

Prom. Nr. 3106

**Mikrobiologische Reduktionen
von bicyclischen und tricyclischen Ketonen
mit *Curvularia falcata***

Von der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften
genehmigte

PROMOTIONSARBEIT

vorgelegt von
FAUSTO SCHENKER
dipl. Ing.-Chem. E. T. H.
von Bellinzona (Kt. Tessin)

Referent: Herr Prof. Dr. V. Prelog
Korreferent: Herr Prof. Dr. O. Jeger

Juris-Verlag Zürich
1960

Leer - Vide - Empty

**Ai miei carissimi Genitori
con profonda riconoscenza**

A mia moglie con affetto

Leer - Vide - Empty

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. V. Prelog,

unter dessen Leitung die vorliegende Arbeit durchgeführt wurde, möchte ich für die vielen wertvollen Ratschläge und Anregungen sowie für die unermüdliche Hilfe, die er mir stets zuteil werden liess, besonders herzlich danken.

Besonderen Dank schulde ich der

Martha Selve-Gerdtsen-Stiftung

für die grosszügige Unterstützung, die sie dieser Arbeit angedeihen liess.

Leer - Vide - Empty

Inhaltsverzeichnis

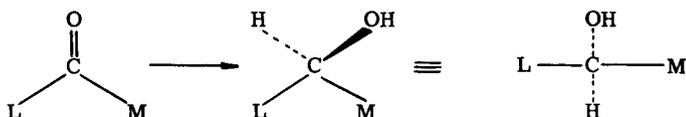
	Seite
1. THEORETISCHER TEIL	9
1.1 Einleitung	9
1.2 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-cis- und trans-Hydrindanon-(4) mit <i>Curvularia falcata</i>	10
1.3 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren mit <i>Curvularia falcata</i>	19
1.4 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren mit <i>Curvularia falcata</i>	25
1.5 Diskussion der Ergebnisse	28
1.6 IR.-Absorptionsspektren	30
2. EXPERIMENTELLER TEIL	34
2.1 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-cis- und trans-Hydrindanon-(4) mit <i>Curvularia falcata</i>	34
2.11 Herstellung des Ausgangsmaterials	34
2.12 Vorversuche	36
2.13 Umsetzungen mit wachsenden Kulturen von <i>Curvularia falcata</i>	37
2.14 Einzelne Verbindungen	39
2.2 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren mit <i>Curvularia falcata</i>	44
2.21 Vorversuche	44
2.22 Umsetzungen mit "ruhenden" Kulturen von <i>Curvularia falcata</i>	44
2.23 Herstellung des sauren Silicagels	46
2.24 Einzelne Verbindungen	46
2.3 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren mit <i>Curvularia falcata</i>	50
2.31 Herstellung des Ausgangsmaterials	50
2.32 Vorversuche	51

2.33 Umsetzung mit wachsenden Kulturen von <i>Curvularia fal-</i> <i>cata</i>	51
2.34 Einzelne Verbindungen	52
3. ZUSAMMENFASSUNG	55
4. LITERATUR	56

1. THEORETISCHER TEIL

1.1 Einleitung

Um den sterischen Verlauf von mikrobiologischen Reaktionen kennenzulernen, setzte man in unserem Laboratorium zahlreiche Ketone mit verschiedenen Mikroorganismen um¹⁻¹⁶⁾. Dabei kamen jene Mikroorganismen und Methoden zur Anwendung, die sich im Steroid-Gebiet - wo ausserordentlich hohe Stereospezifitäten beobachtet werden konnten - bewährt hatten¹⁷⁾. Es wurde bald gefunden, dass *Curvularia falcata* (Tehon) Boedijn eine sehr hohe Produkt-Stereospezifität bei geringer Substrat-Spezifität aufweist. Nebst einem aliphatischen konnte eine grosse Anzahl bicyclischer Ketone mit diesem Mikroorganismus reduziert werden. Die dabei beobachtete Produkt-Stereospezifität lässt sich schematisch wie folgt darstellen:¹⁴⁾¹⁶⁾



wobei die relative Raumbeanspruchung der Substituenten in der unmittelbaren Umgebung des Reaktionszentrums, welche auf den sterischen Verlauf der Reduktion einen wesentlichen Einfluss ausübt, durch die Symbole L (large, gross) und M (medium, mittel) wiedergegeben ist.

In unserem Laboratorium ist es weiter gelungen, aus zellfreien Extrakten von *Curvularia falcata* Enzyme zu isolieren, die imstande sind, die gleichen Substrate wie der lebende Mikroorganismus stereospezifisch zu reduzieren.

Der sterische Verlauf der untersuchten mikrobiologischen Reaktionen wurde mit der "zwei Ebenen"-Theorie arbeitshypothetisch interpretiert¹⁶⁾. Die Konsequenzen dieser Theorie werden nun eingehender geprüft.

In der vorliegenden Promotionsarbeit wurden in Fortsetzung früherer Untersuchungen folgende Substrate mit *Curvularia falcata* umgesetzt, die Umsetzungsprodukte isoliert und eingehender untersucht:

1. (±)-cis- und trans-Hydrindanon-(4)
2. (±)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren.
3. (±)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren.

Die beiden Hydrindanone-(4) wurden gewählt, weil die mikrobiologische Reduktion der Dekalone-(1) von P. Walter¹⁵⁾ bearbeitet worden ist und die Ergebnisse einen wesentlichen Beitrag zur Ableitung des erwähnten Schemas für die Produkt-Stereospezifizität lieferten. Es schien daher interessant zu untersuchen, in welchem Sinne der Ersatz des 6-Ringes im Dekalon-(1) durch einen 5-Ring die mikrobiologische Reduktion beeinflusst.

Die tricyclischen Ketone wurden verwendet, weil bisher fast ausschliesslich bicyclische Ausgangsstoffe mit *Curvularia falcata* umgesetzt worden sind. Bei den wenigen mit diesem Organismus untersuchten Steroiden hat man hauptsächlich eine Hydroxylierung in 7 α -Stellung und keine Reduktion beobachtet¹⁷⁾. Es war deshalb interessant zu sehen, wie sich in dieser Hinsicht die tricyclischen Ketone verhalten. Die beiden speziellen Beispiele hat man gewählt, weil sie, als Zwischenprodukte für Steroid-Synthesen, leicht in grösseren Mengen zugänglich sind.

1.2 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-cis- und trans-Hydrindanon-(4) mit *Curvularia falcata*

Nach W. Hückel & E. Goth¹⁸⁾ ergibt die katalytische Hydrierung von Indanol-(4), neben (\pm)-cis-Hydrindan, als Hauptprodukt ein (\pm)-cis-Hydrindanol-(4), dessen Phenylurethan aber nicht in reiner Form hergestellt werden konnte. Die selben Autoren oxydierten das erhaltene (\pm)-cis-Hydrindanol-(4) mit Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure. Aus der Untersuchung der Derivate des dabei entstandenen (\pm)-cis-Hydrindanons-(4) konnten sie schliessen, dass es wahrscheinlich etwas trans-Verbindung enthielt.

Zur Herstellung der benötigten Hydrindanone-(4) wurde das Indanol-(4) katalytisch mit Platinoxid hydriert und das Hydrierungsprodukt durch Chromatographie an Aluminiumoxyd von entstandenen Kohlenwasserstoffen befreit. Da es wichtig war, die Reinheit des für die mikrobiologische Reduktion verwendeten Ausgangsmaterials genau zu kennen, untersuchte man das erhaltene Gemisch der Alkohole gaschromatographisch^{*)}, wobei sich feststellen liess, dass dieses aus zwei Verbindungen im Verhältnis 9:1 besteht.

Durch präparative Gaschromatographie^{**)} einer kleinen Probe des Gemisches

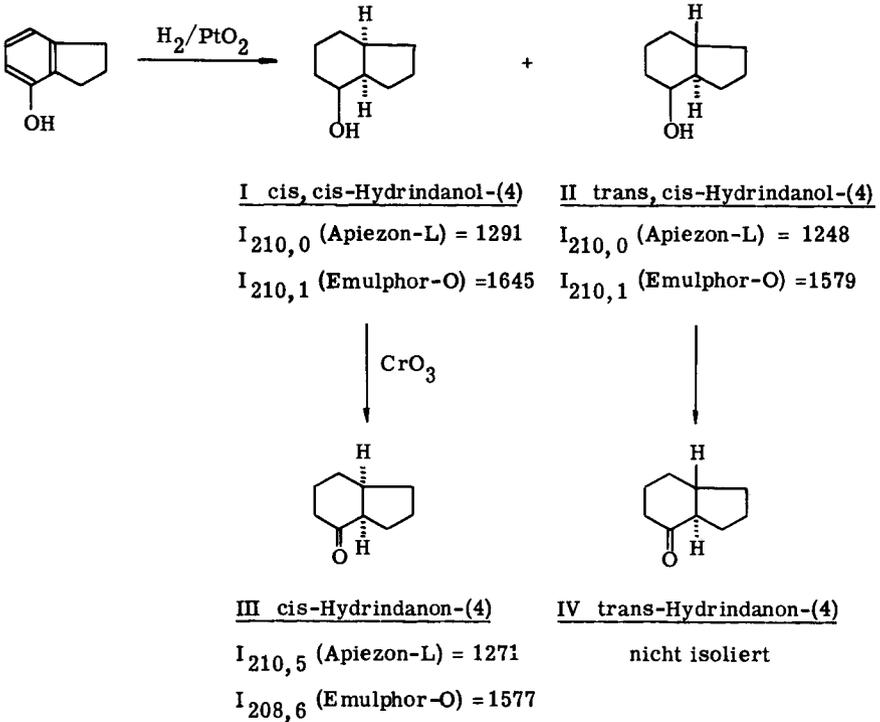
*) Herrn Dr. W. Simon sei für diese Untersuchungen herzlich gedankt.

***) Den Herren Dr. E. Kováts & E. Pieper möchte ich für die Bestimmung der Retentionsindices und die bei den präparativen gaschromatographischen Arbeiten gewährte Hilfe herzlich danken.

liessen sich zwei Alkohole isolieren:

- a) (\pm)-cis, cis-Hydrindanol-(4) ^{*)}(I): mit den Retentionsindices ^{**)} $I_{210,1}$ (Emulphor-O) = 1645 und I_{210} (Apiezon-L) = 1291;
- b) (\pm)-trans, cis-Hydrindanol-(4) (II): mit den Retentionsindices $I_{210,1}$ (Emulphor-O) = 1579 und I_{210} (Apiezon-L) = 1248.

Formelübersicht A



*) Die Bezeichnungen "cis, cis" und "trans, cis" beziehen sich auf die gegenseitige Lage der Wasserstoffatome am C₈-C₉ bzw. C₉-C₄ ¹⁹⁾.

***) Zur Definition der Retentionsindices s. E. Kováts ²⁰⁾.

Die angegebenen Konstitutionen und relativen Konfigurationen der isolierten Alkohole wurden auf Grund folgender Tatsachen abgeleitet:

Das saure Phtalat des Hauptproduktes I schmolz bei $131,5 - 132^{\circ}$; W. G. Dauben & I. Jiu¹⁹⁾ haben bewiesen, dass der Alkohol welcher diesem Derivat entspricht, die Konfiguration I besitzt. Ausserdem weist auch das NMR-Spektrum (Fig. 1) mit einer relativ scharfen Bande 1 auf eine cis-Verknüpfung der Ringe hin. Nach Beobachtungen von J. Musher & R. E. Richards²¹⁾ an Dekalin-Derivaten unterscheiden sich die NMR-Spektren von cis- und trans-Isomeren in typischer Weise. Die cis-Isomeren sind dadurch charakterisiert, dass die Banden, welche den Ring-Protonen entsprechen, scharf und ungespalten sind, während die entsprechenden Banden der trans-Isomere breit und durch spin-spin Wechselwirkungen gespalten sind.

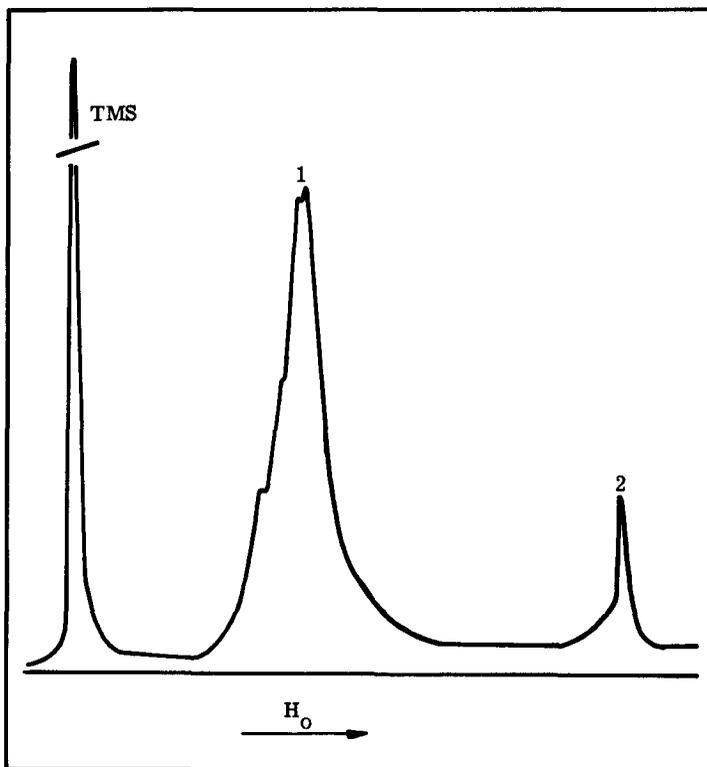


Fig. 1

Die Festlegung der Konfiguration des zweiten Alkohols (II) erfolgte durch Vergleich der Retentionsindices mit jenen der Verbindung XIV, deren Konfiguration im Verlaufe dieser Arbeit eindeutig bewiesen wurde.

Das reine racemische cis-Hydrindanon-(4) (III) erhielt man durch Oxydation von I mit Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure. Da sich jedoch die gaschromatographische Trennung von grossen Mengen als zu umständlich erwies, verwendete man als Ausgangsmaterial für die mikrobiologische Umsetzung ein Gemisch von (\pm)-cis- und trans-Hydrindanon-(4) (III, IV), welches durch Oxydation des Gemisches der Alkohole I und II erhalten worden war.

Aus Vorversuchen mit kleinen Substanzmengen liessen sich die für die mikrobiologischen Reaktionen geeigneten Reaktionsbedingungen ermitteln. Das Ausgangsmaterial wurde mit wachsenden und "ruhenden"²⁾ Kulturen von *Curvularia falcata* verschieden lang inkubiert, anschliessend filtriert und das Filtrat mit Aether oder Pentan extrahiert. Um den Verlauf der Reaktionen zu verfolgen, untersuchte man die Extrakte papierchromatographisch mit verschiedenen Lösungsmittelsystemen.

Die Vorversuche zeigten, dass *Curvularia falcata* die Hydrindanone-(4) nur langsam zu reduzieren vermag; aus diesem Grunde wurden die "ruhenden" Kulturen, die für längere Inkubationsperioden ungeeignet sind, für präparative Zwecke nicht verwendet.

Nach 2 - 3 Tagen konnte man im Extrakt aus wachsenden Kulturen vor allem Reduktionsprodukte feststellen, und nur nach längeren Inkubationszeiten liessen sich in den Papierchromatogrammen auch Flecken von höher polaren Verbindungen finden. Es spielt demnach bei Hydrindanonen-(4) ebenso wie bei Dekalonen-(1)¹⁵⁾ die Hydroxylierung eine untergeordnete Rolle, was auch durch die präparativen Versuche bestätigt werden konnte.

