

## 238. Über Steroide und Sexualhormone

222. Mitteilung<sup>1) 2)</sup>

## 11,20-Dihydroxy-18,20-cyclo-pregnan-Verbindungen

von H. Wehrli<sup>3)</sup>, M. Cereghetti<sup>3)</sup>, K. Schaffner<sup>3)</sup>,  
J. Urech<sup>4)</sup> und E. Vischer<sup>4)</sup>

(23. IX. 61)

In kürzlich erschienenen Arbeiten beschrieben wir, wie eine selektive Substitution der angulären Methylgruppe 18 des Steroidgerüsts unter Ausbildung von 18,20-Cyclo-Steroiden durch UV.-Bestrahlung von 20-Ketopregnan-Verbindungen erzielt werden kann (vgl.  $a \rightarrow b + c$ )<sup>5) 6)</sup>. Die Übertragung dieser photochemischen Reaktion auf 20-Keto-21-acetoxy-pregnane führte ferner sowohl zu den entsprechenden 18,20-Cyclo-Derivaten wie auch zu 18,20-Oxido-Verbindungen (vgl.  $d \rightarrow e^7) + f$ )<sup>8)</sup>. Durch

1) 221. Mitteilung: Helv. 44, 518 (1961).

2) Diese Arbeit bildet gleichzeitig die 183. Mitteilung in der Reihe «Über Steroide» (182. Mitteilung: P. WIELAND, K. HEUSLER & A. WETTSTEIN, Helv. 44, 2121 (1961)), die 11. Mitteilung der Reihe «Mikrobiologische Reaktionen» (10. Mitteilung: Experientia 16, 355 (1960)) und die 10. Mitteilung in der Reihe «Photochemische Reaktionen» (9. Mitteilung: Helv. 43, 2178 (1960)).

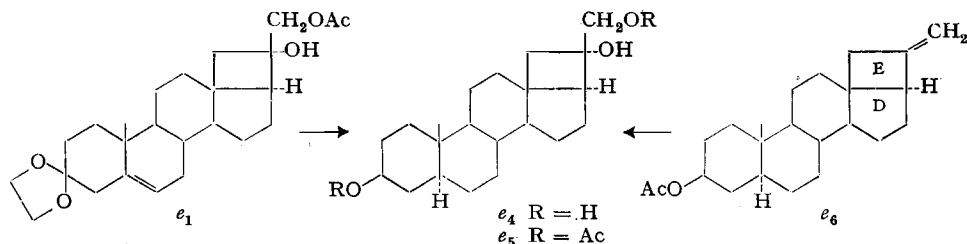
3) Organisch-chemisches Laboratorium der ETH, Zürich.

4) Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, Pharmazeutische Abteilung.

5) a) P. BUCHSCHACHER, M. CEREGHETTI, H. WEHRLI, K. SCHAFFNER & O. JEGGER, Helv. 42, 2122 (1959); b) M. CEREGHETTI, H. WEHRLI, K. SCHAFFNER & O. JEGGER, *ibid.* 43, 354 (1960).

6) Vgl. auch N. C. YANG & D.-D. H. YANG, Tetrahedron Letters 4, 10 (1960).

7) Zur Konfiguration von 3-Äthylendioxy-20-hydroxy-21-acetoxy- $\Delta^6$ -18,20-cyclo-pregnen ( $e_1$ ): Die Konfiguration an C-20 des der Partialformel  $e$  entsprechenden Derivates  $e_1$ <sup>8)</sup> ist inzwischen durch dessen Überführung in den bereits beschriebenen Alkohol  $e_5$ <sup>5a)</sup> festgelegt worden:

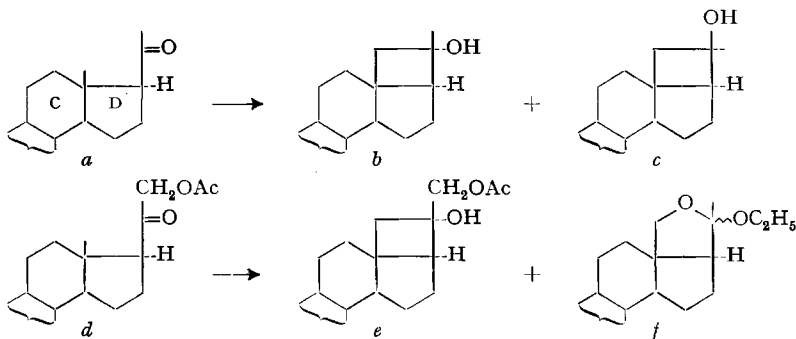


Hydrierung von  $e_1$  mit Palladiumkohle in Äthanollösung führte zum gesättigten (20S)-3-Äthylendioxy-20-hydroxy-21-acetoxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan ( $e_2$ ), welches sauer zu (20S)-3-Oxo-20-hydroxy-21-acetoxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan ( $e_3$ ) hydrolysiert wurde. Natriumbor-hydrid-Reduktion dieses Ketons und Acetylierung des entstandenen 3 $\beta$ -Alkohols  $e_4$  lieferte schliesslich ein mit  $e_5$  identisches Trihydroxy-diacetat (vgl. Abschnitt D des experimentellen Teils).

Alkohol  $e_5$  wurde durch Hydroxylierung der exocyclischen Doppelbindung von 3 $\beta$ -Acetoxy- $\Delta^{20}$ -18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnen ( $e_6$ ) mit Osmium(VIII)-oxyd und anschliessende partielle Acetylierung der 21-Hydroxy-Gruppe dargestellt<sup>5a)</sup>. Wir hatten bereits früher die Ansicht geäussert<sup>5b)</sup>, dass bei der Benzoesäure-Oxydation das Reagens an der Doppelbindung stereospezifisch von der gut zugänglichen konvexen Seite des Bicyclo[0,2,3]heptan-Systems der Ringe D und E angreift. Auf Grund derselben Überlegung ist den Alkoholen  $e_4$  und  $e_5$ , und damit auch dem Photoprodukt  $e_1$  und dessen Derivaten, die 20S-Konfiguration zuzuschreiben.

8) H. WEHRLI, M. CEREGHETTI, K. SCHAFFNER & O. JEGGER, Helv. 43, 367 (1960).

diese letztere Umwandlung, sowie durch die oxydative Spaltung der (C-18)-(C-20)-Bindung bei Verbindungen des Typus *b*<sup>5)</sup>, war ein weiterer partialsynthetischer Zugang zu 18-oxygenierten Steroiden erschlossen worden<sup>9)</sup>. Im Hinblick auf die Ausarbeitung neuer Methoden zur Herstellung von Verbindungen des Aldosteron-Typus wurde auch das photochemische Verhalten von Steroidderivaten untersucht, die in Stellung 11 eine Sauerstoff-Funktion tragen.



Die UV.-Bestrahlung von  $3\beta$ -Acetoxy-11,20-dioxo- $5\alpha$ -pregnan<sup>10)</sup> und 3-Äthylendioxy-11,20-dioxo- $1^5$ -pregnen<sup>11)</sup> führte zu schwer auftrennbaren öligen Gemischen, in welchen erwartungsgemäss Hydroxylgruppen IR.-spektroskopisch nachgewiesen werden konnten<sup>12)</sup>. Die Arbeiten wurden nun ausgedehnt auf die photochemische Isomerisierung von  $11\alpha$ - und  $11\beta$ -Acetoxy-20-keto-Derivaten und auf mikrobiologische Hydroxylierungsversuche an 20-Hydroxy-18,20-cyclopregnan-Verbindungen.

