

Klaus Kieslich und Heinz Wieglepp

Mikrobiologische 11 β -Hydroxylierung von 3 β -Hydroxy-5 α .6 α -epoxy-steroiden

Forschung Pharma, Schering AG, Berlin

(Eingegangen am 13. August 1970)

■
Eine Reihe von 3 β -Hydroxy-5 α .6 α -epoxy-steroiden wird mit dem Pilz *Curvularia lunata* ohne Bildung von Nebenprodukten spezifisch in 11 β -Stellung hydroxyliert.

Microbiological 11 β -Hydroxylation of 3 β -Hydroxy-5 α .6 α -epoxysteroids

Some 3 β -Hydroxy-5 α .6 α -epoxysteroids are hydroxylated specifically in 11 β -position without formation of by-products by the fungus *Curvularia lunata*.

■
Die mikrobiologische Einführung einer Hydroxylgruppe in die 11 β -Stellung eines Steroids wird stets von Hydroxylierungen an anderen Positionen des Ringskeletts begleitet¹⁾. Der bisher bestgeeignete Pilz *Curvularia lunata* bildet bei normalen 4-Androsten- oder 4-Pregnen-3-ketonen 7 α -, 9 α - oder 14 α -Hydroxy-Nebenprodukte.

Diese unerwünschte Hydroxylierung der α -Seite des Moleküls konnte bereits durch 16 α -Methyl-Substitution²⁾, durch Veresterung der 17 α -Hydroxylgruppe entsprechender Progesterone³⁾ oder bei gesättigtem oder reduziertem A-Ring durch einen 5 α -Brom-Substituenten⁴⁾ vermindert oder vollständig unterdrückt werden.

Die sterische Abschirmung der α -Seite durch diese Substitutionen ergab zwar wichtige, aber nur relativ spezielle Substratstrukturen. Eine wesentlich breitere Anwendung bietet der Strukturtyp der 3 β -Hydroxy-5 α .6 α -epoxide.

Diese können aus den 3 β -Hydroxy- Δ^5 -en-Verbindungen in sehr guten Ausbeuten mit *m*-Chlor-perbenzoesäure⁵⁾ oder Peressigsäure hergestellt werden⁶⁾.

Die 5 α .6 α -Epoxidstruktur wird bestätigt durch den in den NMR-Spektren aller Verbindungen erscheinenden Peak bei δ 2.87–2.95 ppm in CDCl₃-Lösung und bei δ 2.85–2.91 ppm in Deuteropyridin-Lösung als Dublett mit einer Aufspaltung von $J = 3.5$ –4.0 Hz.

Diese Signallage mit ihrer Aufspaltung korreliert sehr gut mit den Werten von Cross⁷⁾ für das 6-H von 5 α .6 α -Epoxiden (δ 2.83–2.86 ppm, $J = 3.3$ –4.1 Hz) und ist nicht im Einklang mit den entsprechenden Werten für 5 β .6 β -Epoxide (δ 3.05 bis

¹⁾ W. Charney und H. L. Herzog, *Microbial Transformations of Steroids*, S. 269 u. f., Academic Press, New York 1967.

²⁾ Schering AG (Erf. K. Kieslich, G. Raspé, R. Müller, E. Oliyav und B. Wagner), Dtsch. Bundes-Pat. 1 226 575 v. 13. 5. 1960, C. A. 66, 38 165 h (1967).

³⁾ Koninklijke Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek N. V. Delft (Erf. J. de Flines und F. W. van der Waard), Holl. Pat. 660 5514 v. 25. 4. 66, C. A. 69, 77 624 P (1968).

⁴⁾ K. Kieslich, K. Petzoldt, H. Kosmol und W. Koch, *Liebigs Ann. Chem.* 726, 168 (1969).

⁵⁾ N. N. Schwarz und J. H. Blumberg, *J. org. Chemistry* 29, 1976 (1964).

⁶⁾ R. P. Graber, M. B. Meyers und V. A. Landeryou, *J. org. Chemistry* 27, 2534 (1962).