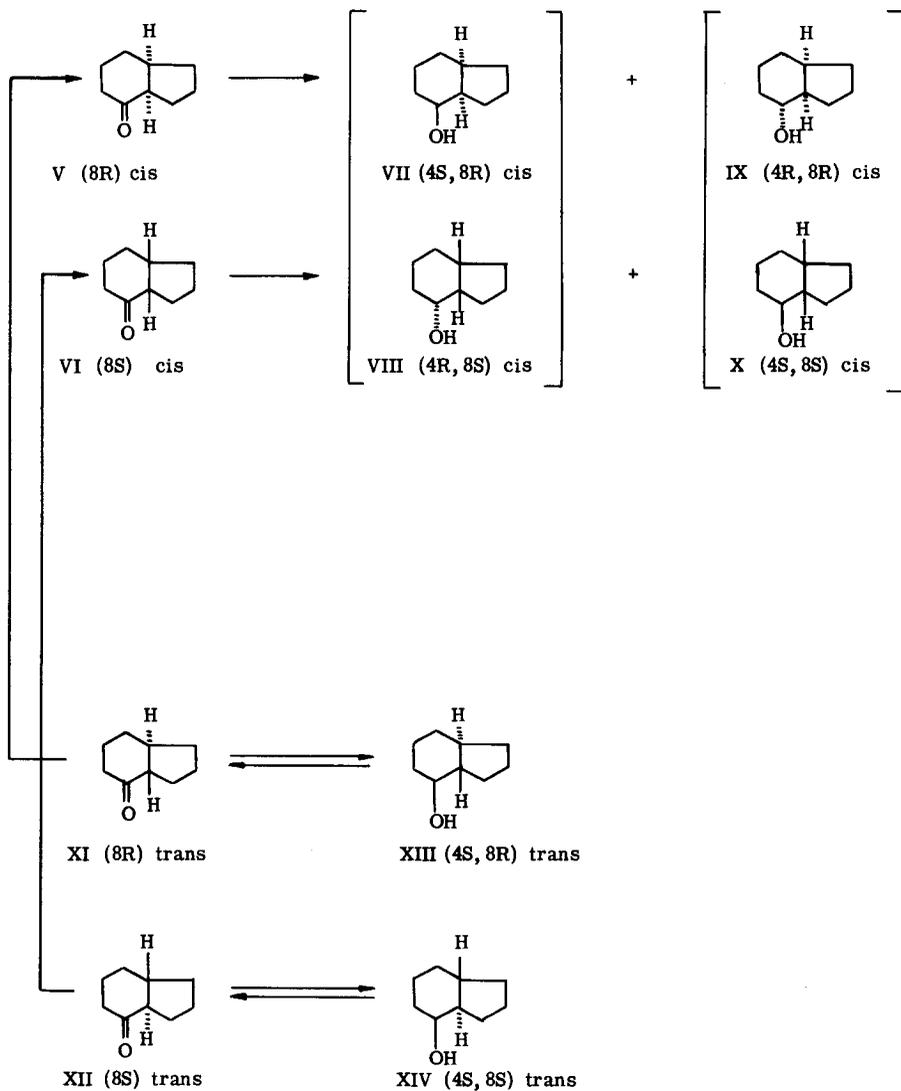
Die präparative Umsetzung mit wachsenden Kulturen von *Curvularia falcata* wurde in zwei Ansätzen durchgeführt. Aus dem ersten Ansatz konnten durch eine Kombination von Chromatographie an Aluminiumoxyd und präparativer Gaschromatographie folgende Produkte gewonnen werden:

- a) ein Gemisch von (4S, 8R)-cis- und (4R, 8S)-cis-Hydrindanol-(4)^{*)}(VII, VIII):
 $[\alpha]_D = + 7^{\circ}$.

Das IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen war praktisch identisch mit jenem des racemischen (\pm)-cis, cis-Hydrindanols-(4)(I)(Kurve 1).

*) Konfigurative Bezeichnung nach Cahn-Ingold-Prelog²²⁾.

Formelübersicht B



- b) ein Gemisch von (4R, 8R)-cis- und (4S, 8S)-cis-Hydrindanol-(4) (IX, X):
 $[\alpha]_D = + 47^{\circ}$. IR. -Absorptionsspektrum Kurve 3.
- c) (+)-(4S, 8R)-trans-Hydrindanol-(4)(XIII): $[\alpha]_D = + 43^{\circ}$.
IR. -Absorptionsspektrum Kurve 4.
- d) (+)-(4S, 8S)-trans-Hydrindanol-(4)(XIV): Smp. 51 - 53^o, $[\alpha]_D = + 38^{\circ}$.
IR. -Absorptionsspektrum Kurve 5.

Im Zweiten Ansatz liessen sich durch wiederholte Gaschromatographie unter Anwendung einer apolaren und einer polaren Kolonne folgende Produkte isolieren:

- a) nicht umgesetztes Ausgangsmaterial.
- b) ein Gemisch von (4S, 8R)-cis- und (4R, 8S)-cis-Hydrindanol-(4) (VII, VIII):
 $[\alpha]_D = + 12^{\circ}$, Retentionsindices: I_{210} (Apiezon-L) = 1282 und $I_{210,1}$ (Emulphor-O) = 1641.
- c) (+)-(4S, 8R)-trans-Hydrindanol-(4)(XIII): $[\alpha]_D = + 41^{\circ}$, Retentionsindices:
 I_{210} (Apiezon-L) = 1237 und $I_{210,1}$ (Emulphor-O) = 1591.
- d) (+)-(4S, 8S)-trans-Hydrindanol-(4)(XIV): ölig, gaschromatographisch nicht ganz rein, $[\alpha]_D = + 27^{\circ}$; Retentionsindices: I_{210} (Apiezon-L) = 1244 und $I_{210,1}$ (Emulphor-O) = 1574.

Auffallend ist, dass das Gemisch der Enantiomere IX, X im zweiten Ansatz nicht mehr isoliert wurde; im übrigen bestehen zwischen den beiden Ansätzen keine wesentlichen Unterschiede. Das Produkt XIV konnte im zweiten Ansatz nicht in reiner Form erhalten werden, worauf das beobachtete kleinere optische Drehungsvermögen zurückzuführen ist.

Die angegebenen Konstitutionen und absoluten Konfigurationen der isolierten Alkohole wurden auf Grund folgender Tatsachen abgeleitet:

cis-Verbindungen. Das NMR-Spektrum des Gemisches von VII und VIII weist, wie im Falle des racemischen cis, cis-Hydrindanols-(4), auf eine cis-Ringverknüpfung hin²¹⁾. Das IR. -Absorptionsspektrum ist identisch mit jenem des racemischen cis, cis-Hydrindanols-(4) (I), wodurch die Struktur und die relative Konfiguration von C-4, C-8 und C-9 des Gemisches VII und VIII festgelegt ist.

Die Oxydation des Gemisches VII und VIII aus dem ersten Ansatz gab ein cis-Hydrindanon-(4) (V, VI) mit einem sehr kleinen Drehungsvermögen $[\alpha]_D = - 2^{\circ}$. Das Gemisch der Enantiomere IX und X lieferte unter gleichen Bedingungen ein cis-Hydrindanon-(4) (V, VI): $[\alpha]_D = + 52^{\circ}$, positiver Cotton-Effekt: $[M]_{310} = + 1100^{\circ}$.

Mit Hilfe der Rotationsdispersionskurven konnte die absolute Konfiguration am C-8 und C-9 des in diesem Gemisch überwiegenden Enantiomers bestimmt werden. Für das analog gebaute (1R, 8R)-cis-1-(2-Iso-octyl)-8-methyl-hydrindanon-(4), dessen absolute Konfiguration bewiesen worden ist²³⁾, fanden C. Djerassi, D. Marshall & T. Nakano²⁴⁾ ebenfalls einen positiven Cotton-Effekt. Aus dem Vergleich der beiden Rotationsdispersionskurven (Fig. 2) lässt sich, unter Vernachlässigung des Iso-octyl-Restes am C-1²⁴⁾, schliessen, dass das rechtsdrehende Keton die (8S)-cis-Konfiguration VI besitzt; das linksdrehende Enantiomer weist somit zwangsläufig die (8R)-cis-Konfiguration V auf. Das Gemisch von VII und VIII aus dem ersten Ansatz ist somit praktisch ein Racemat; im Gemisch von IX und X überwiegt das (4S, 8S)-cis-Hydrindanol-(4) (X).

Im zweiten präparativen Ansatz lieferte die Oxydation des Gemisches von Enantiomeren VII und VIII mit Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure in Aceton ein cis-Hydrindanon-(4) (V, VI): $[\alpha]_D = + 9^\circ$, Retentionsindices: $I_{210,5}$ (Apiezon-L) = 1269 und $I_{208,6}$ (Emulphor-O) = 1575.

2,4-Dinitrophenylhydrazon Smp. 127 - 135⁰, IR.-Absorptionsspektrum ist identisch mit jenem des racemischen cis-Hydrindanon-(4)-2,4-dinitrophenylhydrazons. Aus der optischen Drehung folgt, dass die beiden Enantiomeren VII und VIII, wie im ersten Ansatz, praktisch in gleicher Menge vorkommen.

trans-Verbindungen. Die Festlegung der Konfiguration dieser Verbindungen erfolgte durch die Rotationsdispersionskurven und durch die Bestimmung der relativen Oxydationsgeschwindigkeiten nach J. Schreiber & A. Eschenmoser²⁵⁾. Der Alkohol XIII wurde mit Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure in Aceton oxydiert. Das dabei isolierte (-)-trans-Hydrindanon-(4) besass folgende Eigenschaften:

aus dem ersten Ansatz: positiver Cotton-Effekt $[M]_{304} = + 1170^\circ$, IR.-Absorptionsspektrum Kurve 6; aus dem zweiten Ansatz $[\alpha]_D = - 11^\circ$, positiver Cotton-Effekt, $[M]_{304} = + 1935^\circ$. 2,4-Dinitrophenylhydrazon Smp. 185 - 187⁰, $[\alpha]_D = - 92^\circ$. Die analoge Oxydation des Alkohols XIV ergab das (+)-trans-Hydrindanon-(4) (XII) in Ueberschuss. Die Eigenschaften des Ketons aus dem ersten Ansatz: $[\alpha]_D = + 9^\circ$, negativer Cotton-Effekt, $[M]_{304} = - 1600^\circ$, IR.-Absorptionsspektrum identisch mit jenem des Epimers XI; aus dem zweiten Ansatz: negativer Cotton-Effekt, $[M]_{304} = - 880^\circ$. Die verschieden starken Cotton-Effekte der beiden trans-Hydrindanone-(4), die bei Produkten aus dem ersten und aus dem zweiten Ansatz gemessen wurden, sind auf die verschiedene Reinheit zurückzuführen. In beiden Fällen waren die Produkte mit kleinerem Cotton-Effekt nachweisbar entweder weniger rein oder nur in kleinen Mengen vorhanden. Als Vergleichssubstanz zur Bestimmung der absoluten Konfiguration aus den Cot-

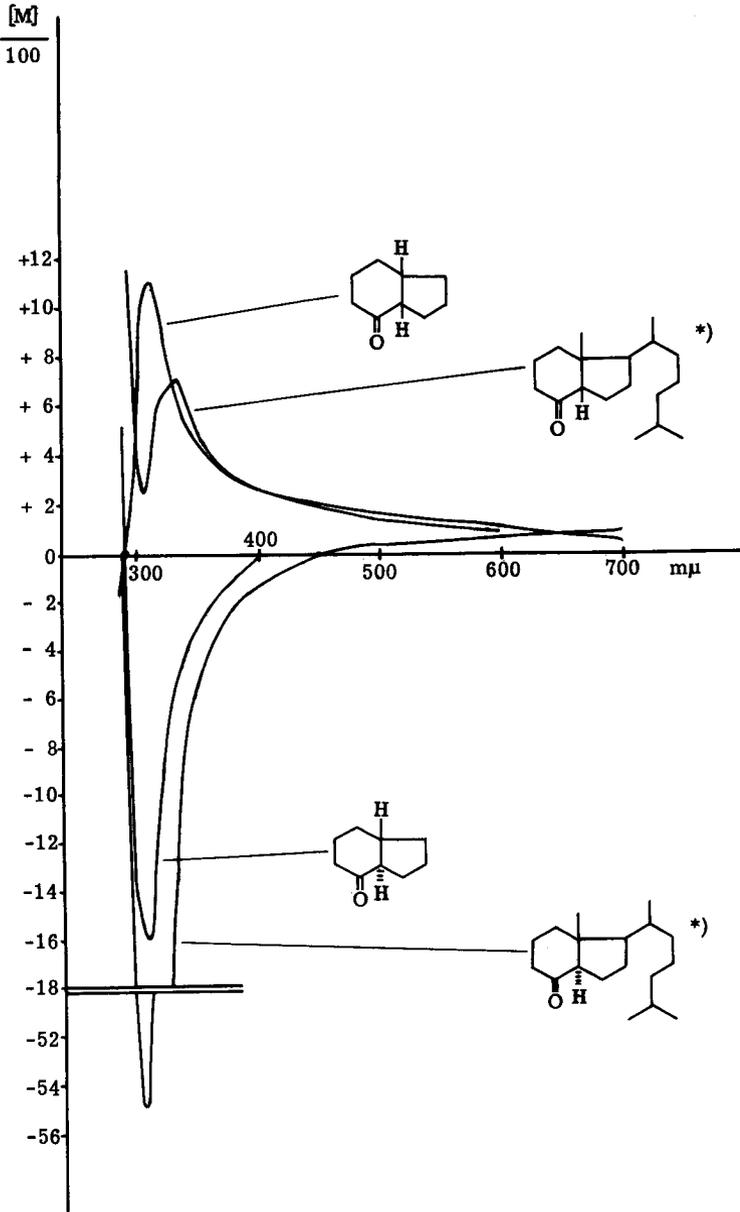


Fig. 2

Rotations-Dispersionen in Methanol

*) Kurve von C. Djerassi und Mitarb. 24).

ton-Effekten diene wiederum ein Abbauprodukt von Vitamin-D₃, das (1R, 8R)-trans-1-(2-Iso-octyl)-8-methyl-hydrindanon-(4)²³⁾, dessen Cotton-Effekt von C. Djerassi, D. Marshall & T. Nakano²⁴⁾ bestimmt wurde. Unter Vernachlässigung des Iso-octyl-Restes lässt sich aus dem Vergleich der Rotationsdispersionskurven schliessen, dass das Keton XI die (8R)- und das Keton XII die (8S)-Konfiguration besitzt.

Es sei in diesem Zusammenhang noch erwähnt, dass alle auf Grund der Cotton-Effekte abgeleiteten absoluten Konfigurationen der Hydrindanone-(4) mit der Harvard-Octant-Regel²⁶⁾²⁷⁾ im Einklang stehen.

Die trans-Ringverknüpfung der trans-Hydrindanone-(4) XI und XII wurde durch deren Umlagerung in die entsprechenden cis-Isomeren eindeutig sichergestellt. Durch Behandlung mit Natriummethoxyd geht das (8R)-trans- in das (8R)-cis-Hydrindanon-(4) und das (8S)-trans- in das (8S)-cis-Hydrindanon-(4) über. Die Inversion der Konfiguration am C-9 konnte mit Hilfe der Rotationsdispersionskurven festgestellt werden, indem sich das Vorzeichen des Cotton-Effektes nach der Umlagerung änderte. Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon der auf diese Weise erhaltenen (8R)-cis-Hydrindanon-(4) schmolz bei 132 - 137^o, $[\alpha]_D = -119^o$, und sein Absorptionsspektrum in KBr stimmte mit jenem des 2,4-Dinitrophenylhydrazons der racemischen Verbindung völlig überein.

Für die Bestimmung der Konfiguration am C-4 bediente man sich einer von D. H. R. Barton aufgestellten Regel²⁸⁾, gemäss welcher von zwei epimeren sekundären Cyclanolen dasjenige mit der Hydroxy-Gruppe in axialer Lage mit Chrom(VI)-oxyd leichter oxydiert wird als sein Epimer. Von J. Schreiber & A. Eschenmoser angestellte eingehendere Untersuchungen²⁵⁾ haben diese Regel bestätigt.

Die unter Standard-Bedingungen²⁵⁾ ausgeführten Messungen^{*)} der relativen Oxydationsgeschwindigkeit k^* (bezogen auf diejenige von Cholestanol-3 β = 1) ergaben für die Verbindungen XIII und XIV die Werte 0,78 bzw. 3,65. Damit ist bewiesen, dass die Hydroxyl-Gruppe in der Verbindung XIII eine äquatoriale und jene der Verbindung XIV eine axiale Lage besitzt. Daraus lässt sich die relative und somit auch die absolute Konfiguration der trans-Hydrindanole-(4) XIII und XIV ableiten.

Mit der angenommenen relativen Konfiguration der Hydrindanole-(4) stehen auch die chromatographischen R_f-Werte der Dünnschichtchromatographie (Tabelle 3) in Einklang, indem dem rascher laufenden Alkohol XIV eine axiale Hydroxyl-Gruppe am C-4, dem langsamer laufenden Alkohol XIII aber eine äquatoriale zukommt. Ein analoges Verhalten wurde besonders bei papierchromatographischen Untersuchungen

*) Ich danke Herrn Dr. J. Schreiber und Herrn L. Moldovanyi für die Messungen der Oxydationsgeschwindigkeiten.

von Steroiden beobachtet²⁹⁾; P. Walter¹⁵⁾ hat gezeigt, dass sich die Epimere auch bei der Dünnschichtchromatographie ähnlich verhalten.

1.3 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren mit *Curvularia falcata* *)³⁰⁻³⁴⁾

Die mikrobiologischen Vorversuche zeigten, dass das im Titel genannte Keton sowohl von wachsenden als auch von "ruhenden"²⁾ Kulturen von *Curvularia falcata* sehr rasch umgesetzt wird. Zwischen den beiden Inkubationsverfahren besteht aber ein wesentlicher Unterschied: bei Anwendung der wachsenden Kulturen entstehen hauptsächlich Hydroxylierungsprodukte und nur wenig Reduktionsprodukte. Daher wurden bei der präparativen Umsetzung nur die "ruhenden Kulturen" verwendet.

Der Verlauf der Reaktion wurde mit Hilfe verschiedener Lösungsmittelsysteme, welche im experimentellen Teil wiedergegeben sind, papierchromatographisch verfolgt. Die wichtigsten der gefundenen Rf-Werte sind in Tabelle 4 angegeben.