### 1. Bestrahlung von $3\beta$ , $11\beta$ -Diacetoxy-20-oxo- $5\alpha$ -pregnan (III).

Das zur UV.-Bestrahlung vorgesehene  $3\beta$ ,  $11\beta$ -Diacetoxy-20-oxo- $5\alpha$ -pregnan (III) wurde aus  $3\beta$ -Acetoxy-11-oxo-20-äthylendioxy- $5\alpha$ -pregnan (I)<sup>13)</sup> hergestellt. Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von I lieferte die  $3\beta$ ,  $11\beta$ -Dihydroxy-Verbindung II, welche in Eisessig-Acetanhydrid-Lösung in Gegenwart von p-Toluolsulfonsäure unter gleichzeitiger Hydrolyse der 20-Ketalgruppe zum gewünschten Produkt III acetyliert wurde.

Die chromatographische Auftrennung des rohen Reaktionsgemisches der 4stündigen Bestrahlung des  $11\beta$ -Acetoxy-ketons III in Äthanollösung ergab nebst öligen Anteilen je zwei apolare und polare kristalline Fraktionen. Aus dem apolaren Teil wurde in ca. 11-proz. Ausbeute eine zum Ausgangsprodukt isomere kristalline Verbindung (IV) isoliert, in deren IR.-Spektrum neu für exocyclische Methyl-

<sup>9)</sup> Bezüglich anderer Methoden zur selektiven Substitution der Methylgruppe 18 durch Sauerstoff-Funktionen vgl. die Literatur-Übersicht bei K. SCHAFFNER, D. ARIGONI & O. JEGER, *Experientia* **16**, 169 (1960), sowie D. H. R. BARTON, J. M. BEATON, L. E. GELLER & M. M. PECHET, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 2640 (1960); M. AKHTAR & D. H. R. BARTON, *ibid.* **83**, 2213 (1961).

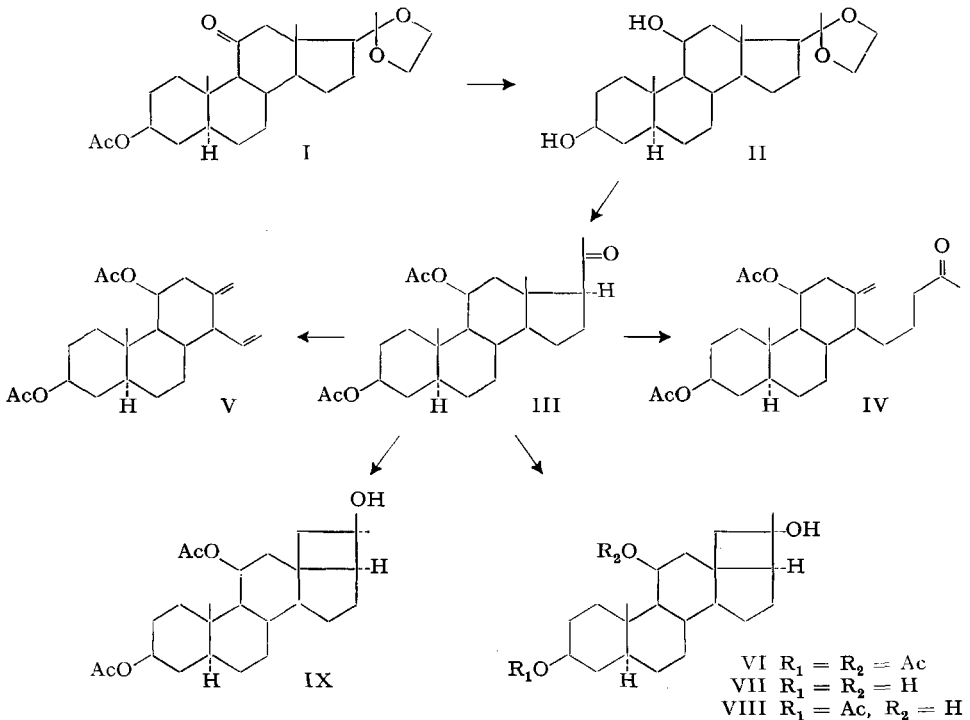
<sup>10)</sup> E. M. CHAMBERLIN, W. V. RUYLE, A. E. ERICKSON, J. M. CHEMERDA, L. M. ALIMINOSA, R. L. ERICKSON, G. E. SITA & M. TISHLER, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 2396 (1951).

<sup>11)</sup> J. M. CONSTANTIN, A. C. HAVEN & L. H. SARET, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 1716 (1953).

<sup>12)</sup> Über photochemische Reaktionen von 11-Keto-Steroiden vgl. H. WEHRLI, M. S. HELLER, K. SCHAFFNER & O. JEGER, *Helv.* **44**, 2162 (1961).

<sup>13)</sup> T. RULL & G. OURISSON, *Bull. Soc. chim. France* **1958**, 1573.

Doppelbindungen charakteristische Banden bei  $1650$  und  $893\text{ cm}^{-1}$  (in Chloroform) auftreten. Die beiden Protonen dieser Doppelbindung geben im NMR.-Spektrum von IV Anlass zu zwei nur durch ca. 3 Hz voneinander getrennten Signalen bei  $4,70$  ppm. Nebst den Singlett-Signalen der  $3\beta$ - und  $11\beta$ -Acetat-Methylprotonen ( $1,96$  und  $1,98$  ppm) und der Methylgruppe 19 ( $0,81$  ppm) erscheint darin zudem noch ein solches bei  $2,11$  ppm. Diese Frequenz entspricht derjenigen eines Methylketon-Signals. Das zweite, in ca. 9-proz. Ausbeute anfallende apolare Produkt (V,  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$ ) zeigt im UV.-Absorptionsspektrum eine starke Endabsorption und im IR.-Spektrum (in Schwefelkohlenstoff) bei  $1736$  und  $1245\text{ cm}^{-1}$  für Acetatgruppen typische Banden, sowie bei  $3090$ ,  $1648$ ,  $998$ ,  $914$  und  $897\text{ cm}^{-1}$  solche, die Vinyl- resp. exocyclischen Methylen-Doppelbindungen zugeordnet werden können. Im NMR.-Spektrum von V treten die Singlett-Signale der Methylgruppe 19 ( $0,83$  ppm) und der  $3\beta$ - und  $11\beta$ -Acetatgruppen ( $2,01$  ppm) auf. Ausserdem erscheinen bei ca.  $4,70$  und  $5,28$  ppm zwei breite, nicht strukturierte Signale, die insgesamt 7 Protonen entsprechen und welche denjenigen einer exocyclischen Methylen-Doppelbindung sowie den  $\alpha$ -ständigen Protonen an C-3 und C-11, resp. denjenigen einer Vinyl-Doppelbindung zugeteilt werden können.



Bei der UV.-Bestrahlung von  $3\beta$ -Acetoxy- und 3-Äthylendioxy-20-oxo- $\Delta^5$ -pregnen waren schon zwei analoge Verbindungstypen erhalten worden<sup>5)</sup>, deren Bildung auf Grund einer, resp. zwei aufeinanderfolgender photolytischer Fragmentierungsreaktionen diskutiert worden ist<sup>5a)</sup>. Es ist daher naheliegend, den beiden neuen, hydroxylfreien Photoprodukten die mit den spektroskopischen Daten über-

einstimmenden Strukturen eines  $3\beta$ ,  $11\beta$ -Diacetoxy-20-oxo- $\Delta^{13(18)}$ -13,17-seco-5 $\alpha$ -pregnens (IV) und eines  $1\beta$ -Vinyl-2-methylen-4 $\beta$ ,7 $\beta$ -diacetoxy-4 $\beta$ -methyl-4 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -tetradecahydrophenanthrens (V) zuzuteilen.