⁷⁾ A. D. Cross, *J. Amer. chem. Soc.* 84, 3206 (1962).

Tab. 1. 11 β -Hydroxylierung von 5 α -6 α -Epoxy-steroiden mit *Curvularia lunata*

Substrat-Konz. (mg./l)	Kontakt-Zeit (Std.)	Eingesetztes Produkt	Reaktionsprodukt	% Ausb.	Schmp.	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analysen C	H	O
1. 600	43	3 β -Hydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -androstano-(17 β) ⁽¹⁶⁾	3 β , 11 β -Dihydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -androstano-(17 β) ⁽¹¹⁾	24	241/243—246 ^c	C ₁₉ H ₂₈ O ₄ (320,4)	Ber. 71,23 Gef. 70,88	8,81 8,97	19,96 20,37
2. 500	20	5,6 α -Epoxy-5 α -androstano-diol-(3 β , 17 β)	5,6 α -Epoxy-5 α -androstano-triol-(3 β , 11 β , 17 β)	26	223/225—228 ^c	C ₁₉ H ₃₀ O ₄ (322,4)	Ber. 70,78 Gef. 70,38	9,37 9,56	19,85 19,68
3. 500	16	5,6 α -Epoxy-5 α -androstano-diol-(3 β , 17 β)	5,6 α -Epoxy-5 α -androstano-triol-(3 β , 11 β , 17 β)	43	216/218—220 ^c	C ₁₉ H ₃₀ O ₄ (322,4)	Ber. 70,78 Gef. 71,08	9,37 9,45	19,85 19,65
4. 500	38	5,6 α -Epoxy-17 α -methyl-5 α -androstano-diol-(3 β , 17 β)	5,6 α -Epoxy-17 α -methyl-5 α -androstano-triol-(3 β , 11 β , 17 β)	21	275/278—280 ^c	C ₂₀ H ₃₂ O ₄ (336,5)	Ber. 71,39 Gef. 71,05	9,59 9,84	19,02 19,13
5. 500	9	3 β -Hydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20) ⁽¹²⁾	3 β , 11 β -Dihydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20)	24	232—233 ^c	C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (348,5)	Ber. 72,37 Gef. 72,70	9,26 9,67	18,37 18,13
6. 500	10	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-diol-(3 β , 20 β)	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-triol-(3 β , 11 β , 20 β)	52	234—236 ^c	C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (350,5)	Ber. 71,96 Gef. 71,70	9,78 10,20	18,26 18,56
7. 250	6	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-diol-(3 β , 20 β)	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-triol-(3 β , 11 β , 20 β)	8	184/188—190 ^c	C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (350,5)	Ber. 71,96 Gef. 71,69	9,78 9,44	18,26 18,68
8. 1000	24	3 β -Hydroxy-21-acetoxyl-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20) ⁽¹³⁾	3 β , 11 β , 21-Trihydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20)	55	209/212—215 ^c	C ₂₁ H ₃₂ O ₅ (364,5)	Ber. 69,20 Gef. 69,38	8,85 9,02	21,95 21,54
9. 500	10	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-triol-(3 β , 20 β , 21)	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-tetrol-(3 β , 11 β , 20 β , 21)	10	216/217—219 ^c	C ₂₁ H ₃₄ O ₅ (366,5)	Ber. 68,82 Gef. 68,42	9,35 9,35	21,83 21,50
10. 500	42	3 β , 17 β -Dihydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20) ⁽¹⁴⁾	3 β , 11 β , 17 β -Trihydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20)	20	238/243—246 ^c	C ₂₁ H ₃₂ O ₅ (364,5)	Ber. 69,20 Gef. 69,60	8,85 8,86	21,95 21,55
11. 500	28	5,6 α -Epoxy-17 α -acetyl-5 α -androstano-diol-(3 β , 17 β)	5,6 α -Epoxy-17 α -acetyl-5 α -androstano-triol-(3 β , 11 β , 17 β)	31	252—253 ^c	C ₂₁ H ₃₂ O ₅ (364,5)	Ber. 69,20 Gef. 68,82	8,85 8,81	21,95 23,37
12. 500	15	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-triol-(3 β , 17 β , 20 β)	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-tetrol-(3 β , 11 β , 17 β , 20 β)	33	214/215—216 ^c	C ₂₁ H ₃₄ O ₅ (366,5)	Ber. 68,82 Gef. 68,64	9,35 9,58	21,83 21,61
13. 1000	41	3 β , 17 β -Dihydroxy-21-acetoxyl-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20) ⁽¹⁴⁾	3 β , 11 β , 17 β , 21-Tetrahydroxy-5,6 α -epoxy-5 α -pregnanon-(20)	28	228/233—236 ^c	C ₂₁ H ₃₂ O ₆ (380,5)	Ber. 66,29 Gef. 66,70	8,48 8,66	25,23 24,86
14. 500	15	5,6 α , 17, 20 α -Diepoxy-5 α -pregnan-diol-(3 β , 21)	5,6 α , 17, 20 α -Diepoxy-5 α -pregnan-triol-(3 β , 11 β , 21)	28	181—182 ^c	C ₂₁ H ₃₂ O ₅ (364,5)	Ber. 69,20 Gef. 69,00	8,85 8,93	21,95 21,50
15. 500	9	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-diol-(3 β , 21)	5,6 α -Epoxy-5 α -pregnan-triol-(3 β , 11 β , 21)	1,6	209—211 ^c	C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (350,5)	Ber. 71,96 Gef. 71,86	9,78 10,01	18,26 18,30
16. 1000	22	3 β -Hydroxy-21-acetoxyl-5,6 α -epoxy-16 α -methyl-5 α -pregnanon-(20)	3 β , 11 β , 21-Trihydroxy-5,6 α -epoxy-16 α -methyl-5 α -pregnanon-(20)	55	206—209 ^c	C ₂₂ H ₃₆ O ₅ (378,5)	Ber. 69,80 Gef. 69,55	9,06 9,30	21,14 21,58
17. 1000	22	3 β , 21-Diacetoxyl-5,6 α -epoxy-16 α -methyl-5 α -pregnanon-(20)	3 β , 11 β , 21-Trihydroxy-5,6 α -epoxy-16 α -methyl-5 α -pregnanon-(20)	36	195—198 ^c	—	—	—	—
18. 500	16	5,6 α -Epoxy-5 α -androstano-ol(17 β)	—	—	—	—	—	—	—
19. 500	30	5,6 α -Epoxy-5 α -cholestan-ol(3 β) ⁽¹⁵⁾	—	—	—	—	—	—	—