Aus dem Rohextrakt liessen sich, teils durch Chromatographie an Aluminiumoxyd, teils durch Chromatographie an saurem Silicagel, folgende Verbindungen isolieren:

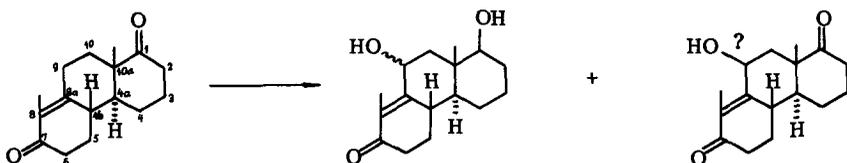
- a) (-)-(1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XVII): Smp. 172 - 173⁰, $[\alpha]_D = -10, 8^0$, positiver Cotton-Effekt,
- b) (+)-(1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XVIII): Smp. 139 - 140⁰, $[\alpha]_D = +36, 8^0$, negativer Cotton-Effekt,
- c) (+)-(1S, 9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 9-Dihydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XIX), Smp. 187 - 188⁰, $[\alpha]_D = +119, 9^0$, positiver Cotton-Effekt,
- d) (+)-(9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-9-hydroxy-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XXI): Smp. 189 - 190⁰, $[\alpha]_D = +2, 4^0$, positiver Cotton-Effekt,
- e) das ölige Gemisch des Dihydroxy-ketons XX und des Hydroxy-diketons XXII, welches papierchromatographisch nachgewiesen wurde.

*) Herrn Dr. A. Wettstein, CIBA-Aktiengesellschaft, Basel, danke ich für die Ueberlassung dieser Verbindung.

Die zur Bestimmung der angegebenen Konstitutionen und absoluten Konfigurationen beschriebenen Wege seien gesondert für die Reduktionsprodukte und für die Hydroxylierungsprodukte beschrieben.

Reduktionsprodukte: Die Konstitution der beiden Hydroxy-ketone XVII und XVIII wurde festgelegt, indem man sie durch Oxydation mit Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure in zwei Diketone XV und XVI, deren IR.-Absorptionsspektren in Chloroform mit jenem des Ausgangsmaterials identisch waren, überführt. Dadurch wurde die relative Konfiguration der Kohlenstoffatome 4a, 4b und 10a in beiden Hydroxy-

Formelübersicht C



XV (4aS, 4bS, 10aS)

Smp. 105 - 106⁰

Rf = 0,86 (P/T)

[α]_D = - 69,1⁰

XIX (1S, 9 ξ , 4aS, 4bS, 10aS)

Smp. 187 - 188⁰

Rf = 0,16 (RS)

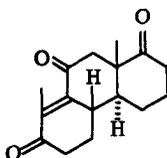
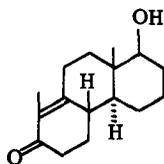
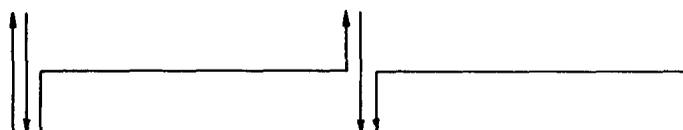
[α]_D = + 119,9⁰; k* = 8,50

XXI (9 ξ , 4aS, 4bS, 10aS)

Smp. 189 - 190⁰

Rf = 0,69 (RS)

[α]_D = + 2,4⁰; k* = 4,54



XVII (1S, 4aS, 4bS, 10aS)

Smp. 172 - 173⁰

Rf = 0,48 (P/T)

[α]_D = - 10,8⁰; k* = 1,3

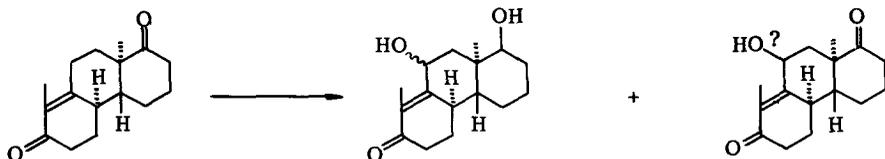
XXIII (4aS, 4bS, 10aS)

Smp. 159 - 160⁰

Rf = 0,86 (P/T)

[α]_D = - 66,4⁰

Formelübersicht D



XVI (4aR, 4bR, 10aR)

Smp. 104 - 106^o

Rf = 0,86 (P/T)

$[\alpha]_D = +79,8^o$

XX (1S, 9ξ, 4aR, 4bR, 10aR)

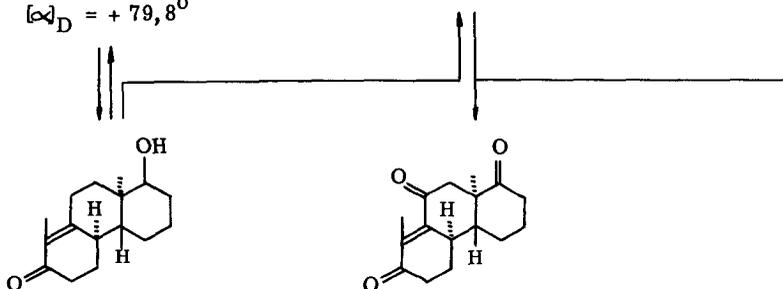
nicht isoliert

Rf = 0,26 (RS)

XXII (9ξ, 4aR, 4bR, 10aR)

nicht isoliert

Rf = 0,49 (RS)



XVIII (1S, 4aR, 4bR, 10aR)

Smp. 139 - 140^o

Rf = 0,56 (P/T)

$[\alpha]_D = +36,8; k^* = 3,67$

XXIV (4aR, 4bR, 10aR)

Smp. 120 - 130^o

Rf = 0,87 (P/T)

$[\alpha]_D = +35,7^o$

re in Aceton das selbe Triketon, $C_{16}H_{20}O_3$, Smp. 159 - 160^o; $[\alpha]_D = -66,4^o$, Rf (RS) = 0,9 ergab. Daraus lässt sich schliessen, dass beide Verbindungen die selbe Konfiguration an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen 4a, 4b und 10a aufweisen und ferner, dass durch die Hydroxylierung ein sekundäres Hydroxyl an der gleichen Stelle eingeführt wurde.

Aus dem UV.-Absorptionsspektrum folgt, dass das Triketon eine Carbonyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 9 besitzt. $\lambda_{max} = 264 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,03$) weist auf eine En-1,4-dion-Gruppe hin. Eine weitere Stütze für die Anwesenheit der letzteren ergibt sich aus dem IR.-Absorptionsspektrum des Triketons. In diesem Spektrum (Kurve 12) fehlt nämlich die Bande bei 1625 - 1635 cm^{-1} , welche man in den α, β -ungesättigten Ketonen vor der Oxydation beobachten konnte (vgl. Z. B. Kurve 11).

Tabelle 1

Verbindung	k*	Rf-Werte ^{a)}
XVII (1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren	1, 3	0, 48 (P/T) ^{b)}
XVIII (1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren	3, 67	0, 56 (P/T)
XIX (1S, 9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 9-Dihydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren	8, 50	0, 16 (RS) ^{c)}
XX (1S, 9 ξ , 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 9-Dihydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren	--	0, 26 (RS)
XXI (9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-9-hydroxy-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren	4, 54	0, 69 (RS)
XXII (9 ξ , 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-9-hydroxy-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren	--	0, 49 (RS)

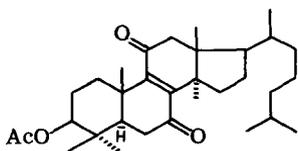
a) Weitere Rf-Werte sind im Experimentellen Teil (Tabelle 4) angegeben.

b) P/T = Propylenglykol/Toluol³⁶⁾³⁷⁾.

c) RS = Reichstein System³⁸⁾.

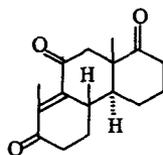
Die Aufspaltung der beiden $\nu(\text{CO})$ -Frequenzen ist verhältnismässig klein, wie schon von M. Montavon, Hs. H. Günthard, O. Jeger & L. Ruzicka³⁹⁾ bei Acetoxy-lanosten-dion (XXXIII) beobachtet wurde, welches ebenfalls eine En-1, 4-dion-Gruppierung enthält.

Die oben erwähnten Autoren erklären das Verschwinden der Frequenz bei 1625 - 1635 cm^{-1} durch das Vorhandensein einer zentrosymmetrischen Gruppierung. Aus diesen Tatsachen lässt sich schliessen, dass in beiden Hydroxylierungs-



XXXIII

λ_{\max} 275 m μ (log ϵ = 3,94)



XXIII

λ_{\max} 264 m μ (log ϵ = 4,03)

produkten die Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 9 sitzt und dass ihnen demnach die Strukturen XIV und XXI zukommen.

Die absolute Konfiguration an den Kohlenstoffatomen 4a, 4b und 10a dieser beiden Verbindungen wurde durch die Umsetzung von Hydroxy-keton XVII mit *Curvularia falcata* bestimmt, wobei papierchromatographisch die Entstehung des Dihydroxy-ketons XIX festgestellt werden konnte. Dadurch liess sich ebenfalls die absolute Konfiguration der Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 1 bestimmen.

Das Gemisch von Dihydroxy-keton und Hydroxy-diketon, dessen Komponenten nicht isoliert werden konnten, wurde mit Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure in Aceton oxydiert. Man bekam ein Triketon, C₁₆H₂₀O₃, dessen IR.-Absorptionsspektrum, UV.-Absorptionsspektrum und papierchromatographisches Verhalten mit jenen des Triketons XXIII identisch waren. Aus optischem Drehungsvermögen und Cotton-Effekt folgt, dass es sich um das Enantiomer XXIV der letztgenannten Verbindung handelt. Der absolute Wert des Cotton-Effektes ist kleiner als derjenige des reinen (-)-Triketons XXIII, was auf das Vorhandensein von Stereoisomeren im Gemisch deutet. Diese Vermutung wird durch die Tatsache, dass man im Gemisch papierchromatographisch das Vorhandensein einer kleinen Menge von Verbindungen XIX und XXI feststellen konnte, bestätigt. Auf ein teilweise racemisches Triketon XXIV weist auch der unscharfe Smp. von 120 - 130^o hin.

Auf Grund der Rückoxydation lässt sich schliessen, dass das Gemisch die Verbindungen XX und XXII enthält; die Konfiguration der Hydroxyl-Gruppe am C-1 der Verbindung XX folgt aus der Entstehung derselben bei der Umsetzung des Hydroxyketons XVIII mit *Curvularia falcata*.

Somit ist die Konfiguration und Konstitution der Hydroxylierungsprodukte XIX, XX, XXI, XXII bis auf die Konfiguration der Hydroxyl-Gruppe am C-9 festgelegt. Einen Hinweis auf diese letztere erhält man aus dem papierchromatographischen Verhalten der beiden Hydroxy-diketone XXI und XXII²⁹⁾. Im stärker polaren Hydroxydiketon XXII (Rf = 0,49) sollte die Hydroxyl-Gruppe die äquatoriale Lage aufweisen und damit im Hydroxydiketon XX (Rf = 0,69) die axiale. Es ist also wahrscheinlich, dass die Hydroxyl-Gruppe die (9S)-Konfiguration besitzt.

1.4 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a,4b-trans-4a,10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren mit *Curvularia falcata*

Das verwendete Edukt⁴⁰⁾ wurde durch Hydrolyse von Sarett-Keton^{*)} mit Essigsäure hergestellt: Smp. 201 - 202^o, IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform Kurve 13.

Die mikrobiologischen Vorversuche wurden sowohl mit wachsenden als auch mit "ruhenden"²⁾ Kulturen von *Curvularia falcata* ausgeführt und ergaben, dass das erwähnte tricyclische Keton, im Gegensatz zu dem im vorigen Abschnitt beschriebenen tricyclischen Keton, von *Curvularia falcata* langsam angegriffen wird. Nach 3 Tagen Inkubierung mit wachsenden bzw. mit "ruhenden" Kulturen liessen sich papierchromatographisch keine Hydroxylierungsprodukte nachweisen. Da sich die "ruhenden" Kulturen für längere Inkubationszeiten nicht eignen, wurde der präparative Ansatz mit wachsenden Kulturen ausgeführt. In den Papierchromatogrammen konnte man mittels des Zaffaroni-Systems Formamid/Chloroform (F/Chf)³⁶⁾ drei Flecken mit folgenden durchschnittlichen Rf-Werten beobachten: 0,70; 0,41; 0,31.

Aus einem präparativen Ansatz mit wachsenden Kulturen von *Curvularia falcata* liessen sich nach wiederholter Chromatographie an Aluminiumoxyd die folgenden Verbindungen isolieren:

- a) (+)-(4S,10aR)-4a,4b-trans-4a,10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren XXVI: Smp. 161 - 162^o, $[\alpha]_D = +164^o$, positiver Cotton-Effekt, $[M]_{410} = +655^o$, $[M]_{347} = -352^o$.
- b) (+)-(1S,10aR)-4a,4b-trans-4a,10a-trans- Δ^8 -1,4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren XXVIII: Smp. 185 - 186^o, $[\alpha]_D = +174,6^o$, positiver Cotton-Effekt, $[M]_{393} = +129^o$, $[M]_{353} = +452^o$.
- c) (-)-(1S,10aS)-4a,4b-trans-4a,10a-trans- Δ^8 -1,4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren XXIX: Smp. 199 - 201^o, $[\alpha]_D = -143^o$, negativer Cotton-Effekt, $[M]_{400} = -713^o$, $[M]_{350} = +432^o$.

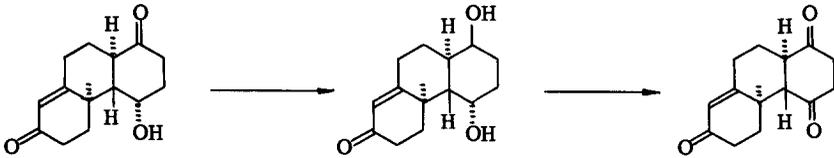
Das Hydroxy-diketon XXVI war, bis auf den optischen Drehungssinn, in jeder Hinsicht mit dem von R. M. Lukes & L. H. Sarett⁴¹⁾ beschriebenen Enantiomer identisch, und sein IR.-Absorptionsspektrum stimmte mit jenem des Ausgangsmaterials vollkommen überein.

*) Herrn Dr. A. Wettstein, CIBA-Aktiengesellschaft, Basel, danke ich für die Ueberlassung dieser Verbindung.

Struktur und absolute Konfiguration der Reduktionsprodukte wurden wie folgt bestimmt:

Die Oxydation mit Chrom(VI)-oxyd-Schwefelsäure in Aceton des Dihydroxy-ketons c) führte zum Triketon XXXI, dessen absolute Konfiguration von R. M. Luke s & L. H. Sarett⁴¹⁾ festgelegt worden ist. Eine ähnliche Behandlung des Dihydroxy-ketons b) lieferte das enantiomere Triketon XXX, dessen Eigenschaften sich bis auf

Formelübersicht E



XXVI (4S, 4aR, 4bR, 10aR)

XXVIII (1S, 4S, 4aR, 4bR, 10aR)

XXX (4aS, 4bR, 10aR)

Smp. 185 - 186⁰

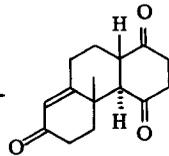
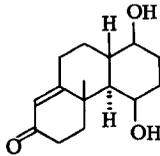
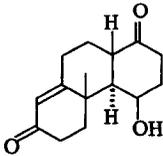
$[\alpha]_D = +174,6^0; k^* = 10,6$

Rf = 0,41 (F/Chf)

Smp. 122 - 124⁰

$[\alpha]_D = +6,9^0$

Rf = 0,60 (P/T)



XXVII (4R, 4aS, 4bS, 10aS)

XXIX (1S, 4R, 4aS, 4bS, 10aS)

XXXI (4aR, 4bS, 10aS)

Smp. 199 - 201⁰

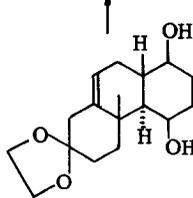
$[\alpha]_D = -143,3^0; k^* = 8,36$

Rf = 0,31 (F/Chf)

Smp. 123 - 124⁰

$[\alpha]_D = -6,7^0$

Rf = 0,60 (P/T)



XXXII (1S, 4R, 4aS, 4bS, 10aS)

Smp. 190 - 191⁰

$[\alpha]_D = +73^0; k^* = 20,0$

den optischen Drehungssinn in jeder Hinsicht mit jenen des Triketons XXXI als identisch erwiesen. Damit ist die absolute Konfiguration am C-4a, C-4b, C-10a und demzufolge auch am C-4 der Reduktionsprodukte XXVIII und XXIX sichergestellt.

Durch die Bestimmung der relativen Oxydationsgeschwindigkeiten k^* (Tabelle 2)²⁵⁾ konnte die relative Konfiguration der Kohlenstoffatome 1 und 10a und dadurch auch die absolute Konfiguration am C-1 ermittelt werden.