Der Hauptanteil der polaren Photoprodukte (ca. 17%) bestand aus einem mit dem Ausgangsmaterial isomeren Produkt (VI), in dessen IR.-Absorptionsspektrum (in Chloroform) nebst den unverändert gebliebenen Acetat-Banden bei 1725 und 1260  $\text{cm}^{-1}$  neu eine Hydroxyl-Bande bei 3620  $\text{cm}^{-1}$  erscheint. Die im IR.-Spektrum des Ausgangsmaterials auftretende Methylketon-Bande (als Schulter bei 1708  $\text{cm}^{-1}$ , in Chloroform) ist im Spektrum des Photoproduktes VI hingegen verschwunden. Die neugebildete Hydroxylgruppe des Photoproduktes VI konnte unter normalen Acetylierungsbedingungen nicht verestert werden. So bildete sich aus der Trihydroxy-Verbindung VII ( $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_3$ ), die durch Behandlung von VI mit Lithiumaluminiumhydrid erhalten worden war, nach 12stündigem Stehenlassen in Acetanhydrid-Pyridin-Gemisch bei Zimmertemperatur lediglich das  $3\beta$ -Acetat (VIII,  $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_4$ ). Dass für diese Reaktionsträgheit der tertiäre Charakter der neuen Hydroxylfunktion verantwortlich ist, wird durch das NMR.-Spektrum von VI bestätigt, indem sich im Frequenzbereich von 3,3–3,9 ppm kein Signal für Protonen in  $\alpha$ -Stellung zu Hydroxylgruppen finden lässt. Hingegen sind ausser einem scharfen Signal bei 2,01 ppm, welches den beiden  $3\beta$ - und  $11\beta$ -Acetatgruppen entspricht, nur noch zwei Singlett-Signale bei 0,82 und 1,08 ppm zu erkennen. Während ersteres von der angulären Methylgruppe 19 herrührt, entspricht die Lage des zweiten Signals der Methylgruppe 21 eines (20*S*)-20-Hydroxy-18,20-cyclo-Steroids<sup>14</sup>). Die daher für das Photoprodukt VI abgeleitete Struktur eines (20*S*)- $3\beta$ ,  $11\beta$ -Diacetoxy-20-hydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnans wurde im folgenden (vgl. Abschnitte 2 und 3) durch die Verknüpfung von VII mit der bekannten Verbindung XVII<sup>5</sup>) bewiesen.

In nur etwa 3-proz. Ausbeute konnte schliesslich als zweite polare Komponente eine weitere mit dem Ausgangsmaterial isomere Verbindung (IX) isoliert werden. Infolge Substanzmangel konnte dieses Produkt nicht näher untersucht werden. Da jedoch in seinem IR.-Absorptionsspektrum (in Chloroform) wiederum bei 3620  $\text{cm}^{-1}$  neu eine Hydroxyl-Bande auftritt und die Methylketon-Bande von III fehlt, dürfte es sich höchst wahrscheinlich um das am Kohlenstoffatom 20 zu VI isomere (20*R*)- $3\beta$ ,  $11\beta$ -Diacetoxy-20-hydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (IX) handeln.

## 2. Bestrahlung von 3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-oxo- $\Delta^5$ -pregnen (X).

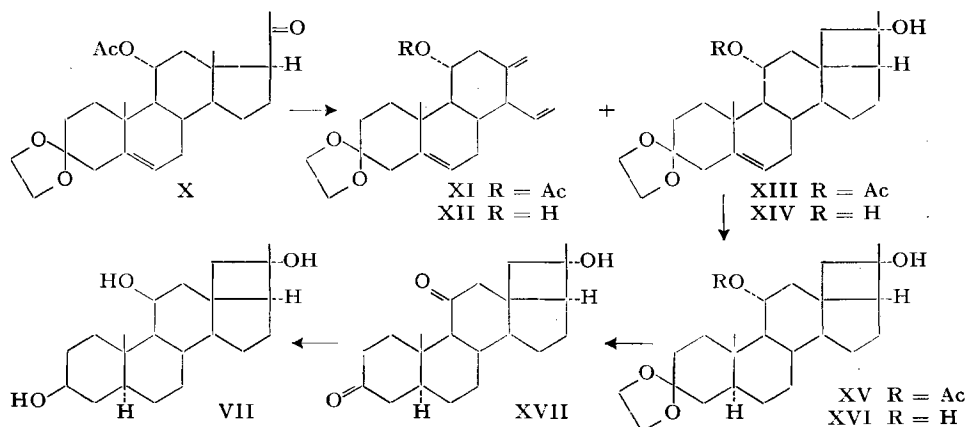
3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-oxo- $\Delta^5$ -pregnen (X)<sup>15</sup>) wurde 5 Stunden in äthanolischer Lösung bestrahlt und das rohe Reaktionsgemisch chromatographisch gereinigt. Aus den unpolaren Fraktionen fiel in ca. 17-proz. Ausbeute ein einheitliches Öl an, dessen spektroskopische Eigenschaften (Endabsorption im UV.-Spektrum, sowie IR.-Banden (in Schwefelkohlenstoff) bei 3070, 1732, 1644, 1240, 995, 916 und 900  $\text{cm}^{-1}$ ) wiederum auf das Produkt einer zweifachen Fragmentierungsreaktion (vgl. XI) hinwiesen. Hydrolyse von XI in methanolischer Kalilauge ergab einen kristal-

<sup>14</sup>) Die Methylgruppe 21 der früher beschriebenen (20*S*)-20-Hydroxy-18,20-cyclo-pregnan-Verbindungen ist durch NMR.-Signale im Bereich von 1,096–1,126 ppm gekennzeichnet<sup>5a</sup>), während die entsprechenden Signale der Verbindungen mit 20*R*-Konfiguration nach tieferem Feld (1,356–1,406 ppm)<sup>5b</sup>) verschoben sind.

<sup>15</sup>) K. HEUSLER, J. KALVODA, P. WIELAND & A. WETTSTEIN, *Helv.* 44, 179 (1961).

linen ungesättigten Alkohol (XII,  $C_{20}H_{28}O_3$ ), der im IR.-Spektrum keine Banden mehr im Carbonyl-Frequenzbereich aufweist. In Übereinstimmung mit der Struktur eines 1 $\beta$ -Vinyl-2-methylen-4 $\alpha$ -hydroxy-4 $\beta$ -methyl-7-äthylendioxy- $\Delta^{8\alpha}$ -4 $\alpha$ ,10 $\alpha\beta$ -dodecahydrophenanthrens können im NMR.-Spektrum der Verbindung XII folgende Signale unterschieden werden: ein Singlett der Methylgruppe 19 bei 1,12 ppm, ein breites Multiplett des 11 $\beta$ -Protons bei ca. 3,73 ppm und ein scharfes Signal der Protonen der 3-Äthylendioxy-Gruppe bei 3,92 ppm. Ausserdem tritt bei ca. 4,7 ppm ein breites Signal auf, das den zwei Protonen einer exocyclischen Doppelbindung zugeordnet werden kann, sowie im Bereich von ca. 5,0–6,0 ppm eine komplexe Bandengruppe, welche den vier Protonen am Kohlenstoffatom 6 und an der Vinyl-Doppelbindung entsprechen.

Mit polaren Lösungsmitteln wurde erwartungsgemäss ein Isomeres des Ausgangsmaterials (XIII, Ausbeute ca. 29%) erhalten, welches im IR.-Spektrum wieder anstelle der Methylketon-Bande des Ausgangsmaterials eine Hydroxyl-Bande aufweist. Auch zeigt die durch alkalische Hydrolyse von XIII zugängliche Dihydroxy-Verbindung XIV keine Absorption mehr im Carbonyl-Frequenzbereich des IR.-Spektrums. Auf Grund des im NMR.-Spektrum von XIII beobachteten Singletts der Methylgruppe 21 bei 1,09 ppm<sup>14)</sup> war es daher wahrscheinlich, dass diesem Photoprodukt die Struktur eines (20S)-3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-hydroxy- $\Delta^5$ -18,20-cyclo-pregns zukommt.