3.09 ppm, $J = 2.1 - 2.7$ Hz). Die Stellung des 5.6-Epoxides folgt weiter aus den Berechnungen von δ 19-H mit den Inkrementen von Zürcher⁸⁾, wobei nur das Inkrement für 5 α .6 α -Epoxid richtig berechnete δ 19-H-Werte ergibt.

Obwohl diese Substitution verhältnismäßig kleine sterische Ausmaße besitzt, erstreckt sich ihr Einfluß durch ihre günstige Stellung nahe am Skeletzentrum über die gesamte α -Seite und läßt nur die gewünschte 11 β -Hydroxylierung des Steroids zu.

Die Stellung der eingeführten Hydroxylgruppe in 11 β -Position wird bewiesen durch den in den NMR-Spektren in Deuteropyridin bei allen Verbindungen erscheinenden Peak bei δ 4.37—4.72 ppm als Multipllett mit einer Halbwertsbreite von 8 Hz. Diese Signallage mit ihrer geringen Halbwertsbreite ist typisch für ein äquatorial-ständiges H-Atom in 11 α -Stellung. Die Stellung der 11 β -Hydroxygruppe folgt weiter aus der starken Entschirmung von 19-H bzw. 18-H um ca. 0.53 bzw. 0.49 ppm⁹⁾.

Somit konnten die Verbindungen der Tab. 1 spezifisch in 11 β -Stellung hydroxyliert werden.