Tabelle 2

Verbindung		k^*	Rf (F/Chf) ^{a)}
XXVIII	(1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren	10,6	0,41
XXIX	(1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren	8,36	0,31

a) F/Chf = Formamid/Chloroform³⁶⁾.

Da beide Hydroxyl-Gruppen am C-4 sowohl in XXVIII als in XXIX in axialer Lage stehen, sind für den Unterschied der relativen Oxydationsgeschwindigkeitskonstanten nur die Hydroxyl-Gruppen am C-1 verantwortlich. Das zwei axiale Hydroxyl-Gruppen aufweisende Dihydroxy-keton XXVIII wird rascher oxydiert, als das Dihydroxy-keton XXIX mit einer axialen und einer äquatorialen Hydroxyl-Gruppe.

Mit einer solchen Konfigurationszuteilung am C-1 stehen die Rf-Werte der Papierchromatographie in Einklang. Wie bereits im Laufe dieser Arbeit erwähnt, sind alle Verbindungen mit äquatorialen Hydroxyl-Gruppen stärker polar und wandern langsamer als jene mit axialen Hydroxyl-Gruppen²⁹⁾, woraus sich die Reihenfolge XXIX (0,31) < XXVIII (0,41) ergibt.

Auf einem weiteren, unabhängigen Weg wurde die absolute Konfiguration des Dihydroxy-ketons XXIX bestimmt. Dieses wurde durch Hydrolyse des Ketals XXXII^{*)} erhalten, dessen absolute Konfiguration früher von W. Acklin¹²⁾ eindeutig bewiesen worden ist.

*) Herrn Dr. W. Acklin danke ich für die Ueberlassung dieser Verbindung.

1.5 Diskussion der Ergebnisse

In den Formelübersichten B bis F sind die Ergebnisse der mikrobiologischen Reaktionen von den in dieser Promotionsarbeit untersuchten bicyclischen und tricyclischen Ketonen zusammengefasst. Daraus geht hervor, dass der sterische Verlauf der Reduktionen der in der Einleitung angegebenen schematischen Darstellung der Produkt-Stereospezifität entspricht. Bei einer näheren Betrachtung kann man ferner folgendes feststellen:

a) Sterischer Verlauf bei Hydrindanonen-(4) (vgl. Kapitel 1.2). Frühere Versuche mit Dekalonen haben gezeigt, dass die mikrobiologische Reduktion von cis-Verbindungen weniger stereospezifisch verläuft als diejenige der trans-Isomere. Ähnliche Beobachtungen wurden bei der mikrobiologischen Umsetzung von Hydrindanone-(4) mit *Curvularia falcata* festgestellt; es scheint aber, dass nach dem Ersetzen des 6-Ringes von Dekalon-(1) durch einen 5-Ring dieses verschiedenartige Verhalten von cis- und trans-Isomeren noch ausgeprägter ist. In der Tat lag nach der Reduktion von cis-Hydrindanon-(4) einer der beiden erhaltenen diastereomeren Alkoholen praktisch als Racemat vor. Diese Tatsachen lassen sich mit den heutigen Kenntnissen über den sterischen Verlauf der mikrobiologischen Reduktionen nicht interpretieren. Eine Erklärung werden wahrscheinlich erst Untersuchungen mit isolierten Enzymen ermöglichen.

b) Sterischer Verlauf bei 4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (vgl. Kapitel 1.3). Bei der mikrobiologischen Umsetzung dieses Diketons mit *Curvularia falcata* wurde, besonders mit wachsenden Kulturen, in hohem Masse Hydroxylierung am sekundären Kohlenstoffatom 9 festgestellt. Es ist interessant zu erwähnen, dass die Stellung 9 dieses für Steroid-Synthesen verwendeten Dodecahydrophenanthren-Derivats der Stellung 11 der Steroid-Molekel entspricht.

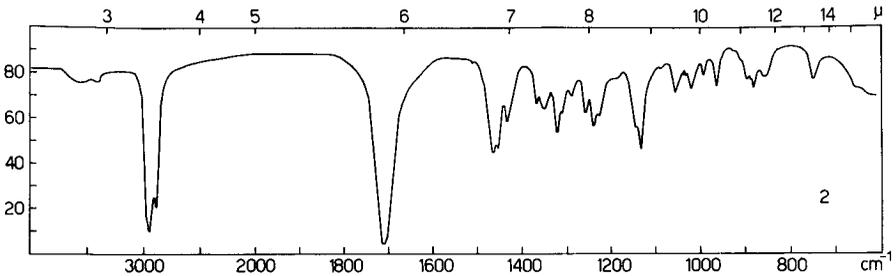
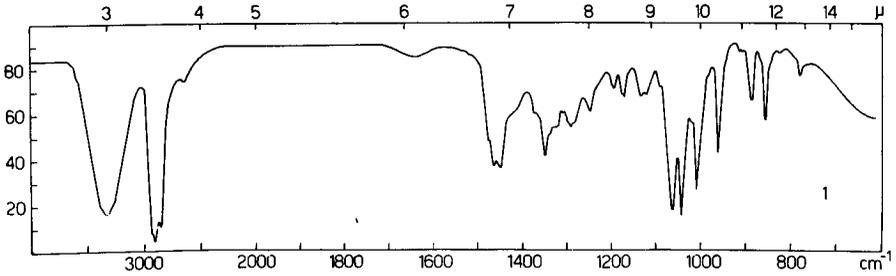
Im Verlaufe der bisherigen Untersuchungen wurden schon öfters in geringem Ausmass Hydroxylierungen von bicyclischen Ketonen mit *Curvularia falcata* beobachtet, genauer untersucht ist aber nur der Fall der Dekalone-(2), die relativ rasch an den tertiären Kohlenstoffatomen hydroxyliert werden.

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration der Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 9 mit Hilfe der relativen Oxydationsgeschwindigkeit nach J. Schreiber & A. Eschenmoser²⁵⁾ ist nicht eindeutig, weil das Verhalten von diastereomeren Allylalkoholen bei der Oxydation mit Chrom(VI)-oxyd in Essigsäure nicht genügend erforscht ist; deshalb hat man auf die Diskussion der in Tabelle 1 angegebenen k^* -Werte der Hydroxylierungsprodukte verzichtet.

c) Sterischer Verlauf bei 4a,4b-trans-4a,10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (vgl. Kapitel 1.4). Die Reduktion dieses für Steroid-Synthesen wichtigen Zwischenproduktes mit wachsenden Kulturen von *Curvularia falcata* war durch eine hohe Edukt-Stereoselektivität gekennzeichnet; das vom Mikroorganismus nicht angegriffene Ausgangsmaterial war nach zweimaliger Umkristallisation optisch rein und besass die "natürliche" Konfiguration der Steroide. Die beschriebene Reduktion ist daher auch vom praktischen Standpunkt aus interessant, da sie sich als Spaltungsmethode für das Racemat verwenden lässt. Einer ähnlichen Methode bedienen sich schon E. Vischer, J. Schmidlin & A. Wettstein bei der Totalsynthese von Aldosteron⁴³⁾. Deren Hauptmerkmal ist, dass dabei - im Gegensatz zu den seit Pasteur⁴⁴⁾ zahlreich verwendeten mikrobiologischen Reaktionen für die Racematspaltung - das "natürliche" Enantiomer nicht verlorenght, was für die Synthese von Naturstoffen von entscheidender Bedeutung ist.

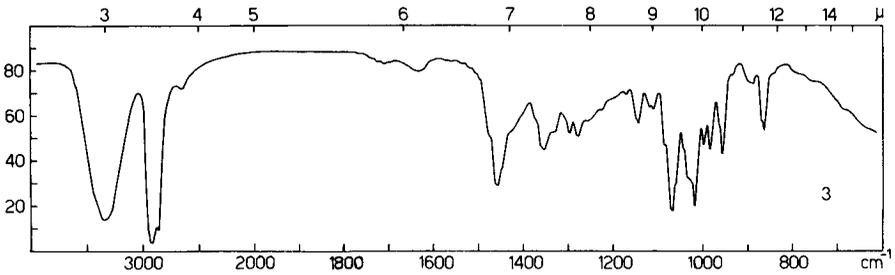
Vergleicht man die oben behandelten tricyclischen Ketone, so findet man grosse Unterschiede in der Geschwindigkeit, mit der sie mit *Curvularia falcata* reagieren und in der Art der Reduktionsprodukte. So werden beide Enantiomere der unter b) erwähnten Verbindung rasch reduziert und hydroxyliert, während von der im Abschnitt c) erwähnten Verbindung praktisch nur das eine Enantiomer langsam reduziert wird; Hydroxylierungsreaktionen konnten dagegen überhaupt nicht beobachtet werden.

1.6 IR. - Absorptionsspektren

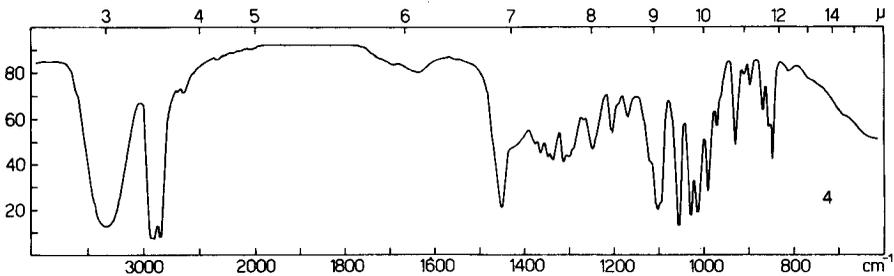


Kurve 1. (±)-cis, cis-Hydrindanol-(4) (I) zwischen Kochsalzplättchen

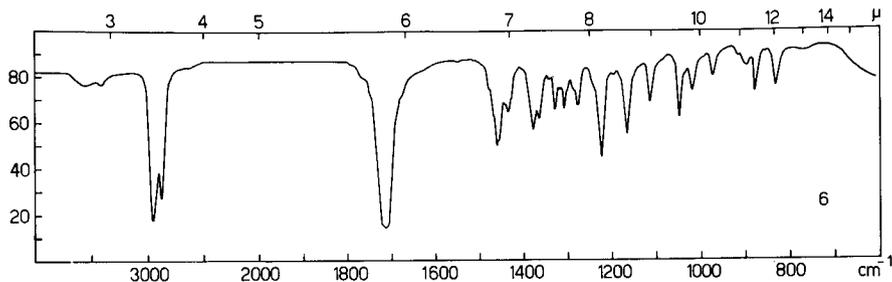
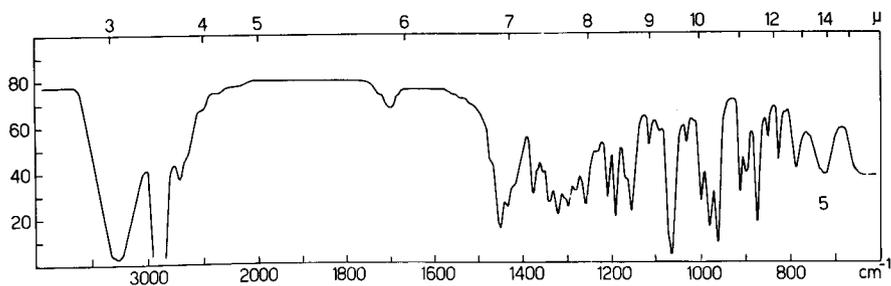
Kurve 2. (±)-cis-Hydrindanon-(4) (III) zwischen Kochsalzplättchen



Kurve 3. (+)-cis-Hydrindanol-(4) Gemisch (IX, X) zwischen Kochsalzplättchen

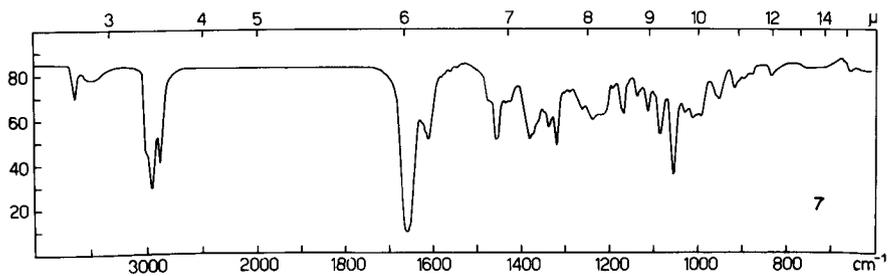


Kurve 4. (+)-(4S, 8R)-trans-Hydrindanol-(4) (XIII) zwischen Kochsalzplättchen



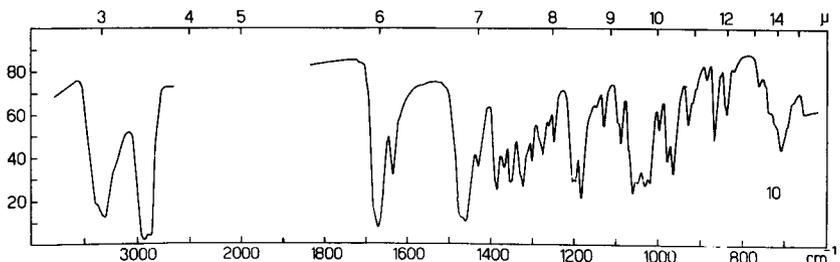
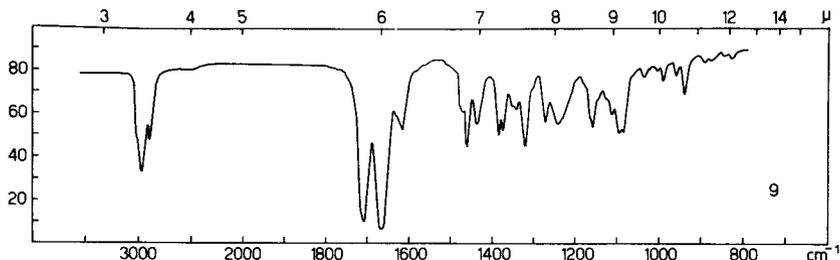
Kurve 5. (+)-(4S, 8S)-trans-Hydrindanol-(4) (XIV) zwischen Kochsalzplättchen

Kurve 6. (-)-(8R)-trans-Hydrindanon-(4) (XI) zwischen Kochsalzplättchen



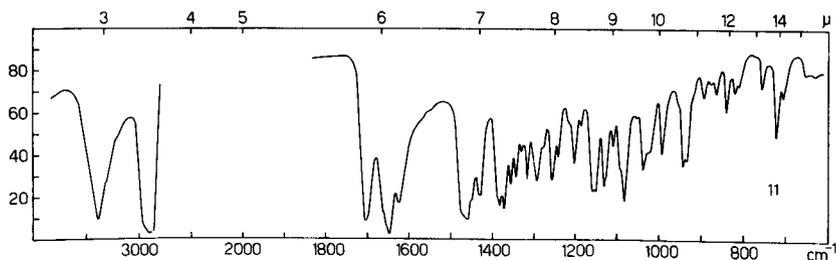
Kurve 7. (-)-(1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XVII) in Chloroform

Kurve 8. (+)-(1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XVIII) in Chloroform



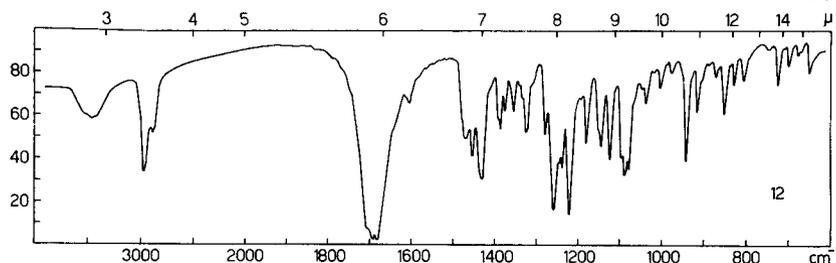
Kurve 9. (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren in Chloroform

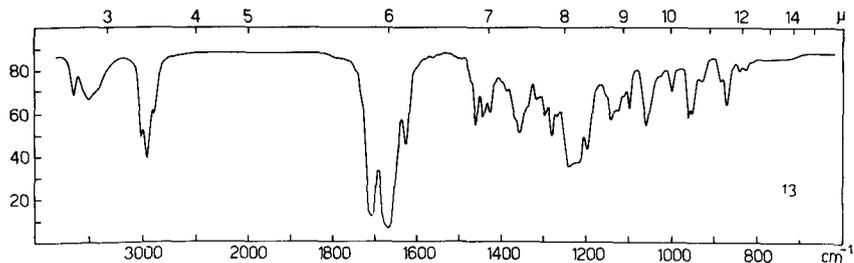
Kurve 10. (+)-(1S, 9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 9-Dihydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XIX) in Nujol



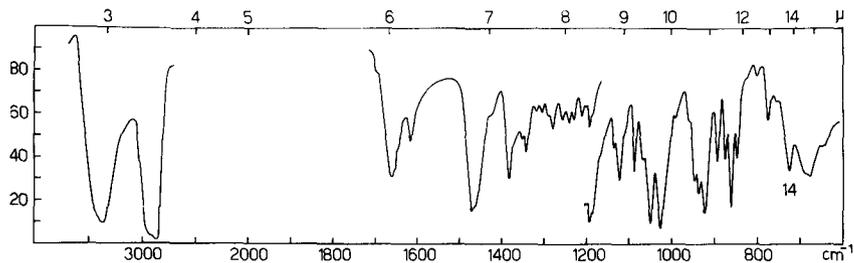
Kurve 11. (+)-(9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-9-hydroxy-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XXI) in Nujol