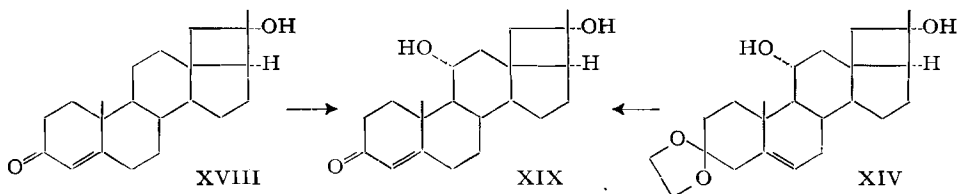
Durch die folgende chemische Verknüpfung der Alkohole VII und XIII wurde schliesslich der Beweis erbracht, dass die Photoprodukte VI und XIII der 11 $\beta$ -, bzw. 11 $\alpha$ -Acetoxy-Reihe und deren Derivate im Aufbau der Ringe D und E übereinstimmen: Hydrierung des  $\Delta^5$ -ungesättigten Acetoxyalkohols XIII in Gegenwart von Palladiumkohle-Katalysator ergab das gesättigte 5 $\alpha$ -Pregnderivat XV<sup>16)</sup>,

<sup>16)</sup> Vgl. dazu O. MANCERA, A. ZAFFARONI, B. A. RUBIN, F. SONDHEIMER, G. ROSENKRANZ & C. DJERASSI, J. Amer. chem. Soc. 74, 3711 (1952), und O. MANCERA, H. J. RINGOLD, C. DJERASSI, G. ROSENKRANZ & F. SONDHEIMER, *ibid.* 75, 1286 (1953), über die katalytische Hydrierung von 11 $\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -Steroiden, die mehrheitlich zu A/B-*cis* verknüpften 5 $\beta$ -Derivaten führt. Die im vorliegenden Fall nur ca. 36% betragende Ausbeute an kristalliner 11 $\alpha$ -Acetoxy-5 $\alpha$ -Verbindung XV ist möglicherweise darin begründet, dass in der nicht weiter untersuchten Mutterlauge dieses Produktes das 5 $\beta$ -Isomere überwiegt.

welches alkalisch zur Dihydroxy-Verbindung XVI hydrolysiert wurde. Die Ketalgruppierung von XVI wurde darauf durch Erwärmen in wässriger Essigsäure hydrolysiert und die Lösung des resultierenden Dihydroxyketons direkt mit einer Chrom(VI)-oxid-Lösung in Essigsäure versetzt. Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion des so erhaltenen, chromatographisch einheitlichen Hydroxydiketons XVII lieferte ein mit (20S)-3 $\beta$ , 11 $\beta$ -20-Trihydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (VII) identisches Präparat.

**3. Mikrobiologische 11 $\alpha$ -Hydroxylierung von (20S)-3-Oxo-20-hydroxy- $\Delta^4$ -18,20-cyclo-pregnen (XVIII).** Ein weitaus ergiebigerer Zugang zu 11-oxygenierten 18,20-Cyclo-Steroiden konnte durch die mikrobiologische Einführung einer 11 $\alpha$ -Hydroxylgruppe in das schon früher beschriebene (20S)-3-Oxo-20-hydroxy- $\Delta^4$ -18,20-cyclo-pregnen (XVIII)<sup>5)</sup> erschlossen werden.

So ergab eine 22stündige Inkubation von XVIII mit einer Submerskultur von *Aspergillus ochraceus* WILHELM nebst wenig Ausgangsmaterial in 85-proz. Ausbeute<sup>17)</sup> ein einheitliches, kristallines Produkt, (20S)-3-Oxo-11 $\alpha$ , 20-dihydroxy- $\Delta^4$ -18,20-cyclo-pregnen (XIX), das in jeder Hinsicht identisch war mit dem durch saure Hydrolyse des 11 $\alpha$ , 20-Dihydroxy-ketals XIV zugänglichen Dihydroxyketon.



In orientierenden Vorversuchen unter Einbeziehung von *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus nigricans* und *Aspergillus niger* hatte man festgestellt, dass ausser *Aspergillus ochraceus* auch *Rhizopus arrhizus* XVIII zum 11 $\alpha$ -hydroxylierten Produkt XIX umsetzt, jedoch in schlechterer Ausbeute und weniger einheitlich. *Rhizopus nigricans*<sup>18)</sup> und *Aspergillus niger*<sup>19)</sup> hingegen, welche sich bei Progesteron und hydroxylierten Abkömmlingen davon (z. B. REICHSTEIN'S Substanz S) recht gut zur Einführung der 11 $\alpha$ -Hydroxyl-Funktion eignen, versagten beim 18,20-Cyclosteroid XVIII ganz.

Die 18,20-Cyclo-Verbindung XVIII weicht hinsichtlich des strukturellen und sterischen Aufbaus im Bereich der Ringe D und E beträchtlich von gewöhnlichen tetracyclischen Steroiden ab. Dieser Unterschied spiegelt sich ebenfalls im Verhalten der erwähnten Mikroorganismen wieder, indem nicht alle, die sich sonst gut zur 11 $\alpha$ -Hydroxylierung von Steroiden eignen, auch in XVIII eine 11 $\alpha$ -Hydroxylgruppe einzuführen vermögen. Diese bemerkenswerte Substrat-Selektivität der Mikroorganismen dürfte auch für die Kenntnis der für solche Oxydationen massgebenden Faktoren von Bedeutung sein.

Die Tatsache, dass aus der 11 $\alpha$ , 20-Dihydroxy-Verbindung XIV und aus dem 20S-Alkohol XVIII durch saure Hydrolyse bzw. mikrobiologische Hydroxylierung dasselbe Produkt XIX erhalten wird, stellt dank der Reaktionsfolge



einen lückenlosen Beweis für die (20S)-20-Hydroxy-18,20-cyclo-pregnan-Struktur der Photoprodukte VI und XIII und deren Derivate dar.

<sup>17)</sup> Berechnet unter Berücksichtigung des zurückgewonnenen Ausgangsmaterials.

<sup>18)</sup> D. H. PETERSON, H. C. MURRAY, S. H. EPPSTEIN, L. M. REINEKE, A. WEINTRAUB, P. D. MEISTER & H. M. LEIGH, J. Amer. chem. Soc. 74, 5933 (1952).

<sup>19)</sup> J. FRIED, R. W. THOMA, J. R. GERKE, J. E. HERZ, M. N. DONIN & D. PERLMAN, J. Amer. chem. Soc. 74, 3962 (1952).

### Experimenteller Teil

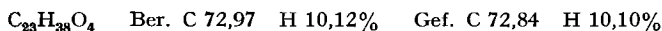
Die Lage der NMR.-Signale ist in  $\delta$ -Werten (ppm) angegeben. Als Bezugssignal diente internes Tetramethylsilan ( $\delta = 0$ ). Zur Charakterisierung der Signale werden folgende Abkürzungen verwendet: *s* (Singlett), *d* (Doublett), *m* (Multipllett), *b* (breites, nicht strukturiertes Signal); die in Klammern angefügten Zahlen betreffen die durch elektronische Integration ermittelte, auf- bzw. abgerundete Protonenzahl.

Die Smp. sind nicht korrigiert und wurden in einer im Hochvakuum zugeschmolzenen Kapillare bestimmt. Die spezifischen Drehungen sind, falls nicht anders erwähnt, in Chloroformlösung in einem Rohr von 1 dm Länge gemessen worden. Die Analysenpräparate wurden im allgemeinen im Hochvakuum je nach Smp. 48 Std. bei Zimmertemperatur oder bei 80–100° getrocknet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnahme des Reaktionsgemisches in Äther, Waschen der organischen Phase mit Wasser bis zum Neutralpunkt und Eindampfen der über wasserfreiem Natriumsulfat getrockneten Ätherlösung im Rotationsverdampfer.

Die UV.-Bestrahlungen wurden in einem aus Quarz gefertigten Gefäß ausgeführt, in welchem die Lichtquelle zentral angeordnet ist und mit Wasser gekühlt wird. Die Bestrahlungen erfolgten bei Zimmertemperatur in optisch reinem Äthanol unter Stickstoffatmosphäre.