5.6 α -Epoxy-5 α -androstan-ol-(17 β) und 5.6 α -Epoxy-5 α -cholestan-ol-(3 β) wurden dagegen nicht angegriffen. Dieser Befund steht im Einklang mit der Vermutung von Brannon und Mitarbb.¹⁶⁾, die als Strukturbedingung eine Sauerstoff-Funktion am „Fuß und am Kopf“ des Substrates annimmt. Ein vergleichender Überblick über die Reaktionsgeschwindigkeiten der unterschiedlichen Substrate wurde bereits an anderer Stelle gegeben¹⁷⁾.

Die Ausbeuten der isolierten 11 β -Hydroxyverbindungen überschreiten trotz vollständiger Umwandlung des Ausgangsmaterials leider kaum 50% d. Th. Diese unbefriedigende Stoffbilanz wurde bisher generell bei Fermentationen von 3 β -Hydroxy-steroiden mit *Curvularia lunata* beobachtet und soll noch mit einem ¹⁴C-markierten Substrat geklärt werden.

Wir danken Herrn Dr. G. Schulz für die erste Aufnahme und Interpretation der Spektren, Herrn Dipl.-Ing. J. Huber für die Bestimmung der Mikroanalysen und Herrn Michael Fischer für wertvolle präparative Mitarbeit. Besonderen Dank sagen wir Herrn Dr. G. Hoyer für seine systematische Betrachtung der NMR-Spektren der Verbindungen gleicher Strukturmerkmale, worüber zusammenfassend noch an anderer Stelle berichtet werden soll.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden im Apparat nach Tottoli bestimmt und sind unkorrigiert. Zur Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgelfertigplatten (Fa. Merck AG, Darmstadt) verwendet. Wenn nicht anders angegeben, wurde im System Benzol/Essigester (1 : 4) aufsteigend entwickelt. Zur Anfärbung wurde mit 95proz. Äthanol angesprüht, 10 Min. bei 120° getrocknet und im UV-Licht betrachtet. Für die Säulenchromatographien diente Kiesel-

⁸⁾ R. F. Zürcher, Helv. chim. Acta **46**, 2054 (1963).

⁹⁾ K. Tori und K. Aono, Annu. Rep. Shionogi Res. Lab. [Osaka] **14**, 136 (1964), C. A. **67**, 27508 s (1967).

¹⁰⁾ K. Miescher und W. H. Fischer, Helv. chim. Acta **21**, 336 (1938).

¹¹⁾ D. K. Fukushima und S. Teller, Steroids **1**, 121 (1963).

¹²⁾ M. Davis und V. Petrov, J. chem. Soc. [London] **1950**, 1185.

¹³⁾ B. Ellis und V. Petrov, J. chem. Soc. [London] **1956**, 4417.

¹⁴⁾ M. Ehrenstein, J. org. Chemistry **19**, 1331 (1954).

¹⁵⁾ L. Ruzicka und W. Bosshard, Helv. chim. Acta **20**, 246 (1937).

¹⁶⁾ D. R. Brannon, F. W. Parrish, B. J. Wily und L. Long, J. org. Chemistry **32**, 1521 (1967).

¹⁷⁾ K. Kieslich, 2. Symposium Technische Mikrobiologie, Berlin 1970.

gel G, wobei stets mit linearen Gradienten Hexan/Aceton (1:1) eluiert wurde. Die Lösungsmittel für UV waren Methanol, für NMR CDCl_3 und perdeutrieretes Pyridin (innerer Standard Tetramethylsilan), Geräte Varian A 60 und HA 100 (NMR) und Beckman DK 1 (UV).