Kurve 12. (-)-(10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7, 9-Trioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XXIII) in KBr

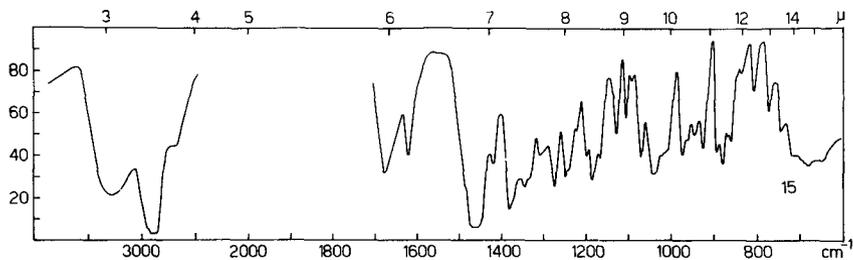




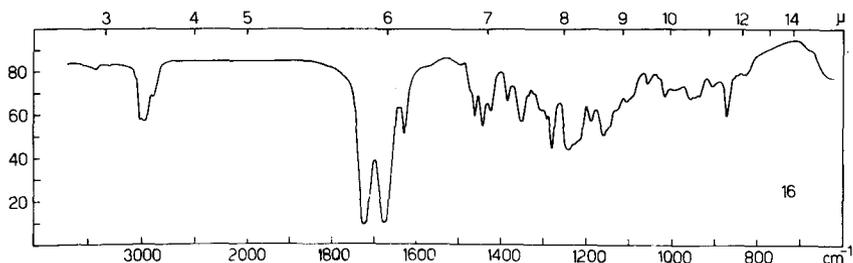
Kurve 13. (+)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren in Chloroform



Kurve 14. (+)-(1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (XXVIII) in Nujol



Kurve 15. (-)-(1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (XXIX) in Nujol



Kurve 16. (-)-(10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4, 7-Trioxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (XXXI) in Chloroform

2. EXPERIMENTELLER TEIL *)

2.1 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-cis- und trans-Hydrindanon-(4) mit *Curvularia falcata*

2.11 Herstellung des Ausgangsmaterials¹⁸⁾⁴⁵⁾

2.111 (\pm)-cis, cis- und trans, cis-Hydrindanol-(4) (I und II). 22 g Indanol-(4) (Smp. 47 - 51⁰), gelöst in 50 ml Eisessig, wurden während 22 Std. in Gegenwart von 0,7 g Platinoxid-Katalysator mit Wasserstoff geschüttelt (Wasserstoffaufnahme 12 l). Die Lösung wurde durch eine Schicht von Celit filtriert und unter Eiszugabe mit konzentrierter Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt. Durch Extraktion mit Aether erhielt man 21,2 g eines leicht gelb gefärbten Oels, das an 550 g Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert wurde. Die Petroläther-Eluate lieferten 3 g eines wasserklaren Oels, dessen gaschromatographische Untersuchung zeigte, dass ein Gemisch von Kohlenwasserstoffen vorlag **). Man sah davon ab, diese Fraktionen weiter zu untersuchen.

Die höher polaren Fraktionen enthielten 17,4 g (78 %) eines Gemisches von (\pm)-cis, cis- und trans, cis-Hydrindanol-(4) (I, II), deren Verhältnis auf Grund einer gaschromatographischen Analyse auf 9:1 geschätzt wurde. Papierchromatographisch liessen sich die beiden Verbindungen nicht trennen. Rf (Bush B₃)³⁵⁾ = 0,76.

Eine kleine Menge der beiden Stereoisomeren wurde mit Hilfe der präparativen Gaschromatographie getrennt. Die so erhaltenen Verbindungen zeigten folgende Eigenschaften:

cis, cis-Hydrindanol-(4) (I): Das gaschromatographisch reine Präparat wies die Retentionsindices I₂₁₀ (Emulphor-O) = 1645 und I_{210,1} (Apiezon-L) = 1291 auf. Die relative Oxydationsgeschwindigkeit mit Chrom(VI)-oxyd: k* = 2,34.

*) Alle Smp. sind korrigiert. Man bestimmte das optische Drehungsvermögen im 1 dm Rohr; die UV.-Absorptionsspektren wurden in Feinsprit mit einem selbstregistrierenden Beckman-Spektrographen, Modell DK 1, die IR.-Absorptionsspektren mit dem Perkin-Elmer Double-Beam Spectrograph Modell 21 aufgenommen. Die Aufnahme der Rotationsdispersionskurven erfolgte mit der Apparatur nach Th. Bühner, M. Kohler & Hs. H. Günthard⁴⁶⁾. Bei Aluminiumoxyd-Chromatogrammen kam "Aluminiumoxyd Woelm" alkalifrei (annähernd neutral) zur Anwendung.

***) Nach W. Hüchel & E. Goth¹⁸⁾ handelt es sich hauptsächlich um cis-Hydrindanol.

IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen Kurve 1. Das NMR-Spektrum weist auf eine cis-Verbindung hin²¹⁾: $\tau_1 = 8,34$, $\tau_2 = 6,05$ (Fig. 1).

Saures Phtalat: 53 mg cis, cis-Hydrindanol-(4) (I) wurden mit 83 mg Phtalsäureanhydrid während 3 Std. auf 110° erhitzt. Nach dem Abkühlen fügte man 100 mg Natriumcarbonat in 4 ml Wasser zu. Die alkalische Lösung wurde zuerst mit Aether extrahiert, dann mit Salzsäure angesäuert und erneut mit Aether extrahiert. Nach Eindampfen erhielt man 82 mg (76 %) farbloser Kristalle, Smp. 124°. Durch chromatographische Reinigung an 1 g saurem Silicagel *) erhielt man ein Produkt, das nach dreimaligem Umkristallisieren aus Petroläther-Aether bei 131,5 - 132° schmolz. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_{17}H_{20}O_4$ Ber. C 70,81 H 6,99 % Gef. C 70,76 H 6,93 %

trans, cis-Hydrindanol-(4) (II): Das erhaltene Präparat, welches gaschromatographisch nicht einheitlich war, zeigte folgende Retentionsindices: I_{210} (Emulphor-O) = 1579 und $I_{210,1}$ (Apiezon-L) = 1248.

2.112 (\pm)-cis- und trans-Hydrindanon-(4) (III, IV)

2.1121 Oxydation von (\pm)-cis, cis-Hydrindanol-(4) (I). Zu 156 mg gaschromatographisch reinem (\pm)-cis, cis-Hydrindanol-(4) (I) in 3 ml Aceton wurden bei + 10° 0,3 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung^{**)} in 1 ml Aceton zugefügt. Nach 10 Min. wurde das Reaktionsgemisch zuerst mit einigen Tropfen Methanol, dann mit 100 ml gesätt. Kochsalzlösung versetzt und mit Pentan extrahiert. Die übliche Aufarbeitung ergab 152 mg (\pm)-cis-Hydrindanon-(4) (III), die im Hochvakuum im abgeschlossenen Rohr destilliert wurden. Das Produkt war gaschromatographisch einheitlich und wies die Retentionsindices $I_{210,5}$ (Emulphor-O) = 1577 und $I_{208,6}$ (Apiezon-L) = 1271 auf. NMR-Spektrum $\tau_1 = 8,77$, $\tau_2 = 8,34$, $\tau_3 = 7,93$. IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen Kurve 2. Dünnschicht-Chromatographie: Rf (Chloroform/Aethylacetat 2:1) = 0,65***).

2, 4-Dinitrophenylhydrazon: a) Das aus 60 mg Keton hergestellte und fünfmal aus Methanol-Wasser umkristallisierte Derivat bildete feine orange Nadelchen, die bei 121 - 127° schmolzen. Zur Analyse wurde 24 Std. bei 90° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{15}H_{18}O_4N_4$ Ber. C 56,59 H 5,70 % Gef. C 56,69 H 5,71 %

*) Zur Herstellung des sauren Silicagels vgl. Abschnitt 2.23.

***) Zusammensetzung des Oxydationsreagens: 26,72 g Chrom(VI)-oxyd und 23 g konz. Schwefelsäure auf 100 ml mit Wasser verdünnt⁴⁷⁾⁴⁸⁾.

***) Vgl. Abschnitt 2.132.

b) Vor kurzem veröffentlichte H. J. Shine⁴⁹⁾ eine verbesserte Methode zur Herstellung von 2,4-Dinitrophenylhydrazonen. Das auf diese Weise aus 12 mg Keton hergestellte Derivat schmolz bei 140 - 146⁰. Zur Analyse wurde, ohne Umkristallisation, im Hochvakuum sublimiert.

$C_{15}H_{18}O_4N_4$ Ber. C 56,59 H 5,70 % Gef. C 56,58 H 5,73 %

Nach dem Umkristallisieren aus Methanol-Wasser schmolzen die Kristalle jedoch wieder bei 121 - 127⁰.

2.1122 Oxydation des Gemisches von ([†])-cis, cis- und trans, cis-Hydrindanol-(4) (I, II). 8,2 g des durch Hydrierung hergestellten Gemisches I und II oxydierte man wie beschrieben mit 2l ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton. Nach üblicher Aufarbeitung und anschliessender Chromatographie an Aluminiumoxyd (Akt. II) erhielt man 6,5 g (80 %) Ketone III und IV. Obwohl sich diese gaschromatographisch (Emulphor-O Kolonne) einheitlich verhielten, war das zwischen Kochsalzplättchen aufgenommene IR.-Absorptionsspektrum nicht identisch mit jenem des reinen ([†])-cis-Hydrindanons-(4) (III) und wies auf ein Gemisch von cis- und trans-Isomeren hin.

Eine Probe des Ketongemisches wurde während 2 Std. mit methanolischer Kalilauge am Rückfluss gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das Rohprodukt destilliert und das IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen aufgenommen. Es liess sich daraus entnehmen, dass in dem mit Alkali behandelten Produkt etwas mehr an trans-Isomer vorhanden war als im Ausgangsmaterial *).

2.12 Vorversuche

Für die mikrobiologischen Umsetzungen wurde das Gemisch von cis- und trans-Hydrindanon-(4) verwendet, das etwa 10 % an trans-Isomer enthält.

Durch Vorversuche in kleinem Massstab gelang es, papierchromatographisch festzustellen, dass *Curvularia falcata* ([†])-cis- und trans-Hydrindanon-(4) III und IV langsam reduziert. Für die papierchromatographischen Untersuchungen verwendete man die Lösungsmittelsysteme Bush B₃³⁵⁾ und Propylenglykol/Toluol = P/T³⁶⁾. Zur Entwicklung der Papierchromatogramme diente eine 7-proz. methanolische Phosphomolybdänsäure-Lösung⁵¹⁾. Alle Hauptumsetzungsprodukte besaßen

*) W. Hückel & W. Doll⁵⁰⁾ schätzten, dass im cis \rightleftharpoons trans Gleichgewichtsgemisch 10 - 15 % trans-Verbindung vorhanden ist.

den selben Rf (Bush B₃) = 0,77, Rf (P/T) = 0,80. Daneben liessen sich auch kleine Flecken von höher polaren Verbindungen beobachten: Rf (P/T) = 0,18 und Rf (P/T) = 0,4, letzterer erst nach fünftägiger Inkubierung.

2.13 Umsetzung mit wachsenden Kulturen von *Curvularia falcata*

Es wurden zwei Ansätze ausgeführt, die getrennt beschrieben seien.

2.131 Erster Ansatz

Zwei horizontal rotierende (280 U/Min.) 2-l-Rundkolben²⁾ wurden mit 450 ml Nährlösung¹⁾ beschickt und mit je 50 ml einer gut gewachsenen Schüttelkultur von *Curvularia falcata*, welche 1/2 Std. durch Schütteln mit Glaskugeln auf der Schüttelmaschine homogenisiert worden war, geimpft. Nach 24 Std. impfte man mit den so bereiteten Kulturen 2 Schüttelenten, enthaltend je 4 l sterile Nährlösung. Nach 24 Std. versetzte man die Kultur mit je 1,125 g Hydrindanon-(4)-Gemisch in 6 ml Aceton. Nach 3 Tagen wurde abfiltriert und im Extraktionsapparat nach Kutschner-Steudel mit Aether extrahiert. Nach dem Abdestillieren des Aethers blieben 4,3 g Rohextrakt zurück. Das Mycel wurde mit Aceton extrahiert. Der Rückstand nach dem Eindampfen des Acetons enthielt laut papierchromatographischer Untersuchung keine Reduktionsprodukte des Hydrindanons-(4) und wurde nicht weiter verarbeitet.

Der Aetherextrakt wurde zuerst an 110 g Aluminiumoxyd (Akt. IV) chromatographiert, wobei aus den Petroläther-Fractionen nebst Pilzstoffwechselprodukten 2,6 g eines Gemisches von Umsetzungsprodukten und Ausgangsmaterial isoliert wurden. Die späteren Fractionen, die keine Reduktionsprodukte enthielten, wurden verworfen. Nachdem man in einem Vorversuch festgestellt hatte, dass sich die Umsetzungsprodukte an Aluminiumoxyd (Akt. II) nicht trennen lassen, wurde die Hauptfraction (2,6 g) grob an 80 g Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert, wobei die Petroläther-Eluate 0,734 g und die Benzol-Eluate 1,986 g Rückstand lieferten. Die letzteren wurden mit Phtalsäureanhydrid in die sauren Phtalate übergeführt (s. Abschnitt 2.111), worauf man versuchte, diese an saurem Silicagel zu trennen. Nach der Verseifung der erhaltenen Fractionen musste man aber feststellen, dass die Trennung nicht quantitativ verlaufen war. Die Phtalate wurden daher wieder zusammengenommen, verseift und die zurückgewonnenen Alkohole gaschromatographisch mit Hilfe der Apparatur nach E. Heilbronner, E. Kováts & W. Simon⁵³⁾⁵⁴⁾ an einer Emulphor-O Kolonne getrennt. Die Kolonne wies folgende Merkmale auf: Füllung Emulphor-O: Celite = 27,5 : 72,5 (Gewichtsverhältnis). Korngrösse des Trägers:

250 - 300 μ . Länge: 4,40 m. Lichte Weite: 1,1 cm. Die Trennung erfolgte bei 210⁰ und einer Gasgeschwindigkeit von 80 ml/Min. Als Trägergas diente Stickstoff. Man isolierte 198 mg Gemisch von (4S, 8R)- und (4R, 8S)-cis-Hydrindanol-(4) (VII, VIII) und 24 mg (4S, 8R)-trans-Hydrindanol-(4) XIII.

Die Petroläther Fraktionen (0,734 g) wurden im Wasserstrahlvakuum destilliert und ebenfalls gaschromatographisch getrennt. Man erhielt auf diese Weise 95,3 mg Gemisch von (4R, 8R)- und (4S, 8S)-cis-Hydrindanol-(4) (IX, X) und 64,5 mg (4S, 8S)-trans-Hydrindanol-(4) XIV.

2.132 Zweiter Ansatz

Genau wie unter 2.131 beschrieben, wurden 6 g Hydrindanon-(4)-Gemisch mit *Curvularia falcata* umgesetzt.

Der Rohextrakt (10,8 g) wurde im Wasserstrahlvakuum destilliert (Badtemperatur 150⁰, höchste beobachtete Siedetemperatur 106⁰), wobei man 5,5 g Destillat erhielt. Da die Alkohole in diesem Falle nicht über saure Phtalate vorgereinigt waren, gelangt die gaschromatographische Trennung erst durch Kombination einer apolaren (Apiezon-L) und einer polaren (Emulphor-O) Kolonne, wobei die an der Apiezon-L-Kolonne erhaltenen reinen Fraktionen an der Emulphor-O Kolonne weiter aufgetrennt wurden. Die Trennung wurde in der gleichen Apparatur und unter den selben Bedingungen, wie unter 2.131 beschrieben, ausgeführt. Die Apiezon-L Kolonne unterscheidet sich von der Emulphor-O Kolonne nur in der Füllung. [Apiezon-L: Celite (mit Natriumcarbonat behandelt) = 27,5 : 72,5.]

Die analytischen Gaschromatogramme zur Bestimmung der Retentionsindices (Tabelle 3) wurden mit der Apparatur von P. Tóth, E. Kugler & E. Kováts⁵⁵⁾ aufgenommen. Die reinen Substanzen wurden durch Aufnahme der IR.-Absorptionsspektren mit jenen aus dem ersten präparativen Ansatzes verglichen. Die gaschromatographische Trennung liess sich mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie verfolgen⁵⁶⁻⁶⁰⁾. Als Adsorptionsmittel verwendete man das Kieselgel G der Firma Merck A.G., Darmstadt. Der Nachweis erfolgte durch Besprühen mit 7-proz. methanolischer Phosphomolybdänsäure-Lösung⁵¹⁾ und Erhitzen auf 120⁰. Die erhaltenen Produkte und ihre Rf-Werte sind in Tabelle 3 angegeben *).