#### A. Versuche mit 3 $\beta$ ,11 $\beta$ -Diacetoxy-20-oxo-5 $\alpha$ -pregnan (III)

3 $\beta$ ,11 $\beta$ -Dihydroxy-20-äthylendioxy-5 $\alpha$ -pregnan (II)<sup>20</sup>. Eine Lösung von 1,0 g 3 $\beta$ -Acetoxy-11-oxo-20-äthylendioxy-5 $\alpha$ -pregnan (I)<sup>18</sup> und 1,0 g Lithiumaluminiumhydrid in 100 ml abs. Äther wurde 2½ Std. zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Reaktionslösung wurde darauf unter Eiskühlung tropfenweise mit Essigester bis zur vollständigen Zerstörung des überschüssigen Reduktionsmittels versetzt und dann auf Eis gegossen. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man 920 mg Rohprodukt, welches nach dreimaliger Kristallisation aus Äther-Hexan (810 mg) konstant bei 166–168° schmolz.  $[\alpha]_D^{25} = +65^\circ$  ( $c = 0,92$ ). IR.-Absorptionsspektrum (CHCl<sub>3</sub>): Bande bei 3625 cm<sup>-1</sup>.



3 $\beta$ ,11 $\beta$ -Diacetoxy-20-oxo-5 $\alpha$ -pregnan (III)<sup>20</sup>. 0,342 g der Verbindung II wurde in 10 ml Eisessig und 2 ml Acetanhydrid gelöst und unter Eiskühlung mit 100 mg p-Toluolsulfonsäure versetzt. Nach 12stdg. Reaktionsdauer bei Zimmertemperatur wurde wie üblich aufgearbeitet. Das resultierende Rohprodukt wurde an 12 g neutralem Aluminiumoxid (Akt. II) chromatographiert.

Fraktion	Lösungsmittel	ml	Eluat mg	Smp.)* °C	Bemerkungen
1–3	Petroläther-Benzol 3:1	300	83		Öl
4–5	Petroläther-Benzol {3:1 2:1	100 100	159	115–116	Kristalle
6–8	Petroläther-Benzol {2:1 1:1	200 100	142		Öl
9–10	{Petroläther-Benzol 1:1 Benzol	100 100	234	102–103	Kristalle
11	Benzol . . . . .	100	83		Öl
12	Benzol . . . . .	100	67	183	Kristalle
13–17	{Benzol . . . . . Benzol-Äther . . . . . 9:1	100 300	445		Öl
18–20	{Äther . . . . . Äther . . . . .	100 300	368	173	Kristalle
21–22	{Äther . . . . . Methanol . . . . .	100 200	161		Öl

\*) Nach Kristallisation aus Äther-Petroläther.

<sup>20</sup>) Teilweise mitbearbeitet von Herrn W. WEHRLI, Diplomarbeit ETH (Juli 1959).

Die Petroläther-Benzol-(1:1)- und Benzol-Eluate lieferten 245 mg Kristalle, die nach vierfacher Umkristallisation aus Äther-Hexan konstant bei 176–178° schmolzen.  $[\alpha]_D = +96^\circ$  ( $c = 0,95$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 1730, 1708 (Schulter) und 1255  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$  Ber. C 71,74 H 9,15% Gef. C 71,93 H 9,24%

UV.-Bestrahlung von  $3\beta, 11\beta$ -Diacetoxy-20-oxo-5 $\alpha$ -pregnan (III)<sup>21</sup>). 2,10 g Keton III wurden in 1,250 l Äthanol gelöst und 4 Std. bestrahlt<sup>22</sup>). Die Lösung wurde darauf im Rotationsverdampfer eingedampft und an 60 g neutralem Aluminiumoxid (Akt. II) chromatographiert.

Die Fraktionen 4–5 (159 mg) bestanden aus  $1\beta$ -Vinyl-2-methylen-4 $\beta, 7\beta$ -diacetoxy-4 $\beta\beta$ -methyl-4 $\alpha\alpha, 8\alpha\alpha, 10\alpha\beta$ -tetradecahydrophenanthren (V). Nach dreimaliger Kristallisation aus Äther-Petroläther schmolz das Präparat konstant bei 115–116°.  $[\alpha]_D = +50^\circ$  ( $c = 0,64$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CS}_2$ ): Banden bei 3090, 1736, 1648, 1245, 998, 966, 946, 914 und 897  $\text{cm}^{-1}$ . UV.-Absorptionsspektrum ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ): Endabsorption. NMR.-Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ )<sup>23</sup>):  $\delta = 0,83/s$  4 $\beta\beta$ - $\text{CH}_3$ ; 2,01/s 4 $\beta$ - & 7 $\beta$ - $\text{OOCCH}_3$ ; ca. 4,70/b 2- $\text{CH}_2$ ,  $\alpha$ -CH-4 &  $\alpha$ -CH-7, und ca. 5,28/b 1 $\beta$ - $\text{CH}=\text{CH}_2$  (7).

$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$  Ber. C 73,03 H 8,97% Gef. C 73,30 H 8,95%

Aus den Fraktionen 9–10 (234 mg) erhielt man nach dreimaliger Kristallisation aus Äther-Petroläther  $3\beta, 11\beta$ -Diacetoxy-20-oxo- $\Delta^{13(18)}$ -13,17-seco-5 $\alpha$ -pregnen (IV) vom Smp. 102–103°.  $[\alpha]_D = +30^\circ$  ( $c = 0,84$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 1730–1710 (breit), 1650, 1255 und 893  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (25 mg in 0,45 ml 50%  $\text{CCl}_4$  + 50%  $\text{CDCl}_3$ )<sup>24</sup>):  $\delta = 0,81/s$  (3)  $\text{CH}_3$ -19; 1,96 + 1,98/s + s (3 + 3) 3 $\beta$ - & 11 $\beta$ - $\text{OOCCH}_3$ ; 2,11/s (3)  $\text{CH}_3$ -21; ca. 4,7/b (1)  $\alpha$ -CH-3; 4,70/2b (2)  $\text{CH}_2$ -18; ca. 5,26/b (1)  $\alpha$ -CH-11.

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$  Ber. C 71,74 H 9,15% Gef. C 71,58 H 9,20%

Fraktion 12 (67 mg) lieferte nach viermaligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther (20R)- $3\beta, 11\beta$ -Diacetoxy-20-hydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (IX) vom Smp. 183°. IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3620, 1725 und 1255  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$  Ber. C 71,74 H 9,15% Gef. C 71,00 H 9,30%

Aus den Fraktionen 18–20 (368 mg) fiel kristallines (20S)- $3\beta, 11\beta$ -Diacetoxy-20-hydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (VI) an, welches, viermal aus Äther-Petroläther umkristallisiert, einen konstanten Smp. von 173° aufwies.  $[\alpha]_D = +40^\circ$  ( $c = 0,90$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3620; 1725 und 1260  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (45 mg in 0,45 ml 50%  $\text{CCl}_4$  + 50%  $\text{CDCl}_3$ )<sup>24</sup>):  $\delta = 0,82/s$  (3)  $\text{CH}_3$ -19; 1,08/s (3)  $\text{CH}_3$ -21; 1,70/s 20-OH; 2,01/s (6) 3 $\beta$ - & 11 $\beta$ - $\text{OOCCH}_3$ ; ca. 4,65/b (1)  $\alpha$ -CH-3; ca. 5,44/b (1)  $\alpha$ -CH-11.

