. Nach 20stdg. Wachstum bei 28° unter kräftigem Rühren und Belüften wurde eine Lösung von 4.5 g XVII in 200 ccm Methanol zugesetzt. Die Bebrütung und Belüftung wurden 6 Stdn. fortgesetzt und während dieser Zeit die Reaktion halbstündlich dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Nach beendeter Oxydation wurde die Kulturlösung mit 3 l Chloroform extrahiert, der Auszug auf 300 ccm eingengt, dieses Konzentrat über Florisil filtriert, der Rückstand des Eluates zur Entfernung von Silicon mit Petroläther digeriert und der ungelöste Anteil aus Aceton umkristallisiert. Es resultierten 1.1 g XVIII vom Schmp. 235–236°;  $[\alpha]_D^{25}$ : +105° (in Chlf.),  $\lambda_{\max}$  236m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 17900.

$C_{20}H_{26}N_2O$  (310.4) Ber. C 77.38 H 8.44 N 9.02 Gef. C 77.28 H 8.57 N 9.45

*$\Delta^2$ -Isoxazolino-[4'.5':16.17]- $\Delta^5$ -androstendiol-(3 $\beta$ .17) (XIX)*: 5 g XVI wurden in 400 ccm Äthanol gelöst und unter Eiskühlung mit einer Lösung von 1.5 g *Hydroxylamin-hydrochlorid* in 3 ccm Wasser versetzt. Das Reaktionsgemisch blieb 20 Stdn. bei Raumtemperatur stehen, wurde dann 15 Min. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, danach gekühlt und das Kristallisat (2.0 g) abfiltriert. Aus der Mutterlauge ließen sich weitere 1.1 g gewinnen. Nach Umkristallisieren aus Äthanol schmolz das *Isoxazolin XIX* bei 222°;  $[\alpha]_D^{25}$ : –25° (in Dioxan);  $\lambda_{\max}$  196 bis 197 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 10050.

$C_{20}H_{29}NO_3$  (331.5) Ber. C 72.47 H 8.82 N 4.23 Gef. C 72.54 H 8.98 N 4.04

*$\Delta^2$ -Isoxazolino-[4'.5':16.17]- $\Delta^4$ -androstenon-(3)-ol-(17) (XX)*: In einem Kleinfemter wurden 15 l einer Nährlösung aus 0.5% Basamin Bush, die mit Phosphatpuffer nach SÖRENSEN auf pH 7.0 gepuffert war, mit 400 ccm einer Kultur von *Flavobacterium dehydrogenans* beimpft. Nachdem die Kultur 24 Stdn. bei 28° unter starkem Rühren und Belüften angewachsen war, wurden 4.5 g XIX in 140 ccm Dimethylformamid zugesetzt. Nach 7 Stdn. war im Dünnschichtchromatogramm kein Ausgangsmaterial mehr festzustellen. Die Fermentationslösung wurde daraufhin dreimal mit dem gleichen Volumen Chloroform extrahiert, der Auszug eingengt, über Florisil filtriert und zur Trockne abgezogen. Der Rückstand wurde zur Entfernung von Siliconöl mit Petroläther behandelt. 3.5 g rohes XX wurden mehrfach aus Essigester umkristallisiert. Schmp. 184°,  $[\alpha]_D^{25}$ : +106° (in Chlf.);  $\lambda_{\max}$  240 m $\mu$ ,  $\epsilon$  = 17400.

$C_{20}H_{27}NO_3$  (329.4) Ber. C 72.92 H 8.26 N 4.25 Gef. C 72.68 H 8.39 N 4.44

*16-Cyan-16.17-seco- $\Delta^5$ -androstenol-(3 $\beta$ )-säure-(17) (XXII)*: 1.2 g XIX wurden in Benzol gelöst und zu 5 ccm einer kalten, konzentrierten Lösung von Natriummethylat in Methanol gegeben. Augenblicklich schied sich ein Öl ab. Nach 1stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur verdünnte man mit 100 ccm Wasser, trennte die Benzolphase ab und wusch sie mit 5-proz. Kalilauge. Die alkalischen, wäßrigen Phasen wurden mit Chloroform nachextrahiert. Benzol- und Chloroformlösung wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und abgezogen: 2 mg Rückstand. Die wäßrigen Phasen wurden nun mit verd. Schwefelsäure angesäuert und wieder mit Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde mit Wasser neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit: 1.2 g Rückstand. Umkristallisation aus Äthanol 523 mg vom Schmp. 209°,  $[\alpha]_D^{25}$ : –88° (in Chlf.). IR-Banden bei 2240 und 1675/cm.