*) Die Rf-Werte in der Dünnschicht-Chromatographie hängen ziemlich stark von der Art der Zubereitung der Platten ab, weshalb die in Tabelle 3 angegebenen Werte in erster Linie als relative Laufgeschwindigkeiten der einzelnen Substanzen zu betrachten sind.

Tabelle 3

Verbindung	Menge ^{c)} mg	Rf ^{a)}	I _{210,0} (Apiezon-L)	I _{210,1} (Emulphor-O)	ΔI
XIV	51	0,54	1244	1574	330
XIII	65	0,47	1237	1591	354
(V, VI)	21	0,65 ^{b)}	1271	1589	318
(VII, VIII)	348	0,47	1282	1641	359

a) Lösungsmittelsystem: Chloroform : Aethylacetat / 2 : 1.

b) Daneben zwei andere Flecken mit Rf = 0,47 und 0,54.

c) Die angegebenen Mengen lassen keinerlei Schlüsse auf das Verhältnis und auf die Menge zu, in welchen die einzelnen Verbindungen im ursprünglichen Gemisch vorhanden waren, da bei der gaschromatographischen Trennung wegen Undichtigkeit der Apparatur unkontrollierbare grosse Verluste eintraten.

2.14 Einzelne Verbindungen

2.14I Linksdrehendes cis-Hydrindanon-(4) (V)

Die gaschromatographische Auftrennung der Umsetzungsprodukte aus dem zweiten Präparativ-Ansatz hatte eine scheinbar einheitliche Fraktion, $[\alpha]_D = -17,5^{\circ}$ (c = 0,63; Aethanol) ergeben (vgl. Tabelle 3, Zeile 3). Die Dünnschicht-Chromatographie zeigte hingegen, dass es sich um ein Gemisch von 3 Substanzen handelte. Im IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen waren die Hydroxyl- (3480 cm^{-1}) und die Ketonbande (1700 cm^{-1}) vorhanden. Da die Differenz der Retentionsindices $\Delta I = 318$ ziemlich nahe jener des (\pm)-cis-Hydrindanon-(4) ($\Delta I = 306$) war, wurde aus dem Gemisch das 2,4-Dinitrophenylhydrazon nach der Methode von H. J. Shine⁴⁹⁾ hergestellt. Nach Chromatographie an Aluminiumoxyd (Akt. II) und fünfmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Wasser schmolzen die orangen Kristalle bei $126 - 131^{\circ}$, $[\alpha]_D = -103,3^{\circ}$ (c = 0,55; Chloroform). IR.-Absorptionsspektrum in KBr identisch mit jenem des 2,4-Dinitrophenylhydrazons des racemischen cis-Hydrindanons-(4).

2.142 Rechtsdrehendes Gemisch von (4S, 8R)- und (4R, 8S)-cis-Hydrindanol-(4) (VII, VIII)

2.1421 Aus dem ersten Ansatz: Die aus der gaschromatographischen Trennung erhaltene ölige Verbindung besass ein $[\alpha]_D = + 7^{\circ}$ ($c = 1,09$; Aethanol), $k^* = 3,3$. Zur Analyse wurde zuerst mit "Molekular Sieves" *) getrocknet und anschliessend in einem abgeschmolzenen Rohr im Hochvakuum destilliert.

$C_9H_{16}O$ Ber. C 77,09 H 11,50 % Gef. C 77,00 H 11,38 %

Das IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen war, bis auf die Intensitäten der Banden bei 1020 und 1040 cm^{-1} , identisch mit jenem des racemischen (\pm)-cis, cis-Hydrindanols-(4) (I).

Oxydation mit Chrom(VI)-oxyd: Aus 29 mg des Alkohol-Gemisches wurde mit 0,08 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton ein cis-Hydrindanon-(4) erhalten, welches nach Destillation in einem abgeschmolzenen Rohr im Hochvakuum folgende Eigenschaften zeigte: $[\alpha]_D = - 2^{\circ}$ ($c = 0,73$; Aethanol). Das IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen war mit jenem des racemischen cis-Hydrindanons-(4) (III), bis auf die Intensität der Bande bei 1040 cm^{-1} , identisch.

2.1422 Aus dem zweiten Ansatz: Die gaschromatographische Trennung ergab eine ölige Verbindung mit $[\alpha]_D = + 12^{\circ}$ ($c = 0,79$; Aethanol) und $k^* = 1,8$ (vgl. Tabelle 3, Zeile 4). Das IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen war identisch mit jenem des entsprechenden Produktes aus dem ersten Ansatz, bis auf die Intensität der Bande bei 1020 cm^{-1} . Das NMR-Spektrum zeigt, dass es sich um eine cis-Verbindung handelt²¹): $\tau_1 = 8,43$; $\tau_2 = 8,34$; $\tau_3 = 7,19$. Der Alkohol war gaschromatographisch einheitlich und wies annähernd die gleichen Retentionsindices auf wie das racemische cis, cis-Hydrindanol-(4) (s. Abschnitt 2.111).

Oxydation mit Chrom(VI)-oxyd: Die Oxydation von 70 mg Gemisch der enantiomeren Alkohole VII und VIII mit 0,15 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton lieferte 65 mg eines Produktes, welches man in einem abgeschmolzenen Rohr im Hochvakuum destillierte. $[\alpha]_D = + 9^{\circ}$ ($c = 0,67$; Aethanol). Das Präparat war gaschromatographisch einheitlich und wies die Retentionsindices $I_{210,5}$ (Apiezon-L) = 1269 und $I_{208,6}$ (Emulphor-O) = 1575 auf; es war somit identisch mit dem racemischen cis-Hydrindanon-(4) (s. Abschnitt 2.1121). IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen identisch mit jenem des racemischen cis-Hydrindanons-(4) (III).

*) Lynde, Typ 4A.

2, 4 -Dinitrophenylhydrazon: Das Derivat wurde aus 5 mg cis-Hydrindanon-(4) nach der Methode von H. J. Shine⁴⁹⁾ hergestellt. Das Produkt schmolz nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Wasser bei 127 - 135^o. Zur Analyse gelangten 0,7 mg.

C₁₅H₁₈O₄N₄ Ber. C 56,59 H 5,70 % Gef. C 57,12 H 5,29 %

IR. -Absorptionsspektrum in KBr vollständig identisch mit jenem des 2,4-Dinitrophenylhydrazons von racemischem cis-Hydrindanon-(4).

2.143 Rechtsdrehendes Gemisch von (4S, 8S)- und (4R, 8R)-cis-Hydrindanol-(4) (IX, X)

Die durch gaschromatographische Trennung gewonnene ölige Verbindung (vgl. 2.131) wies ein $[\alpha]_D^{20} = +47^{\circ}$ (c = 1,03; Aethanol) auf. Zur Analyse wurde über "Molekular Sieves" getrocknet und anschliessend in einem abgeschmolzenen Rohr im Hochvakuum destilliert.

C₉H₁₆O Ber. C 77,09 H 11,50 % Gef. C 76,92 H 11,64 %

IR. -Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen Kurve 3. Diese Substanz wurde nur im ersten Ansatz isoliert.

Oxydation mit Chrom(VI)-oxyd: Durch die Oxydation von 34 mg der Alkohole (IX, X) mit 0,2 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton erhielt man 29 mg eines Gemisches von (8R)- und (8S)-cis-Hydrindanon-(4), das in einem geschlossenen Rohr im Hochvakuum destilliert wurde. $[\alpha]_D^{20} = +52^{\circ}$ (c = 0,915; Aethanol). Das IR. -Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen war vollständig identisch mit jenem des racemischen cis-Hydrindanons-(4) und mit jenem des Oxydationsproduktes des Gemisches der Enantiomere VII und VIII, bis auf die Intensität der Bande bei 1040 cm⁻¹. R.D. (c = 0,0779; Aethanol): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{310} = +1100^{\circ}$.

2.144 (+)-(4S, 8R)-trans-Hydrindanol-(4) (XIII)

2.1441 Aus dem ersten Ansatz. Aus der gaschromatographischen Trennung erhielt man 24 mg einer öligen Verbindung, die eine $[\alpha]_D^{20} = +43^{\circ}$ (c = 0,79; Aethanol) aufwies. IR. -Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen: Kurve 4.

2.1442 Aus dem zweiten Ansatz. Die gaschromatographische Trennung lieferte eine ölige Verbindung mit $[\alpha]_D^{20} = +41^{\circ}$ (c = 0,66; Aethanol) und $k^* = 0,78$. Zur Analyse wurde zuerst mit "Molecular Sieves" getrocknet und anschliessend in einem abgeschmolzenen Rohr im Hochvakuum destilliert.

$C_9H_{16}O$ Ber. C 77,09 H 11,50 % Gef. C 77,19 H 11,67 %

Das IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen war vollständig identisch mit jenem des entsprechenden Produktes aus dem ersten Ansatz. Die Retentionsindices sind in Tabelle 3 angegeben.

2.145 (4S, 8S)-trans-Hydrindanol-(4) (XIV)

2.1451 Aus dem ersten Ansatz: Durch gaschromatographische Trennung erhielt man 64,5 mg farblose feine Nadeln mit einem Smp. von $51 - 53^{\circ}$, $[\alpha]_D = + 38^{\circ}$ ($c = 0,9$; Aethanol). IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen Kurve 5.

2.1452 Im zweiten präparativen Ansatz hingegen lieferte die gaschromatographische Trennung eine ölige Verbindung mit $[\alpha]_D = + 27^{\circ}$ ($c = 0,65$; Aethanol) und $k^* = 3,65$. Zur Analyse wurde zuerst über "Molecular Sieves" getrocknet und anschliessend in einem abgeschmolzenen Rohr destilliert.

$C_9H_{16}O$ Ber. C 77,09 H 11,50 % Gef. C 76,89 H 11,46 %

Das IR.-Absorptionsspektrum war nicht vollkommen identisch mit demjenigen der Verbindung aus dem ersten Ansatz, weil das Präparat laut Gas- und Dünnschichtchromatographie nicht ganz rein war. Trotzdem lässt sich aus den Retentionsindices und dem Rf-Wert (Tabelle 3) sowie aus dem Cotton-Effekt des Oxydationsproduktes mit Sicherheit schliessen, dass als Hauptprodukt die Verbindung XIV vorlag.

2.146 (8R)-trans-Hydrindanon-(4) (XI)

2.1461 Aus dem ersten Ansatz: Man oxydierte 15 mg Alkohol XIII mit 0,05 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton. Nach der Aufarbeitung blieben 9 mg einer Verbindung zurück, die im Hochvakuum in einem abgeschmolzenen Rohr destilliert wurde. IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen Kurve 6. R.D. ($c = 0,0884$; Aethanol): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{304} = + 1170^{\circ}$ *).

Umlagerung in das (8R)-cis-Hydrindanon-(4). In einer Lösung von 6 mg (8R)-trans-Hydrindanon-(4) in 5 ml Alkohol wurden 30 mg Natrium gelöst und das Gemisch 2 Std. am Rückfluss gekocht. Die übliche Aufarbeitung mit Pentan lieferte 3,6 mg eines wasserklaren Oels. Das IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform war ähnlich, aber nicht identisch mit demjenigen des cis-Hydrindanons-(4). Dies ist wahrscheinlich auf die Tatsache zurückzuführen, dass im Gleichgewichts-

*) Die R.D. wurde mit der Substanzmenge, die man für das IR.-Absorptionsspektrum gebraucht hatte, ohne weitere Reinigung ausgeführt. Durch diesen Umstand lässt sich wahrscheinlich der gegenüber Ansatz 2 beobachtete tiefere Gipfel begründen.

gemisch noch beträchtliche Mengen an trans-Isomer anwesend sind. Die Rotationsdispersionskurve bestätigt diese Vermutung. R.D. (c = 0,049; Aethanol): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{320} = -350^{\circ}$.

2.1462 Aus dem zweiten Ansatz. Durch Oxydation von 36 mg Alkohol XIII mit 0,075 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung erhielt man 31 mg Keton, die in einem abgeschmolzenen Rohr im Hochvakuum destilliert wurden. $[\alpha]_D = -11^{\circ}$ (c = 0,74; Aethanol). R.D. (c = 0,0313; Aethanol): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{304} = +1935^{\circ}$.

2,4-Dinitrophenylhydrazon: Das aus 9 mg Keton nach H. J. Shine⁴⁹⁾ hergestellte und einmal aus Methanol-Wasser umkristallisierte Derivat schmolz bei 185 - 187^o. $[\alpha]_D = -92,5^{\circ}$ (c = 0,39; Chloroform).

Umlagerung in das (8R)-cis-Hydrindanon-(4)

10 mg des Ketons wurden auf übliche Weise umgelagert und aus dem Rohprodukt das 2,4-Dinitrophenylhydrazon nach H. J. Shine⁴⁹⁾ hergestellt. Das Derivat besass nach dem Umkristallisieren aus Methanol-Wasser einen Smp. 132 - 137^o.

$[\alpha]_D = -119^{\circ}$ (c = 0,35; Chloroform). IR.-Absorptionsspektrum in KBr identisch mit jenem des 2,4-Dinitrophenylhydrazons von racemischem cis-Hydrindanon-(4).

2.147 (8S)-trans-Hydrindanon-(4) (XII)

2.1471 Aus dem ersten Ansatz. Die auf übliche Weise mit 0,2 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung ausgeführte Oxydation von 43 mg Alkohol XIV ergab 36,6 mg eines wasserklaren Oels, das im Hochvakuum in einem abgeschmolzenen Rohr destilliert wurde. $[\alpha]_D = +9^{\circ}$ (c = 0,76; Aethanol). Das IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen war vollkommen identisch mit demjenigen des (8R)-trans-Hydrindanons-(4) (XI), Kurve 6. R.D. (c = 0,0533; Aethanol): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{304} = -1600^{\circ}$.

Umlagerung in das (8S)-cis-Hydrindanon-(4). Die Umlagerung von 15 mg Keton mit Natriumäthylat lieferte ein Oel, dessen IR.-Absorptionsspektrum zwischen Kochsalzplättchen auf ein Gemisch von trans-Hydrindanon-(4) mit cis-Hydrindanon-(4) hinweist. R.D. (c = 0,065; Aethanol): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{310} = +400^{\circ}$. Die Kurve war praktisch das genaue Spiegelbild der Rotationsdispersionskurve des ausgehend vom (8R)-Isomer erhaltenen Gleichgewichtsgemisches.

2.1472 Aus dem zweiten Ansatz. 12 mg Alkohol XIV wurden mit 0,05 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton oxydiert. Die übliche Aufarbeitung ergab 11 mg Keton, das in einem abgeschmolzenen Rohr im Hochvakuum destilliert wurde. Ausbeute 7 mg. Die R.D. (c = 0,0313; Aethanol): negativer Cotton-Effekt (vgl.

S. 42), $[M]_{304} = -880^{\circ}$. Der Gipfel war erwartungsgemäss kleiner als derjenige des reinen (8S)-trans-Hydrindanons-(4).

2.2 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren mit *Curvularia falcata*

2.21 Vorversuche

Das Ausgangsmaterial³⁰⁻³⁴ wurde aus Aceton-Heptan umkristallisiert, worauf es bei 137 - 138^o schmolz. Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein λ_{\max} 250 m μ (log ξ = 4,15) auf. IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform: Kurve 9.

Die Vorversuche mit kleinen Mengen wurden sowohl mit "ruhenden" als auch mit wachsenden Kulturen ausgeführt. Nach Inkubationszeiten von 8 Stunden bis zu 17 Tagen wurden die mit Aethylacetat extrahierbaren Umsetzungsprodukte papierchromatographisch untersucht. Zur Sichtbarmachung der Flecken verwendete man UV.-Photokopie und Reaktion mit 7-proz. methanolischer Phosphomolybdänsäure-Lösung⁵¹). Zur Anwendung kamen die Lösungsmittelsysteme von Bush (B₃, B₅)³⁵), von Zaffaroni³⁶) (Propylenglykol/Toluol = P/T) System, sowie das von Reichstein und Mitarbeitern³⁸) modifizierte Zaffaroni-System (Propylenglykol-Wasser- 4:1/Benzol-Chloroform- 1:1 = RS). Letzteres eignet sich sehr gut für höher polare Verbindungen.

Die papierchromatographischen Eigenschaften des Ausgangsmaterials und der wichtigsten Umsetzungsprodukte sind in Tabelle 4 angegeben. Es zeigte sich, dass das Ausgangsmaterial mit "ruhenden" Kulturen nach ca. 18 Std. fast völlig umgesetzt war. Es wurden zwei Hauptprodukte mittlerer Polarität und kleinere Mengen von 3 - 4 höher polaren Verbindungen gebildet. Mit wachsenden Kulturen erhielt man, ebenfalls in sehr schneller Reaktion, ein viel komplexeres Gemisch, in dem eine ganze Reihe von hochpolaren Verbindungen nachweisbar waren. Für die präparative Umsetzung verwendete man daher nur die "ruhenden" Kulturen.