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$  Ber. C 71,74 H 9,15% Gef. C 71,92 H 9,06%

(20S)- $3\beta, 11\beta, 20$ -Trihydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (VII). Eine Lösung von 128 mg des Diacetats VI in 20 ml abs. Äther wurde mit 130 mg Lithiumaluminiumhydrid 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten der Reaktionslösung wurde das überschüssige Reduktionsmittel durch Zutropfen von Essigester unter Eiskühlung zerstört und das Gemisch mit verd. Schwefelsäure angesäuert. Das nach der üblichen Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde aus Petroläther-Äther kristallisiert (Smp. 226–228°) und zur Analyse bei 165° im Hochvakuum sublimiert: Smp. 231,5–232°.  $[\alpha]_D = +12^\circ$  ( $c = 0,80$ , in Pyridin). IR.-Absorptionsspektrum (Nujol): Banden bei 3480 und 3300  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_3$  Ber. C 75,40 H 10,25% Gef. C 75,44 H 10,32%

(20S)- $3\beta$ -Acetoxy-11 $\beta, 20$ -dihydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (VIII). 60 mg des Triols VII wurden in je 1,5 ml Acetanhydrid und Pyridin gelöst und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Lösung wurde darauf in Äther aufgenommen und die organische Phase nach-

<sup>21</sup>) Teilweise mitbearbeitet von Herrn D. Szűcs, Diplomarbeit ETH (April 1960).

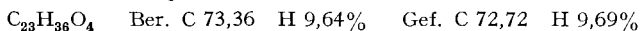
<sup>22</sup>) Lichtquelle: Biosolbrenner A, Nr. 10/27, 250 Watt (PHILIPS).

<sup>23</sup>) Dieses NMR.-Spektrum wurde bei einer konstanten Frequenz von 25 Megahertz gemessen und die Lage der Signale nach der Seitenbandmethode bestimmt. Wir verdanken die Aufnahme den Herren Prof. H. PRIMAS und P. BOMMER, Physikal.-chem. Laboratorium der ETH.

<sup>24</sup>) Die Aufnahme dieses NMR.-Spektrums erfolgte durch Fräulein Dr. D. MEUCHE und Herrn A. WALSER, Organ.-chem. Laboratorium der ETH, auf einem VARIAN-Spektrographen, Mod. A-60, bei 60 Megahertz und einer Feldänderungsgeschwindigkeit von 1 Hz/s.



einander mit verdünnter Schwefelsäure und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und wie üblich aufgearbeitet. Das resultierende Rohprodukt wurde an neutralem Aluminiumoxid (Akt. II) chromatographiert. Mit Petroläther-Benzol-(1:1)-Gemisch und Benzol konnten in quantitativer Ausbeute Kristalle isoliert werden, die nach dreifacher Kristallisation aus Äther-Hexan einen konstanten Smp. von 187,5–188° aufwiesen.  $[\alpha]_D = +31^\circ$  ( $c = 1,43$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3620, 1727 und 1265  $\text{cm}^{-1}$ .



### B. Versuche mit 3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-oxo- $\Delta^5$ -pregnen (X)

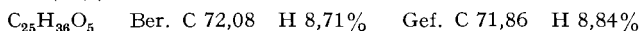
UV.-Bestrahlung von 3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-oxo- $\Delta^5$ -pregnen (X)<sup>25</sup>. 2,0 g Keton X wurden in 500 ml Äthanol gelöst und 6 Std. bestrahlt<sup>25</sup>. Nach dem Eindampfen der Lösung im Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt an 60 g neutralem Aluminiumoxid (Akt. II) chromatographiert.

Fraktion	Lösungsmittel	ml	Eluat mg	Smp.* °C	Bemerkungen
1–4	Benzol . . . . .	400	298		Öl
5–12	{Benzol-Äther 9:1 . . . . .	500}	524		Öl
	{Benzol-Äther 4:1 . . . . .	300}			
13	Benzol-Äther 1:1 . . . . .	100	118		Öl+ Kristalle
14–21	{Benzol-Äther 1:1 . . . . .	500}	581	161	Kristalle
	{Äther . . . . .	300}			
22–23	Methanol . . . . .	200	408		Öl

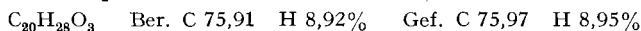
\*) Nach einmaliger Kristallisation aus Aceton-Petroläther.

Die Fraktionen 1–4 (298 mg) waren ein nach Dünnschicht-Chromatogramm (Träger: Kieselgel G, MERCK; Fließmittel: Benzol-Methanol-(19:1)) einheitliches Öl. IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CS}_2$ ): Banden bei 3070, 1732, 1644, 1240, 995, 963, 916 und 900  $\text{cm}^{-1}$ . UV.-Absorptionsspektrum: Endabsorption ( $\text{C}_9\text{H}_5\text{OH}$ ). Es handelt sich um 1 $\beta$ -Vinyl-2-methylen-4 $\alpha$ -acetoxy-4 $\beta$ -methyl-7-äthylendioxy- $\Delta^8$ -4 $\alpha$ ,10 $\alpha\beta$ -dodecahydrophenanthren (XI).

Aus den Fraktionen 14–21 (581 mg) liess sich kristallines (20S)-3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-hydroxy- $\Delta^5$ -18,20-cyclo-pregnen (XIII) gewinnen, das viermal aus Aceton-Petroläther umgefällt wurde und einen konstanten Smp. von 163° zeigte  $[\alpha]_D = -13^\circ$  ( $c = 1,27$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3620, 1725 und 1255  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ )<sup>24</sup>):  $\delta = 1,00/s$  (3)  $\text{CH}_3$ -19; 1,09/s (3)  $\text{CH}_3$ -21; 1,99/s (3) 11 $\alpha$ -OOCCH<sub>3</sub>; 3,91/s (4) 3-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O-; ca. 5,01/b (1)  $\beta$ -CH-11; ca. 5,38/b (1) CH-6.



1 $\beta$ -Vinyl-2-methylen-4 $\alpha$ -hydroxy-4 $\beta$ -methyl-7-äthylendioxy- $\Delta^8$ -4 $\alpha$ ,10 $\alpha\beta$ -dodecahydrophenanthren (XII). 150 mg des öligen Acetats XI wurden 1 Std. in 5-proz. methanolischer Kalilauge gekocht und dann das Gemisch wie üblich aufgearbeitet. Es fielen 110 mg Kristalle an, die in Ätherlösung durch wenig neutrales Aluminiumoxid (Akt. II) filtriert wurden. Nach dreimaliger Kristallisation aus Aceton-Petroläther schmolz das Präparat konstant bei 141,5–142°.  $[\alpha]_D = -33^\circ$  ( $c = 0,63$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3620, 3070 (Schulter), 1650, 998, 965, 948, 920 und 901  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (41 mg in 0,4 ml 50%  $\text{CCl}_4$  + 50%  $\text{CDCl}_3$ )<sup>24</sup>):  $\delta = 1,12/s$  (3) 4 $\beta$ -CH<sub>3</sub>; ca. 3,73/b (1)  $\beta$ -CH-4; 3,92/s (4) 7-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O-; ca. 4,7/2b (2) 2-CH<sub>2</sub>; ca. 5,0–6,0/m (4) 1 $\beta$ -CH=CH<sub>2</sub> & CH-9.



(20S)-3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ ,20-dihydroxy- $\Delta^5$ -18,20-cyclo-pregnen (XIV). 250 mg der Verbindung XIII wurden 1 Std. in 10 ml 5-proz. methanolischer Kalilauge bei Siedetemperatur verseift und das Reaktionsgemisch wie üblich aufgearbeitet. Man erhielt 240 mg Kristalle, die zweimal aus

<sup>25</sup>) Lichtquelle: Hochdruckbrenner Q 81 (QUARZLAMPEN GMBH., Hanau).