$C_{20}H_{29}NO_3$  (331.5) Ber. C 72.47 H 8.82 N 4.23 O 14.48  
Gef. C 71.82 H 8.80 N 4.25 O 14.93

Äquivalentgewicht durch Titration der in 50-proz. Äthanol gelösten Substanz mit Natronlauge und Phenolphthalein als Indikator: 28.488 mg Subst.: 0.84 ccm  $n_{10}^20$  NaOH.

Ber. für eine Monocarbonsäure 331.4 Gef. 339.2

16-Cyan- $\Delta^5$ -androsthenol-(3 $\beta$ )-on-(17) (XXIII): 500 mg XIX wurden mit einer Lösung von 850 mg Kaliumhydroxyd in 10 ccm Methanol bei Raumtemp. gerührt. Nach kurzer Zeit löste sich die Substanz. Nach 1 Stde. verdünnte man mit 200 ccm Wasser und extrahierte mit Chloroform; der Extrakt enthielt 9 mg. Die wäßrige Phase wurde nun mit verd. Schwefelsäure angesäuert und wieder mit Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde mit Wasser neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit: 450 mg Rückstand. Umkristallisation aus Äther gab 300 mg Nitrilketon vom Schmp. 182°. Nach zwei weiteren Umkristallisationen lag der Schmp. bei 188–189°,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-4.9^\circ$  (Chlf.), UV-Absorption in wäßrig-alkoholischer Natronlauge:  $\lambda_{\max}$  267  $\mu$ ,  $\epsilon = 13400$ ; IR-Banden bei 1745 und 2250/cm.

$C_{20}H_{27}NO_2$  (313.4) Ber. C 76.64 H 8.68 N 4.47 Gef. C 76.74 H 8.69 N 4.51

## KLAUS HAFNER und KARL GOLIASCH \*)

### Zur Kenntnis des Cyclopentadienons

Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg (Lahn)

(Eingegangen am 27. April 1961)

Cyclopentadienon bildet sich leicht durch Dehydrobromierung von 5-Bromcyclopenten-(2)-on-(1). Mit sich selbst oder auch mit anderen dienophilen Partnern reagiert es rasch unter Bildung des Dicyclopentadienons bzw. anderer Bicyclo[2.2.1]hepten-(2)-Derivate. Einige Reaktionen des Dicyclopentadienons werden beschrieben.

Das Cyclopentadienon (IV), der Grundkörper einer in den letzten Jahrzehnten bekanntgewordenen Verbindungsklasse, deren wichtigste Vertreter das Tetraphenylcyclopentadienon<sup>1)</sup> und dessen Derivate<sup>2)</sup> sind, konnte bisher in unsubstituierter Form als Monomeres nicht dargestellt werden. E. WEISS und Mitarbb.<sup>3)</sup> konnten es als Eisen-tricarbonylkomplex bei der Umsetzung von Acetylen und Kohlenmonoxyd mit Eisenpentacarbonyl isolieren. Theoretische Untersuchungen von E. D. BERGMANN, B. PULLMAN und Mitarbb.<sup>4)</sup> und von R. D. BROWN<sup>5)</sup> über Elektronendichteverteilung, Bindungsabstände und freie Valenzen im Cyclopentadienon weisen übereinstimmend auf eine durch große „Diels-Alder-Reaktivität“ in 2- und 5-Stellung

\*) K. GOLIASCH, Dissertat. Univ. Marburg 1961; K. HAFNER und K. GOLIASCH, *Angew. Chem.* **72**, 784 [1960].

1) K. ZIEGLER und B. SCHNELL, *Liebigs Ann. Chem.* **445**, 266 [1925].

2) W. DILTNEY und F. QUINT, *J. prakt. Chem.* [2] **128**, 139 [1930].

3) E. WEISS, R. C. MERÉNYI und W. HÜBEL, *Chem. and Ind.* **15**, 407 [1960].

4) E. D. BERGMANN, G. BERTHIER, D. GINSBURG, Y. HIRSHBERG, D. LAVIE, S. PINCHAS und B. PULLMAN, *Bull. Soc. chim. France, Mém.* [5] **18**, 661 [1951].

5) R. D. BROWN, *J. chem. Soc. [London]* **1951**, 2670.