2.22 Umsetzung mit "ruhenden" Kulturen von *Curvularia falcata* und Isolierung der Produkte

Zwei Schüttelenten mit je 4 l Nährlösung¹⁾ wurden mit je einer während 24 Std. auf 500 ml Nährlösung in 2-l-Rundkolben²⁾ gezüchteten Kultur steril geimpft. Nach

Tabelle 4

Rf-Werte des Ausgangsmaterials und der wichtigsten Umsetzungsprodukte

Produkt	System:	B ₃	B ₅	P/T	RS
Ausg. Mat.		0,76	-	0,86	0,94
XVII		0,41	-	0,48	0,70
XVIII		0,51	-	0,56	0,73
XIX		-	0,38	-	0,16
XX		-	0,51	-	0,26
XXI		-	0,78	-	0,69
XXII		-	0,69	-	0,49

24 Std. wurde die Kultur bei 0° und 3500 x g zentrifugiert, das sedimentierte Mycel mit eiskaltem Wasser suspendiert, wieder zentrifugiert und zuletzt abgenutscht, wobei man 350 g noch feuchtes Mycel erhielt. Zu 2 Schüttelenten gab man je 4 l Phosphat-Pufferlösung (pH = 7), 175 g feuchtes Mycel, 40 g Saccharose und 1 g ([±])-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren. Beide Enten wurden während 18 Std. bei 26° geschüttelt. Anschliessend befreite man das Reaktionsgemisch durch Abzentrifugieren vom Mycel; letzteres wurde mit Wasser gewaschen und das gesamte Filtrat in einem Extraktionsapparat nach Kutscher-Steudel 3 Tage lang mit Aether extrahiert. Nach dem Abdestillieren des Aethers bekam man 2,59 g Rohextrakt. Das Mycel wurde in Aceton aufgeschwemmt. Nach Filtration und Abdampfen des Acetons enthielt der Rückstand, wie man papierchromatographisch feststellte, keine Umsetzungsprodukte und wurde nicht verarbeitet. Der Rückstand des Aetherextraktes wurde zuerst an 75 g Aluminiumoxyd (Akt. IV) chromatographiert. Mit Benzol und Aether wurden 1,94 g eluiert, wovon man 1,3 g nochmals an 41 g Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographierte.

Chromatogramm A

Fractionen	Eluierungsmittel	Eluat mg	
5 - 12	Benzol bis Benzol-Aether 30:1	286	Rf (B ₃): 0,41
13 - 17	Benzol-Aether 30:1 bis 20:1	122	Rf (B ₃): 0,41; 0,51
18 - 29	Benzol-Aether 20:1 bis Aether	308	Rf (B ₃): 0,51
30	Aether-Methanol 1:1	311	Rf (RS): 0,16; 0,26 0,69; 0,49

Aus den papierchromatographisch einheitlichen Fraktionen 5 - 12 bzw. 18 - 29 wurden die Verbindungen XVII (Rf = 0,41, B₃) bzw. XVIII (Rf = 0,51, B₃) isoliert. Fraktion 30 wurde nochmals an 42 g saurem Silicagel chromatographiert:

Chromatogramm B

Fraktionen	Eluierungsmittel	Eluat mg	
11 - 17	Benzol-Aehter 2:1 bis 1:1	127	Rf (RS): 0,69
18 - 23	Benzol-Aether 1:1 bis Aether	79	Rf (RS): 0,49; 0,26 (0,69; 0,16)
24 - 30	Aether-Aethylacetat 50:1 bis Aethylacetat	94	Rf (RS): 0,16

Die papierchromatographisch einheitlichen Fraktionen 11 - 17 bzw. 24 - 30 lieferten die Verbindungen XXI (Rf = 0,69, RS) bzw. XIX (Rf = 0,16, RS). Hydroxy-diketon XXII und Dihydroxy-ke-ton XX, welche in den Fraktionen 18 - 23 zusammen und als Gemisch mit kleinen Mengen der Verbindungen XIX und XXI vorlagen, konnten nicht in reiner Form isoliert werden.

2.23 Herstellung des sauren Silicagels

Das für die oben beschriebene Chromatographie verwendete saure Silicagel wurde wie folgt hergestellt⁶¹): 1 kg Silicagel (Korngrösse: 0,15 - 0,30 mm) wurde während 20 Std. in 3 l 20-proz. Salzsäure suspendiert. Die Suspension wurde durch eine Glasnutsche filtriert, mit Wasser neutralgewaschen und nochmals mit 2 l 0,1-n. Salzsäure aufgeschlemmt. Nach 20 Std. nutschte man wieder ab und trocknete ohne vorheriges Waschen 2 Std. bei 140°.

2.24 Die einzelnen Verbindungen

2.241 (1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XVII)

Die feste in den Fraktionen 5 - 12 von Chromatogramm A vorliegende Verbindung besass nach dem Umkristallisieren aus Aceton-Heptan einen Smp. von 172 - 173°, $[\alpha]_D^{20} = -10,8^\circ$ (c = 0,71; Chloroform), $k^* = 1,3$. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_{16}H_{24}O_2$ Ber. C 77,37 H 9,74 % Gef. C 77,46 H 9,77 %

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein λ_{\max} 252 m μ (log ϵ = 4,16) beobachtet. IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform: Kurve 7. R.D. (c = 0,1012; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{345} = +1600^{\circ}$.

Die UV.- und IR.-Absorptionsspektren der Mutterlaugen zeigten die Anwesenheit einer Verbindung mit hydrierter Δ^8 -Doppelbindung an, welche jedoch nicht in reiner Form isoliert werden konnte.

2.242 (1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1-Hydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XVIII)

Fractionen 18 - 29 aus dem Chromatogramm A wurden aus Aceton-Heptan umkristallisiert, wodurch man eine Verbindung mit dem Smp. 139 - 140 $^{\circ}$ und $[\alpha]_D = +36,8^{\circ}$ (c = 0,94; Chloroform) erhielt. Die relative Oxydationsgeschwindigkeit mit Chrom(VI)-oxyd: k* = 3,67. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_{16}H_{24}O_2$ Ber. C 77,37 H 9,74 % Gef. C 77,24 H 9,59 %

Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein λ_{\max} 250 m μ (log ϵ = 4,16) auf. IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform: Kurve 8. R.D. (c = 0,0966; Chloroform): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{340} = -1400^{\circ}$.

2.243 (10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XV)

80 mg Hydroxy-keton XVII wurden mit 0,1 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton oxydiert. Nach der Aufarbeitung erhielt man 72 mg einer kristallinen Verbindung, Smp. 96 - 99 $^{\circ}$, die nach Chromatographie an 2 g Aluminiumoxyd (Akt. II), neben 3 mg Ausgangsmaterial, 59 mg eines papierchromatographisch einheitlichen Diketons mit dem Rf-Wert 0,76 (B₃) (vgl. Tabelle 4) lieferte. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Heptan schmolzen die farblosen Kristalle bei 105 bis 106 $^{\circ}$, $[\alpha]_D = -69,1^{\circ}$ (c = 0,89; Chloroform). Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_{16}H_{22}O_2$ Ber. C 78,01 H 9,00 % Gef. C 77,87 H 8,94 %

Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein λ_{\max} 250 m μ (log ϵ = 4,16) auf. Das IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform war identisch mit jenem des racemischen 4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthrens: Kurve 9. R.D. (c = 0,1102; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{345} = +780^{\circ}$.

2.244 (10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XVI)

80 mg des durch mikrobiologische Reduktion erhaltenen Hydroxy-ketons XVIII wurden wie üblich mit Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton oxydiert. Die Aufarbeitung ergab 76 mg eines allmählich kristallisierenden Oels. Durch chromatographische Reinigung an 2 g Aluminiumoxyd (Akt. II) gewann man daraus 66 mg rohes rechtsdrehendes Diketon XVI, welches nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Heptan bei 104 - 106° schmolz. $[\alpha]_D^{20} = +79,8^{\circ}$ (c = 0,88; Chloroform).

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein $\lambda_{\max}^{250 \text{ m}\mu}$ (log $\epsilon = 4,16$) beobachtet. Das IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform war identisch mit jenem des racemischen 4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthrens, Kurve 9, und jenem des Diketons XV. R.D. (c = 0,083; Chloroform): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{345} = -960^{\circ}$.

2.245 4-Methyl-19-nortestosteron (XXV)⁴²⁾

Die Verbindung kristallisiert in farblosen Nadeln. Smp. 158 - 159°, $[\alpha]_D^{20} = +52^{\circ}$ (c = 0,74; Chloroform). R.D. (c = 0,1 von 360 bis 600 m μ und c = 0,0242 von 260 bis 360 m μ ; Chloroform): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{345} = -2900^{\circ}$.

2.246 Hydroxylierungsprodukte

2.2461 (1S, 9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 9-Dihydroxy-7-oxo-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XIX). Die Fraktionen 24 - 30 aus dem Chromatogramm B wurden aus Aceton-Heptan umkristallisiert; dabei erhielt man ein schön kristallisierendes Produkt von Smp. 187 - 188°, $[\alpha]_D^{20} = +119,9^{\circ}$ (c = 1,08; Chloroform), $k^* = 8,50$. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

C₁₆H₂₄O Ber. C 72,69 H 9,15 % Gef. C 72,64 H 9,23 %

Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein $\lambda_{\max}^{248 \text{ m}\mu}$ (log $\epsilon = 4,06$) auf. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: Kurve 10. R.D. (c = 0,067; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{354} = +2900^{\circ}$, $[M]_{310} = -750^{\circ}$.

2.2462 (9 ξ , 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-9-hydroxy-8, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XXI). Die Reinigung dieses in den Fraktionen 11 - 17 des Chromatogrammes B enthaltenen Umsetzungsproduktes gestaltete sich schwierig. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton-Heptan lieferte schliesslich eine Verbindung vom Smp. 189 - 190°. $[\alpha]_D^{20} = +2,4^{\circ}$ (c = 0,84; Chloroform), $k^* = 4,54$. Zur Analyse gelangte eine im Hochvakuum sublimierte Probe.

C₁₆H₂₂O Ber. C 73,25 H 8,45 % Gef. C 73,72 H 8,65 %

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein λ_{\max} 246 m μ ($\log \epsilon = 3,92$) beobachtet. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: Kurve 11. R.D. ($c = 0,0845$; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{360} = +115^{\circ}$ ($\pm 75^{\circ}$), $[M]_{310} = -390^{\circ}$.

2.2463 (10aS)-4a,4b-trans-4a,10a-trans- Δ^8 -1,7,9-Trioxo-8,10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XXIII)

a) Durch Oxydation des Dihydroxy-ketons (XIX). Die Oxydation von 36 mg aus den Mutterlaugen gewonnenen Dihydroxy-ketons XIX mit Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton lieferte 30 mg Rohprodukt, die an 1 g Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert wurden. Die Petroläther-Benzol 1:1-Eluate enthielten 22 mg eines papierchromatographisch einheitlichen Produktes: $R_f (B_3) = 0,71$; $R_f (P/T) = 0,86$; $R_f (RS) = 0,9$, das nach Umkristallisieren aus Aether-Petroläther bei 159 - 160 $^{\circ}$ schmolz. $[\alpha]_D = -65,4^{\circ}$ ($c = 0,76$; Chloroform). Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_{16}H_{20}O_3$ Ber. C 73,82 H 7,74 % Gef. C 73,93 H 7,83 %

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein λ_{\max} 264 m μ ($\log \epsilon = 4,03$) beobachtet. IR.-Absorptionsspektrum in KBr: Kurve 12.

b) Durch Oxydation des Hydroxy-diketons (XXI). 50 mg Hydroxy-diketon XXI aus den Mutterlaugen wurden wie üblich mit Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton oxydiert. Das Oxydationsprodukt, 37 mg eines gelbgefärbten Oeles, wurde an 1 g Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert. Man erhielt dabei 32 mg eines papierchromatographisch einheitlichen Triketons mit folgenden R_f -Werte: 0,71 (B_3); 0,86 (P/T) und 0,9 (RS). Die so erhaltene Verbindung gab keine Smp.-Erniedrigung mit dem durch Oxydation von Dihydroxy-keton XIX erhaltenen Triketon, und beide Verbindungen besaßen ein identisches IR.-Absorptionsspektrum in KBr.

Das aus Aether-Petroläther umkristallisierte Triketon schmolz bei 158 - 160 $^{\circ}$, $[\alpha]_D = -66,4^{\circ}$ ($c = 0,83$; Chloroform). Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein λ_{\max} 264 m μ ($\log \epsilon = 4,02$) auf. R.D. ($c = 0,049$; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{400} = +1700^{\circ}$.

2.2464 (10aR)-4a,4b-trans-4a,10a-trans- Δ^8 -1,7,9-Trioxo-8,10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren (XXIV). Die Fraktionen 18 - 23 des Chromatogrammes B, die das Dihydroxy-keton XX, das Hydroxy-diketon XXII und zum Teil (etwa 20 - 25 %) noch Dihydroxy-keton XIX und Hydroxy-diketon XXI enthielten, wurden zusammengenommen und mit Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton oxydiert. Nach der Aufarbeitung erhielt man 61 mg gelblichen Oels, die an 1,8 g Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert wurden. Die Petroläther-Benzol 1:1 bis Benzol-Eluate lieferten

34 mg eines papierchromatographisch einheitlichen Produktes: Rf-Werte: 0,87 (P/T) - 0,71 (B₂). Die späteren Fraktionen waren nicht einheitlich Rf (P/T) = 0,71 - 0,48 und 0,12 und wurden nicht untersucht.

Das aus Aether-Petroläther umkristallisierte Produkt besass folgende Eigenschaften: Smp. 120 - 130^o, $[\alpha]_D^{20} = + 35,7^o$ (c = 0,78; Chloroform). Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

C₁₆H₂₀O₃ Ber. C 73,82 H 7,74 % Gef. C 73,70 H 7,75 %

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein λ_{max} 264 m μ (log ϵ = 4,02) beobachtet. IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform und in KBr vollständig identisch mit demjenigen des Triketons XXIII. R.D. (c = 0,0485; Chloroform): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{400} = - 800^o$.

2.247 Bestimmung der Konfiguration von Kohlenstoffatomen 4a, 4b und 10a in den Hydroxylierungsprodukten.

5 mg Hydroxy-keton XVII wurden zu einer gut gewachsenen, eintätigen Kultur von *Curvularia falcata* in 50 ml Nährlösung gegeben und 2 Tage lang geschützt. Die Aetherauszüge wurden papierchromatographisch untersucht und dabei festgestellt, dass - neben anderen höher polaren Verbindungen - das Dihydroxyketon XIX entstanden war. Rf = 0,16 (RS); Rf = 0,38 (B₂). Auf analoge Weise konnte die Entstehung des Dihydroxy-ketons XX aus dem Hydroxy-keton XVIII nachgewiesen werden.

2.3 Die mikrobiologische Reduktion von (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren mit *Curvularia falcata*

2.31 Herstellung des Ausgangsmaterials

5 g Sarett-Keton⁴⁰⁾ (Smp. 217 - 218^o) wurden in 100 ml Eisessig-Wasser 1:1 gelöst und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Anschliessend wurde das Reaktionsgemisch zur Trockene eingedampft und an 100 g Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert. Die auf diese Weise erhaltenen farblosen Kristalle wurden aus Aceton-Heptan umkristallisiert, worauf sie bei 201 - 202^o schmolzen. Zur Analyse gelangte ein im Hochvakuum sublimiertes Präparat.

$C_{15}H_{20}O_3$ Ber. C 72,55 H 8,12% Gef. C 72,40 H 8,17%

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein λ_{\max} 240 m μ (log ϵ = 4,19) beobachtet. IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform: Kurve 13.

2.32 Vorversuche

Die Vorversuche mit kleinen Mengen wurden sowohl mit "ruhenden" als auch mit wachsenden Kulturen ausgeführt. Nach Inkubationszeiten von 8 Std. bis zu 17 Tagen wurden die mit Aethylacetat extrahierbaren Umsetzungsprodukte papierchromatographisch untersucht. Zur Sichtbarmachung der Flecken verwendete man Photokopie im UV. und Reaktion mit 7-proz. methanolischer Phosphomolybdänsäure-Lösung⁵¹). Als Lösungsmittelsysteme kamen Formamid-Chloroform (F/Chf) und Propylenglykol/Toluol (P/T) zur Anwendung³⁶⁾³⁷⁾. Mit wachsenden Kulturen war nach 3 Tagen das Ausgangsmaterial ungefähr zur Hälfte umgesetzt. Ein analoges Ergebnis erhielt man mit "ruhenden Kulturen". Für die präparative Umsetzung verwendete man wachsende Kulturen, da sich die "ruhenden" Kulturen für längere Inkubationsperioden nicht eignen.