Methylenchlorid-Petroläther umkristallisiert wurden und einen konstanten Smp. von 207–208° zeigten.  $[\alpha]_D = -14^\circ$  ( $c = 0,81$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Bande bei 3620  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_4$  Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 73,67 H 9,08%

(20S)-3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-hydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (XV). 50 mg der  $\Delta^5$ -ungesättigten Verbindung XIII wurden in 7,5 ml Äthanol in Gegenwart von 50 mg 5-proz. Palladiumkohle hydriert. Die Wasserstoffaufnahme betrug 3,5 ml innert 20 Min. Nach dem Eindampfen der vom Katalysator befreiten Lösung resultierte ein gegen Tetranitromethan gesättigtes Rohprodukt, welches, zweimal aus Aceton-Petroläther umkristallisiert, konstant bei 166–167° schmolz (18 mg).  $[\alpha]_D = +16^\circ$  ( $c = 0,95$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3600, 1725 und 1255  $\text{cm}^{-1}$ . NMR.-Spektrum (9 mg in 0,3 ml  $\text{CDCl}_3$ )<sup>24</sup>):  $\delta = 0,83/s$  (3)  $\text{CH}_3$ -19; 1,09/s (3)  $\text{CH}_3$ -21; 1,98/s (3) 11 $\alpha$ - $\text{OOCCH}_3$ ; 3,91/s (4) 3-O( $\text{CH}_2$ )<sub>2</sub>O-; ca. 4,93/ $\beta$  (1)  $\beta$ -CH-11.

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$  Ber. C 71,74 H 9,15% Gef. C 71,78 H 9,22%

Überführung der Verbindung XV in die (20S)-3 $\beta$ ,11 $\beta$ ,20-Trihydroxy-Verbindung VII. 65 mg des 11 $\alpha$ -Acetats XV wurden 1/2 Std. in 5 ml 5-proz. methanolischer Kalilauge in der Siedehitze verseift. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man 60 mg (20S)-3-Äthylendioxy-11 $\alpha$ ,20-dihydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (XVI), welches nach einmaliger Kristallisation aus Aceton-Petroläther bei 174–176° schmolz. IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3600 und 3550  $\text{cm}^{-1}$ .

Das so erhaltene Dihydroxyketal XVI (56 mg) wurde in 5 ml 90-proz. Essigsäure 1 Std. auf dem Wasserbad erwärmt. Die abgekühlte Lösung versetzte man darauf tropfenweise mit einer Lösung von 60 mg Chrom(VI)-oxid in 3 ml 90-proz. Essigsäure unter Rühren. Nach 1stdg. Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurde das überschüssige Oxydationsmittel mit etwas Methanol zerstört und die Lösung im Rotationsverdampfer eingedunstet. Der Rückstand wurde in Äther aufgenommen, die organische Phase mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wurde an 1 g neutralem Aluminiumoxid (Akt. II) chromatographiert und mit Benzol-Äther-(5:1)-Gemisch und Äther 26 mg kristallines (20S)-3,11-Dioxy-20-hydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (XVII) isoliert. IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3580 und 1700  $\text{cm}^{-1}$ .

Das nicht weiter gereinigte Hydroxydiketon XVII (14 mg) wurde in 2,5 ml abs. Äther mit 30 mg Lithiumaluminiumhydrid 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Die erkaltete Reaktionslösung wurde zur Zerstörung des überschüssigen Reduktionsmittels tropfenweise mit etwas Essigester und darauf mit verd. Salzsäure versetzt und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt kristallisierte beim Bespritzen mit Äther: Smp. 219–223°. Eine Mischprobe mit (20S)-3 $\beta$ ,11 $\beta$ ,20-Trihydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan (VII) zeigte keine Depression, und die IR.-Absorptionsspektren (Nujol) beider Präparate waren deckungsgleich.

(20S)-3-Oxo-11 $\alpha$ ,20-dihydroxy- $\Delta^4$ -18,20-cyclo-pregnen (XIX). Eine Lösung von 100 mg Ketal XIV in 3 ml Eisessig, 2,5 ml Methanol und 1,5 ml Wasser wurde 1 1/2 Std. auf 60° erwärmt und dann wie üblich aufgearbeitet. Es resultierten 80 mg Rohprodukt, die zweimal aus Aceton umkristallisiert wurden und bei 205–206° schmolzen. Die IR.- (Banden bei 3620, 1665 und 1617  $\text{cm}^{-1}$  in  $\text{CHCl}_3$ ) und UV.-Absorptionsspektren ( $\lambda_{max}$  bei 243  $m\mu$ ,  $\epsilon = 15700$  in  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) waren deckungsgleich mit denjenigen der durch mikrobiologische Hydroxylierung von XVIII erhaltenen Verbindung XIX. Die beiden Präparate waren auch hinsichtlich des Misch-Smp. und des Dünnschicht-Chromatogramms (Träger: Kieselgel G, MERCK; Fließmittel: Benzol-Methanol-(9:1)) identisch.

### C. Mikrobiologische Oxydation von (20S)-3-Oxo-20-hydroxy- $\Delta^4$ -18,20-cyclo-pregnen (XVIII)

4 l einer Nährlösung, die auf 1 l Leitungswasser 2,6 g Weinsäure, 2,6 g Ammoniumtartrat, 0,17 g Ammoniumsulfat, 0,4 g sek.-Ammoniumphosphat, 0,4 g Kaliumcarbonat, 0,27 g Magnesiumcarbonat, 50 g Glucose und 1 g Difco-Hefeextrakt enthält und auf pH 5 eingestellt ist, wurden in einem Schüttelgefäß sterilisiert und mit einer 2 Tage alten Erlenmeyer-Kultur von *Aspergillus ochraceus* WILHELM beimpft. Unter Durchleiten von Luft liess man den Pilz bei einer Temperatur von 26–28° während 33 Std. weiterwachsen und gab dann 1,2 g (20S)-3-Oxo-20-hydroxy- $\Delta^4$ -18,20-cyclo-pregnen (XVIII)<sup>5</sup>, gelöst in 35 ml Äthanol, zu. Nach 22stdg. Inkubation unter gleichen Bedingungen wurde vom Mycel abgenutscht und dieses mit drei Portionen von

3, 2 und 1 l Äthylacetat gründlich gewaschen. Die anfallenden Filtrate wurden zur Extraktion des mit Natriumchlorid gesättigten Kulturfiltrates verwendet. Die Äthylacetat-Auszüge wurden mit 1,5 l 10-proz. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der verbleibende Rückstand, 1,5 g, wurde an 20 g entaktiviertem Silicagel (enthaltend 15 Gew.-% Wasser) chromatographiert. Die Methylenchlorid-Fractionen gaben nach Kristallisation aus Aceton-Äther 322 mg Ausgangsteroid (XVIII) vom Smp. 194,5–196°. Mit Methylenchlorid-Aceton- (9:1)-, (17:3)- und (4:1)-Gemischen liessen sich insgesamt 789 mg praktisch einheitliches (20*S*)-3-*Oxo-11α, 20-dihydroxy-Δ<sup>4</sup>-18, 20-cyclo-pregnen* (XIX) eluieren, welches, aus Aceton umkristallisiert, konstant bei 205–206° schmolz.  $[\alpha]_D^{25} = +113 \pm 2^\circ$  ( $c = 0,554$ , in Dioxan).

$C_{21}H_{30}O_3$  Ber. C 76,32 H 9,15% Gef. C 76,41 H 9,19%

IR.-Absorptionsspektrum (Nujol): Banden bei 3413, 1657 und 1608  $cm^{-1}$ . UV.-Absorptionsspektrum (Äthanol):  $\lambda_{max}$  bei 243  $m\mu$  ( $\epsilon = 15700$ ). Die Substanz erwies sich bei der papierchromatographischen Prüfung als einheitlich und hat folgende Rf-Werte: Bush Bl<sub>1</sub> (38°) 0,35; Bush C (38°) 0,63; Formamid/Benzol-Chloroform-(1:1) (22°) 0,44; Formamid/Chloroform (22°) 0,73; Formamid-Butylacetat-Wasser-(100:5) (22°) 0,67; Formamid/Chloroform-Dioxan-Butanol-(7:2:1) (22°) 0,85.