Darstellung der 5a,6a-Epoxy-steroido

a) *Epoxidierung mit m-Chlor-perbenzoesäure*: 50 g Steroid wurden in 1 l dest. Chloroform innerhalb von 20 Min. mit 28 g *m-Chlor-perbenzoesäure* versetzt (1.1 Mol Persäure pro Mol Steroid) und 16 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zutropfen von 300 ccm 5proz. Natriumhydrogencarbonatlösung wurde die wäbr. Phase abgetrennt. Die Chloroformlösung wurde mit Wasser, mit 5proz. schwach saurer Eisen(II)-sulfat-Lösung und wieder mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die Lösung wurde sodann i. Vak. bei 40° eingengt und der Rückstand aus Essigester unter Zusatz von wenig Aktivkohle umkristallisiert.

b) *Epoxidierung mit Peressigsäure*: 25 g Steroid wurden in 0.7 l Methylchlorid unter Rühren mit 5 g wasserfreiem Natriumacetat und 18 g wasserfreiem Natriumsulfat versetzt. Zu der auf 0° gekühlten Mischung wurden 30 ccm *Peressigsäure* (40proz. in Eisessig) getropft und eine Stde. bei 0° und weitere 2 Stdn. bei 20° gerührt. Nach Zutropfen von 600 ccm 5proz. Natriumhydrogencarbonatlösung wurde die Methylchloridphase abgetrennt, mehrmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. bei 30° eingengt. Der Rückstand wurde aus Essigester umkristallisiert.

Mikrobiologische Hydroxylierung mit *Curvularia lunata*

a) *Anzucht*: Ein 2-l-Erlenmeyerkolben, der 500 ccm einer 30 Min. bei 120° im Autoklaven sterilisierten Nährlösung aus 1% Cornsteep liquor, 1% Sojapuder und 0.005% Sojaöl, eingestellt auf pH 6.2, enthielt, wurde mit einer Lyophilkultur von *Curvularia lunata* beimpft und 72 Stdn. bei 30° auf einem Rotationsschüttler mit einer Schüttelfrequenz von 145 U/Min. geschüttelt. Anstelle der Trockenkultur wurde bei einigen Beispielen auch ein 7tägiges Schrägröhrchen (2% Bierwürzeagar) mit 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und als Inoculum benutzt.

b) *Vorkultur*: Mit 250 ccm dieser Vorkultur wurde ein 20-l-Glasfermenter (Marubishi) beimpft, der mit 15 l eines bei 121° und 1.1 atü sterilisierten Mediums aus 1% Cornsteep liquor, 0.5% Stärkezucker und 0.005% Sojaöl, eingestellt auf pH 6.2, beschickt war. Unter gelegentlicher Zugabe von Silicon SH als Antischaummittel wurde bei 29° unter Belüftung (1 l Luft pro Liter Kulturbrühe pro Min.), 0.7 atü Druck und Rühren 220 U/Min. 24 Stdn. geminiert.

c) *Fermentation*: 1 l der Vorfermentkultur wurde unter sterilen Bedingungen in 14 l eines wie oben sterilisierten Mediums aus 1% Cornsteep liquor, 1.25% Sojapuder und 0.005% Sojaöl übergeführt und unter gleichen Bedingungen angezüchtet. Nach 12 Stdn. wurde die Substratlösung von 7.5 g Steroid in 50 ccm Methylcellosolve zugesetzt. Teilweise und besonders bei höheren Substratkonzentrationen erfolgte die Zugabe auch bereits nach 6 Stdn. Die Umwandlung wurde durch dünnschichtchromatographische Analyse der Methylisobutylketon-Extrakte von Fermenterproben kontrolliert, wobei die Abnahme des Ausgangsmaterials und des verseiften Ausgangsmaterials beobachtet wurde. Der pH-Wert wurde während der gesamten Fermentation zwischen 6.0 und 7.0 gehalten. Nach vollständiger Umwandlung wurde der Fermenterinhalt einschließlich dem Mycel zweimal mit je 7.5 l Methylisobutylketon ausgerührt. Eine vorübergehende Filtration über Gaze und die getrennte Aufarbeitung von Mycel und Kulturfiltrat war mitunter vorteilhafter. Die organischen Phasen wurden abgetrennt, filtriert und i. Vak. bei 50° maximaler Badtemperatur eingengt. Beim Eindampfen fielen manchmal kristalline Anteile des hydroxylierten Produktes aus, die abfiltriert wurden. Der Eindampfrückstand wurde mit kaltem Hexan von anhaftendem Siliconöl befreit. Erstkristallisat und Eindampfrückstand wurden getrennt aus Essigester oder Essigester/Isopropyläther oder Methanol umkristallisiert.