2.33 Umsetzung mit wachsenden Kulturen von *Curvularia falcata* und Isolierung der Produkte

Vier Schüttelenten mit je 4 l Nährlösung wurden mit vier während 24 Std. auf 500 ml Nährlösung¹⁾ in 2-l-Rundkolben²⁾ gezüchteten Kulturen steril geimpft und nach 24 Std. Wachstum mit je 1 g (\pm)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1,7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren in 40 ml Methanol versetzt. Nach 3 Tagen wurde abfiltriert und im Extraktionsapparat nach Kutscher-Steudel mit Aether erschöpfend extrahiert. Auf diese Art erhielt man 5,4 g Rohextrakt. Das Mycel wurde mit Aceton gewaschen; nach Filtration und Abdampfen des Acetons untersuchte man den Rückstand durch Papierchromatographie; es wurden aber keine Umsetzungsprodukte festgestellt. Der Aetherextrakt wurde zuerst an 125 g Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert:

Chromatogramm A

Fraktionen	Eluierungsmittel	Eluat mg	Rf (F/Chf)
1 - 4	Benzol	2140	0,70
5 - 11	Benzol bis Benzol-Aether 1:1	720	0,41 + 0,31
12 - 17	Benzol-Aether 1:1 bis Methanol	1340	0,31

Aus den papierchromatographisch einheitlichen Fraktionen 14 - 17 wurde die Verbindung XXIX (Rf 0,31) isoliert. Die Fraktionen 1 - 4, obwohl papierchromatographisch scheinbar einheitlich, wurden nochmals an 60 g Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert, da sie stark verunreinigt waren (s. Abschnitt 2.341). Die Fraktionen 5 - 13 wurden vereinigt und an 48 g Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert:

Chromatogramm B

Fraktionen	Eluierungsmittel	Eluat mg	Rf (F/Chf)
16 - 19	Benzol-Aether 1:1 bis Aether	418	0,41
21 - 23	Aethylacetat	217	0,41 + 0,31
24 - 25	Aethylacetat bis Aethylacetat-Methanol 1:1	927	0,31

Die Fraktionen 16 - 19 lieferten das Dihydroxy-keton XXVIII (Rf 0,41), und aus den Fraktionen 24 - 25 wurde das Dihydroxy-keton XXIX (Rf 0,31) isoliert.

2.34 Die einzelnen Verbindungen

2.341 (4S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren XXVI.

Fraktionen 1 - 4 aus dem Chromatogramm A, die das Hydroxy-diketon XXVI enthielten, wurden zusammengenommen und an 60 g Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert. Dabei erhielt man 1,6 g Hydroxy-diketon XXVI mit dem Rf-Wert 0,70 (F/Chf). Die reinsten Fraktionen (1 g) zeigten Smp. 149 - 151⁰ und $[\alpha]_D = +147,2^0$ (c = 0,907; Chloroform). Sie wurden zweimal aus Aceton-Heptan umkristallisiert, worauf man Smp. 161 - 162⁰, $[\alpha]_D = +164,4^0$ beobachtete *) (c = 0,985; Chloroform).

*) Lukes & Sarett⁴¹⁾ fanden Smp. 162⁰ und $[\alpha]_D = -163^0$ (Chloroform) für das Enantiomer.

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein λ_{\max} 240 m μ ($\log \epsilon = 4,12$) beobachtet. IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform identisch mit jenem des racemischen 4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren: Kurve 8. R.D. ($c = 0,0491$; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{410} = + 665^{\circ}$, $[M]_{347} = - 352^{\circ}$.

2.342 (1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (XXVIII)

Fraktionen 16 - 19 aus dem Chromatogramm B, die dieses Umsetzungsprodukt enthielten, wurden aus Aceton-Heptan umkristallisiert, wodurch man eine Verbindung mit dem Smp. 185 - 186 $^{\circ}$ und $[\alpha]_D = + 174,6^{\circ}$ ($c = 0,758$; Chloroform) erhielt. Die relative Oxydationsgeschwindigkeit mit Chrom(VI)-oxyd: $k^* = 10,6$. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_{15}H_{22}O_3$ Ber. C 71,97 H 8,86 % Gef. C 71,75 H 8,71 %

Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein λ_{\max} 241 m μ ($\log \epsilon = 4,21$) auf. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: Kurve 14. R.D. ($c = 0,0560$; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{393} = + 1290$ und $[M]_{353} = + 452^{\circ}$.

2.343 (1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (XXIX)

a) Aus *Curvularia falcata*. Die in den Fraktionen 14 - 17 von Chromatogramm A und 24 - 25 von Chromatogramm B enthaltene feste Verbindung schmolz nach dem Umkristallisieren aus Aceton-Heptan bei 199 - 201 $^{\circ}$, $[\alpha]_D = - 143,3$ ($c = 0,847$; Chloroform), $k^* = 8,36$. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

$C_{15}H_{22}O_3$ Ber. C 71,97 H 8,86 % Gef. C 71,99 H 8,93 %

Im UV.-Absorptionsspektrum wurde ein λ_{\max} 237 m μ ($\log \epsilon = 4,24$) beobachtet. IR.-Absorptionsspektrum in Nujol: Kurve 15. R.D. ($c = 0,04975$; Chloroform): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{400} = - 713^{\circ}$, $[M]_{350} = + 432,5^{\circ}$.

b) Durch Hydrolyse von (1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-4b-methyl-7-äthylendioxy-dodecahydrophenanthren¹²⁾. 50 mg Diol XXXII wurden in 20 ml Eisessig-Wasser 1:1 gelöst und über Nacht stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde dann im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand aus Aceton-Heptan umkristallisiert. Die erhaltene Verbindung erwies sich nach Smp., Misch.-Smp., Drehung und IR.-Absorptionsspektrum (in Nujol) als identisch mit dem aus *Curvularia falcata* erhaltenen Dihydroxy-keton XXIX.

2.344 (10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4, 7-Trioxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (XXXI)

125 mg Diol-keton XXIX wurden in 10 ml Aceton gelöst und mit 0,3 ml Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung oxydiert. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man 124 mg Kristalle, welche nach Chromatographie an 4 g Aluminiumoxyd (Akt. III), neben 13 mg Ausgangsmaterial, 107 mg eines papierchromatographisch einheitlichen Triketons mit dem Rf-Wert 0,60 (P/T) lieferten. Da sich das auf diese Weise erhaltene Produkt beim Stehen gelb färbte, wurde erneut an Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert und sofort aus Aceton-Heptan umkristallisiert. Nach dreimaligem Umkristallisieren schmolzen die nun farblosen Kristalle bei 123 - 124^o, $[\alpha]_D = -6,7^o$ *) (c = 0,975; Chloroform). Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

C₁₅H₁₈O₃ Ber. C 73,14 H 7,37 % Gef. C 73,07 H 7,36 %

Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein λ_{max} 237 m μ (log ϵ = 4,10) auf. IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform: Kurve 16. R.D. (c = 0,1031; Chloroform): positiver Cotton-Effekt, $[M]_{318,5} = +8055^o$ (\pm 6 %).

2.345 (10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4, 7-Trioxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren (XXX)

83 mg des durch mikrobiologische Reduktion erhaltenen Dihydroxy-ketons XXVIII wurden wie üblich mit Chrom(VI)-oxyd-Standardlösung in Aceton oxydiert, was 81 mg eines allmählich kristallisierenden Oels ergab, welches an 2,4 g Aluminiumoxyd (Akt. III) chromatographiert wurde. Dabei erhielt man 67 mg eines papierchromatographisch einheitlichen Triketons mit Rf-Wert 0,60 (P/T). Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Heptan schmolzen die farblosen Kristalle bei 122 - 124^o, $[\alpha]_D = +6,9^o$ (c = 0,865; Chloroform).

Das UV.-Absorptionsspektrum weist ein λ_{max} 237 m μ (log ϵ = 4,21) auf. Das IR.-Absorptionsspektrum in Chloroform war identisch mit demjenigen des Triketons XXXI: Kurve 16. R.D. (c = 0,0857; Chloroform): negativer Cotton-Effekt, $[M]_{318,5} = -8520$ (\pm 6 %).

*) Lukes & Sarett⁴¹⁾ fanden Smp. 124, $[\alpha]_D = -8,9^o$ in Chloroform.

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung W. Manser) ausgeführt.

Die UV.-Absorptionsspektren wurden unter Leitung von Herrn Professor E. Heilbronner, die NMR-Spektren unter Leitung von Herrn Professor Hs.H.Günt-hard, die IR.-Absorptionsspektren von Fräulein V. Klopstein und Herrn R. Dohner aufgenommen.

Allen Beteiligten sei herzlich gedankt.

3. ZUSAMMENFASSUNG

- 3.1 Die Reduktion eines Gemisches von racemischem cis- und trans-Hydrindanon-(4) mit wachsenden Kulturen von *Curvularia falcata* (Tehon) Boedijn ergab ein praktisch racemisches cis, cis-Hydrindanol-(4), optisch unreines (4S)-cis-Hydrindanol-(4) und zwei diastereomere (4S)-trans-Hydrindanole-(4). Die Reduktion der cis-Verbindungen verlief weniger stereospezifisch als diejenige der trans-Isomere.
- 3.2 Die Umsetzung von racemischem 4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-8a, 10a-dimethyl-dodecahydrophenanthren mit "ruhenden" Kulturen von *Curvularia falcata* (Tehon) Boedijn lieferte zwei Reduktions- und vier Hydroxylierungsprodukte, deren relative und absolute Konfiguration bestimmt werden konnte.
- 3.3 Racemisches 4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 7-Dioxo-4-hydroxy-4b-methyl-dodecahydrophenanthren wurde mit wachsenden Kulturen von *Curvularia falcata* (Tehon) Boedijn stereospezifisch reduziert. Man isolierte zwei optisch aktive Dihydroxy-ketone, das (1S, 10aR)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren und das (1S, 10aS)-4a, 4b-trans-4a, 10a-trans- Δ^8 -1, 4-Dihydroxy-7-oxo-4b-methyl-dodecahydrophenanthren.
- 3.4 Konstitution und absolute Konfiguration der einzelnen Verbindungen wurden einerseits durch direkten Vergleich oder durch Verknüpfung mit bekannten Substanzen, andererseits mit Hilfe der Rotationsdispersionskurven und der relativen Oxydationsgeschwindigkeit bestimmt.
- 3.5 Die Ergebnisse wurden unter dem Gesichtspunkt der in unserem Laboratorium entwickelten Anschauungen über den sterischen Verlauf von mikrobiologischen Reduktionen diskutiert.

4. LITERATUR

- 1) V. Prelog & W. Acklin, *Helv.* 39, 748 (1956).
- 2) W. Acklin, V. Prelog & A. P. Prieto, *Helv.* 41, 1416 (1958).
- 3) W. Acklin, D. Dütting & V. Prelog, *Helv.* 41, 1424 (1958).
- 4) W. Acklin, V. Prelog & D. Zäch, *Helv.* 41, 1428 (1958).
- 5) P. Baumann & V. Prelog, *Helv.* 41, 2362 (1958).
- 6) P. Baumann & V. Prelog, *Helv.* 41, 2379 (1958).
- 7) W. R. Feldman & V. Prelog, *Helv.* 41, 2396 (1958).
- 8) P. Baumann & V. Prelog, *Helv.* 42, 736 (1959).
- 9) W. Acklin & V. Prelog, *Helv.* 42, 1239 (1959).
- 10) V. Prelog & D. Zäch, *Helv.* 42, 1862 (1959).
- 11) V. Prelog & H. E. Smith, *Helv.* 42, 2624 (1959).
- 12) W. Acklin, Dissertation E. T. H. 1958.
- 13) D. Zäch, Dissertation E. T. H. 1959.
- 14) P. Baumann, Dissertation E. T. H. 1959.
- 15) P. Walter, Dissertation E. T. H. 1960.
- 16) V. Prelog in Ciba Foundation Study Group No. 2, Steric Course of Microbiological Reactions, Churchill, London 1959, S. 79.
- 17) E. Vischer & A. Wettstein, *Adv. Enzym.* 20, 237 (1958).
- 18) W. Hückel & E. Goth, *Ber.* 67, 2104 (1934).
- 19) W. G. Dauben & I. Jiu, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 4426 (1954).
- 20) E. Kováts, *Helv.* 41, 1915 (1958).
- 21) J. Musher & R. E. Richards, *Proc. chem. Soc.* 1958, 230.
- 22) R. S. Cahn, C. K. Ingold & V. Prelog, *Experientia* 12, 81 (1956).
- 23) H. H. Inhoffen, G. Quinkert, S. Schütz, D. Kampe & G. F. Domagk, *Ber.* 90, 664 (1957).
- 24) C. Djerassi, D. Marshall & T. Nakano, *J. Amer. chem. Soc.* 80, 4853 (1958).
- 25) J. Schreiber & A. Eschenmoser, *Helv.* 38, 1529 (1955).
- 26) C. Djerassi, Optical Rotatory Dispersion, McGraw-Hill Book Company, New York, Toronto, London, 1960, S. 178.
- 27) W. Moffitt, R. B. Woodward, C. Djerassi & W. Klyne, *J. Amer. chem. Soc.*, im Druck.
- 28) D. H. R. Barton, *J. chem. Soc.* 1953, 1027.
- 29) K. Savard, *J. biol. Chemistry* 202, 457 (1953).

- 30) P. Wieland, H. Ueberwasser, G. Anner & K. Miescher, *Helv.* 36, 376 (1953).
- 31) P. Wieland, G. Anner & K. Miescher, *Helv.* 36, 646 (1953).
- 32) P. Wieland, H. Ueberwasser, G. Anner & K. Miescher, *Helv.* 36, 1231 (1953).
- 33) P. Wieland, G. Anner & K. Miescher, *Helv.* 36, 1803 (1953).
- 34) A. Eschenmoser, J. Schreiber & S. A. Julia, *Helv.* 36, 482 (1953).
- 35) I. E. Bush, *Biochem. J.* 50, 370 (1952).
- 36) R. Neher, *J. of Chromatography* 1, 205 (1958).
- 37) R. B. Burton, A. Zaffaroni & E. H. Keutman, *J. biol. Chemistry* 188, 763 (1951).
- 38) H. R. Urscheler, Ch. Tamm & T. Reichstein, *Helv.* 38, 883 (1955).
- 39) W. Voser, M. Montavon, Hs. H. Günthard, O. Jeger & L. Ruzicka, *Helv.* 33, 1893 (1950).
- 40) G. I. Poos, G. E. Arth, R. E. Beyler & L. H. Sarett, *J. Amer. chem. Soc.* 75, 422 (1953).
- 41) R. M. Lukes & L. H. Sarett, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 1178 (1954).
- 42) N. W. Atwater, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 5315 (1957).
- 43) E. Vischer, J. Schmidlin & A. Wettstein, *Experientia* 12, 50 (1956).
- 44) L. Pasteur, *C.R. Acad. Sc. (Paris)* 46, 615 (1858).
- 45) W. Hückel & R. Schlüter, *Ber.* 67, 2107 (1934).
- 46) Th. Bürer, M. Kohler & Hs. H. Günthard, *Helv.* 41, 2216 (1958).
- 47) C. Djerassi, R. R. Engle & A. Bowers, *J. org. Chemistry* 21, 1547 (1956).
- 48) K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones & B. C. L. Weedon, *J. chem. Soc.* 1946, 39.
- 49) H. J. Shine, *J. org. Chemistry* 24, 252 (1959).
- 50) W. Hückel & W. Doll, *Ann.* 526, 103 (1936).
- 51) D. Kritchevsky & M. R. Kirk, *Arch. Biochem. Biophys.* 35, 346 (1952).
- 52) W. Klyne, *J. chem. Soc.* 1960, 2044.
- 53) E. Heilbronner, E. Kováts & W. Simon, *Helv.* 40, 2410 (1957).
- 54) E. Kováts, W. Simon & E. Heilbronner, *Helv.* 41, 275 (1958).
- 55) P. Tóth, E. Kugler & E. Kováts, *Helv.* 42, 2519 (1959).
- 56) E. Stahl, *Parfümerie und Kosmetik* 39, 564 (1958).
- 57) E. Stahl, *Chemiker Zeitung* 82, 323 (1958).
- 58) E. Stahl, *Arch. Pharm.* 292, 411 (1959).
- 59) E. Demole, *J. of Chromatography* 1, 24 (1958).
- 60) M. Barbier, H. Jäger, H. Tobias & E. Wyss, *Helv.* 42, 2440 (1959).
- 61) H. Brockmann & H. Muxfeldt, *Ber.* 89, 1393 (1956).

Lebenslauf

Am 30. Januar 1932 wurde ich in Bellinzona geboren. Nach dem Besuche der Primarschule und des Ginnasio Cantonale in Bellinzona, trat ich im Herbst 1947 in das Liceo Cantonale in Lugano ein, wo ich im Sommer 1951 die Maturitätsprüfung (Typus C) ablegte.

Nach einem Jahr Militärdienst nahm ich mein Studium an der Abteilung für Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich auf, wo mir im Februar 1957 das Diplom eines Ingenieur-Chemikers erteilt wurde. Nach 9 Monaten Industriepraxis begann ich im November 1957 mit der vorliegenden Promotionsarbeit am organisch-chemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule unter der Leitung von Herrn Professor V. Prelog zu arbeiten.

Zürich, im Oktober 1960

Fausto Schenker