NMR.-Spektrum von XVIII (12,6 mg in 0,4 ml  $CDCl_3$ )<sup>26</sup>):  $\delta = 1,12/s$   $CH_3-19$  &  $CH_3-21$ ; 5,74/s CH-4.

NMR.-Spektrum von XIX (13,2 mg in 0,4 ml  $CDCl_3$ )<sup>26</sup>):  $\delta = 1,12/s$   $CH_3-21$ ; 1,25/s  $CH_3-19$ ; ca. 3,75/b  $\beta$ -CH-11; 5,74/s CH-4.

*Bemerkungen zum Natronlaugenfluoreszenz-Test von XVIII und XIX:* Es ist ein frappanter Unterschied im Natronlaugenfluoreszenz-Test zwischen dem 18, 20-Cyclosteroid XVIII und dessen 11α-Hydroxy-Derivat XIX festzustellen. Die Fluoreszenz fehlt bei XVIII ganz; bei XIX ist sie mindestens als normal, wenn nicht als überdurchschnittlich intensiv zu bezeichnen. Der verstärkende Einfluss von anwesenden Hydroxylgruppen (speziell in Stellung 11) auf die Intensität der Fluoreszenz mit Natronlauge von Δ<sup>4</sup>-3-Keto-Steroiden ist zwar vom Beispiel des Progesterons her hinlänglich bekannt<sup>27</sup>). In unserem Fall mit dem pentacyclischen Steroid wird aber durch die Einführung einer 11α-Hydroxylgruppe nicht eine an sich schwache Fluoreszenz verstärkt, sondern überhaupt erst hervorgerufen. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei 18-Hydroxyprogesteron<sup>28</sup>), welches ja auch pentacyclisch in Form seines 18,20-Hemiketals vorliegt und mit Natronlauge äusserst schwach fluoresziert<sup>29</sup>). Auch dort weist das 11α-Hydroxy-Derivat eine ganz normale Fluoreszenz auf.

#### D. Anhang: Überführung von (20*S*)-3-Äthylendioxy-20-hydroxy-21-acetoxy-Δ<sup>5</sup>-18, 20-cyclo-pregnen ( $e_1$ ) in (20*S*)-3β, 21-Diacetoxy-20-hydroxy-18, 20-cyclo-5α-pregnan ( $e_4$ )

(20*S*)-3-Äthylendioxy-20-hydroxy-21-acetoxy-18, 20-cyclo-5α-pregnan ( $e_2$ ). Eine Lösung von 277 mg (20*S*)-3-Äthylendioxy-20-hydroxy-21-acetoxy-Δ<sup>5</sup>-18, 20-cyclo-pregnen ( $e_1$ ) in 25 ml Äthanol wurde zu einer vorhydrierten Aufschlämmung von 225 mg Palladiumkohle in 15 ml Äthanol gegeben. Nach einer Aufnahme von 16 ml Wasserstoff wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Das gegen Tetranitromethan gesättigte Rohprodukt schmolz nach dreimaligem Umkristallisieren aus Methylenchlorid-Aceton konstant bei 197°.  $[\alpha]_D = +24^\circ$  ( $c = 1,05$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $CHCl_3$ ): Banden bei 3595, 1730 und 1250  $cm^{-1}$ .

$C_{25}H_{38}O_5$  Ber. C 71,74 H 9,15% Gef. C 71,67 H 9,05%

<sup>26</sup>) Die Aufnahme dieses NMR.-Spektrums erfolgte durch die Herren Dr. R. F. ZÜRCHER und E. LÄNGIN, Physikalisches Laboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT (Leitung: Dr. E. GANZ) auf einem modifizierten VARIAN-Spektrographen, Mod. V-4302, bei 60 Megahertz. Die Lage der Signale wurde nach der Seitenbandmethode gemessen.

<sup>27</sup>) Vgl. dazu R. NEHER, Chromatographie von Sterinen, Steroiden und verwandten Verbindungen, Elsevier Publishing Company 1958, S. 57, und die dort zitierten Literaturstellen.

<sup>28</sup>) F. BUZZETTI, W. WICKI, J. KALVODA & O. JEGER, *Helv.* 42, 388 (1959).

<sup>29</sup>) Vgl. dazu R. NEHER, in L. L. ENGEL, *Physical Constants of Steroids*, Pergamon Press 1961, im Druck.

(20S)-3-Oxo-20-hydroxy-21-acetoxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan ( $e_3$ ). 243 mg des rohen Hydrierungsproduktes  $e_2$  wurden in 6 ml Eisessig-Methanol-(1:1)-Gemisch  $3\frac{1}{2}$  Std. auf 60° erwärmt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das anfallende, teilweise kristalline Produkt (214 mg) an 7 g neutralem Aluminiumoxid (Akt. II) chromatographiert. Die mit Benzol-Äther-(4:1)-Gemisch eluierten Kristalle (120 mg) schmolzen nach dreimaligem Umkristallisieren konstant bei 142–142,5°.  $[\alpha]_D = +45^\circ$  ( $c = 0,81$ ). IR.-Absorptionsspektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): Banden bei 3600, 1735, 1705 und 1245  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_4$  Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 73,84 H 9,05%

(20S)-3 $\beta$ ,21-Diacetoxy-20-hydroxy-18,20-cyclo-5 $\alpha$ -pregnan ( $e_5$ ). Zu 100 mg des rohen Ketons  $e_3$  in 5 ml Methanol wurden unter Kühlung 125 mg Natriumborhydrid in 0,6 ml Wasser getropft. Das Gemisch wurde 3 Std. bei Zimmertemperatur gerührt, darauf mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt, mit Äther extrahiert und die Ätherlösung mit verd. Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Eindampfen der getrockneten organischen Phase resultierten 85 mg teilweise kristallines Rohprodukt ( $e_4$ ).

Das Reduktionsprodukt  $e_4$  wurde direkt mit je 3 ml Pyridin und Aceanhydrid versetzt und 5 Std. bei 0° und 2 Std. bei +4° stehengelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden die anfallenden Kristalle (100 mg) an 3 g neutralem Aluminiumoxid (Akt. II) chromatographiert. Mit Benzol und Benzol-Äther-(4:1)-Gemisch eluierte man 78 mg eines Präparates, das nach dreimaliger Kristallisation konstant bei 175–176° schmolz und nach Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum (Banden bei 3570, 1725 und 1245  $\text{cm}^{-1}$  in  $\text{CHCl}_3$ ) mit dem authentischen (20S)-Alkohol  $e_5$  identisch war.

Die Analysen wurden in den mikroanalytischen Laboratorien der ETH (Leitung W. MANSER) und der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT (Leitung Dr. W. PADOWETZ) ausgeführt. Die IR.-Absorptionsspektren wurden von Fr. R. SCHENKER (Physikalisches Laboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Leitung Dr. E. GANZ) und von Fr. V. KLOPFSTEIN und Herrn R. DOHNER, Organisch-chemisches Laboratorium der ETH, aufgenommen.

#### SUMMARY

11-Oxygenated 18,20-cyclo-steroids have been prepared by two methods:

1. Irradiation of 3 $\beta$ ,11 $\beta$ -diacetoxy-20-oxo-5 $\alpha$ -pregnane and of 3-ethylenedioxy-11 $\alpha$ -acetoxy-20-oxo- $\Delta^5$ -pregnene with ultraviolet light gave the corresponding (20S)-20-hydroxy-18,20-cyclo-pregnane derivatives as major products.

2. Incubation of (20S)-3-oxo-20-hydroxy- $\Delta^4$ -18,20-cyclo-pregnene with an *Aspergillus ochraceus* WILHELM culture furnished the corresponding 11 $\alpha$ -hydroxy derivative.

Organisch-chemisches Laboratorium der  
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich, und  
Forschungslaboratorium der  
CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel  
Pharmazeutische Abteilung