Tab. 2. Darstellung der 5 α .6 α -Epoxy-steroide

Vers.-Nr. in Tab. 1	Verbindung	% Ausb.	Schmp.	Summenformel (Mol.-Gew.)	Ber. Gef.	Analysen C	H	O
2.	5.6 α -Epoxy-5 α -androstan-diol- (3 β .17 β)	32	195/196—198°	C ₁₉ H ₃₀ O ₃ (306.4)	Ber. Gef.	74.47 74.37	9.87 9.96	15.66 15.57
3.	5.6 α -Epoxy-5 α -androstan-diol- (3 β .17 α)	59	199—201°	C ₁₉ H ₃₀ O ₃ (306.4)	Ber. Gef.	74.47 74.15	9.87 9.67	15.66 15.93
4.	5.6 α -Epoxy-17 α -methyl-5 α - androstan-diol-(3 β .17 β)	88	238—240°	C ₂₀ H ₃₂ O ₃ (320.5)	Ber. Gef.	74.95 74.70	10.07 10.31	14.98 15.39
6.	5.6 α -Epoxy-5 α -pregnan-diol- (3 β .20 β)	55	237—239°	C ₂₁ H ₃₄ O ₃ (334.5)	Ber. Gef.	75.40 75.81	10.25 10.46	14.35 13.99
7.	5.6 α -Epoxy-5 α -pregnan-diol- (3 β .20 α)	53	195/200—203°	C ₂₁ H ₃₄ O ₃	—	—	—	—
9.	5.6 α -Epoxy-5 α -pregnan-triol- (3 β .20 β .21)	44	214—216°	C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (350.5)	Ber. Gef.	71.96 71.53	9.78 9.37	18.26 18.68
11.	5.6 α -Epoxy-17 α -acetyl-5 α - androstan-diol-(3 β .17 β)	32	223—224°	C ₂₁ H ₃₂ O ₄ (348.5)	Ber. Gef.	72.37 72.16	9.26 9.37	18.37 18.79
12.	5.6 α -Epoxy-5 α -pregnan-triol- (3 β .17.20 α)	87	211/213—215°	C ₂₁ H ₃₄ O ₄ (350.5)	Ber. Gef.	71.96 71.84	9.78 10.01	18.26 18.01
14.	5.6 α ;17.20 α -Diepoxy-5 α -pregnan- diol-(3 β .21)	58	179/181—183°	C ₂₁ H ₃₂ O ₄ (348.5)	—	—	—	—
15.	5.6 α -Epoxy-5 α -pregnan-diol-(3 β .21)	75	128/130—133°	C ₂₁ H ₃₄ O ₃ (334.5)	Ber. Gef.	75.40 75.06	10.25 10.56	14.35 13.95
16.	3 β -Hydroxy-21-acetoxy-5.6 α -epoxy- 16 α -methyl-5 α -pregnan-on-(20)	80	177/178—179°	C ₂₄ H ₃₆ O ₅ (404.6)	Ber. Gef.	71.26 70.94	8.97 9.14	19.77 20.21
17.	3 β .21-Diacetoxy-5.6 α -epoxy- 16 α -methyl-5 α -pregnan-on-(20)	98	169/171—172°	C ₂₆ H ₃₈ O ₆ (446.6)	Ber. Gef.	69.92 69.59	8.58 8.62	21.50 21.44
18.	5.6 α -Epoxy-5 α -androstan-ol-(17 β)	61	143—144°	C ₁₉ H ₂₈ O ₂ (290.5)	Ber. Gef.	78.57 78.18	10.41 10.59	11.02 11.48
19.	5.6 α -Epoxy-5 α -cholestan-ol-(3 β)	84	123/125—128°	C ₂₇ H ₄₆ O ₂ (402.6)	Ber. Gef.	80.56 80.74	11.50 11.60	7.94 7.90

[291/70]