

zione 3 -, conduce all'estere carbonilcaffeico corrispondente.

Da questo, per idrolisi su b.m. mediante acido acetico all'80%, si ottiene, in seguito ad eliminazione di acetone e di una molecola di CO₂, l'estere metilico dell'acido 1-carboetossi, 3-caffeilchinico (V), piccoli cristalli incolori (da acetato di etile), p.f. 193-195°.

Il triestere (V) viene poi assoggettato ad una saponificazione selettiva, per trattamento di una sua soluzione metanolica al 10% con 2,5 molecole di bario idrossido acquoso saturo, per pochi minuti e alla temperatura di 60-70°. Si ha eliminazione di CO₂, alcool etilico ed alcool metilico e formazione dell'acido clorogenico (I).

Questo viene isolato per estrazione con acetato di etile in presenza di acidi minerali, purificazione attraverso il suo complesso piombico¹ e concentrazione a sciroppo della soluzione acquosa; col riposo, lentamente solidifica. Per cristallizzazione da acqua bollente, si ottengono aghi bianchi che mostrano la stessa composizione e lo stesso p. di f. (205-207°, anche in miscela) dell'acido clorogenico naturale.

L'identità del composto di sintesi con (I) è ulteriormente confermata dal comportamento cromatografico, dal potere rotatorio specifico e dallo spettro I.R. (in nuyol).

Maggiori dettagli verranno prossimamente comunicati.

L. PANIZZI, MARIA LUISA SCARPATI
e GIOVANNA ORIENTE

*Istituto di Chimica Organica dell'Università, Roma,
luglio 7, 1955.*

Summary

Quinic acid methyl ester, having the 1·4 and 5 hydroxy-groups suitably blocked, was condensed with the carbonilcaffeic acid chloride.

Gradual hydrolysis of the condensation compound gave place to chlorogenic acid.

¹ K. GORTER, Liebigs Ann. Chem. 358, 346 (1907).

Mikrobiologische Oxydation von Steroiden durch Cephalosporia

Die mikrobiologische Oxydation von Steroiden ist wohl bekannt. Hauptsächlich einige Rhizopusarten¹, *Ophiobolus herpotrichus*², *Trichotecium roseum*², *Cunninghamella blakesleena*³, *Fusarium*arten⁴, *Curvularia lunata*⁵, einige Streptomycesarten⁶, *Penicillia*⁷ usw. sind in diesem Zusammenhang beschrieben worden. Über Oxydationen mit Hilfe der Cephalosporia wurde unseres Wissens bisher nicht berichtet. Wir untersuchten verschiedene Spezies der Cephalosporia und fanden, dass mehrere Mitglieder der Familie die Fähigkeit besitzen,

Steroide, zum Beispiel Progesteron, zu oxydieren. Es wurde festgestellt, dass die verschiedenen Spezies aus demselben Substrat verschiedene Oxydationsprodukte herstellen und dass auch derselbe Stamm aus demselben Substrat - zum Beispiel Progesteron - bei veränderten Fermentationsbedingungen verschiedene oxydierte Stoffe zu produzieren imstande ist.

Cephalosporium subverticillatum wurde in einem, aus 1% Glykose und 2% «corn steep liquor» bestehenden Medium bei 28°C unter Rühren aerob gezüchtet. Das pH fiel während 24 h von 7 auf 5,4. Dann wurde der Kultur in Azeton gelöstes Progesteron zugegeben und die Fermentation noch 24 h fortgesetzt, währenddem das pH auf 8,6 stieg. Hernach wurde das Myzel abgetrennt, mit Azeton und Chloroform nachgewaschen und die vereinigten Filtrate mit Chloroform extrahiert. Die mit Natriumbikarbonatlösung und Wasser gewaschenen und getrockneten Auszüge wurden eingeengt. Der Rückstand kristallisierte nach Zugabe von wenig Azeton. Aus 5 l einer Kulturflüssigkeit, welche 2 g Progesteron enthielt, erhielten wir 2 g rohes, kristallinisches Material. Dieses konnte aus Azeton umkristallisiert werden und ergab 1,05 g farblose Kristalle. Nach Identifizierung durch Bestimmung des Schmelzpunktes, des optischen Drehvermögens, des U.V.-Absorptionsspektrums und durch papierchromatographische Untersuchung wurde bewiesen, dass das Oxydationsprodukt das Δ^4 -Testololaktone ist¹.

In einem anderen Versuch wurde der Fermentationsprozess 4 h nach Zugabe von 2 g Progesteron beendet. Das pH stieg in diesem Falle während der Oxydation von 5,4 nur bis 5,6. Die Gärflüssigkeit wurde ähnlich wie im vorhergehenden Versuch aufgearbeitet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde ein öliges Rückstand erhalten (3,5 g), welcher gemäss der papierchromatographischen Untersuchung (Carbitol-Methylzyklohexan-System nach ZAFFARONI) noch etwas unverändertes Progesteron, wenig Testololaktone und etwa 40% Δ^4 -Androsten-3,17-dione enthielt. Nach chromatographischer Reinigung des Öles auf einer Aluminiumoxydsäule konnte Androstendion auch kristallin isoliert werden.

Über die oxydierende Wirkung des *Cephalosporium subverticillatum* gegenüber anderen Steroiden und über Umwandlungen von Steroiden durch andere Cephalosporiumarten wird später berichtet.

AGNES BODÁNSZKY, J. KOLLONITSCH
und G. WIX

*Forschungsinstitut der Pharmazeutischen Industrie,
Budapest VII, Rottenbiller-U. 26, den 6. Mai 1955.*

Summary

It was found that members of the *Cephalosporium* species transform steroids under the known conditions of microbiological oxydation. *Cephalosporium subverticillatum* is able to produce Δ^4 -testololactone from progesterone, but, in case of a longer fermentation period, Δ^4 -androsten-3,17-dione can be isolated from the broth.

¹ D. H. PETERSON *et al.*, J. Amer. Soc. 75, 5768 (1953).

¹ H. C. MURRAY, D. H. PETERSON (U.S. Patent 2602769).

² CH. MEYSTRE, E. VISCHER und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 37, 1548 (1954).

³ F. R. HANSON *et al.*, J. Amer. Soc. 75, 5369 (1953).

⁴ E. VISCHER und A. WETTSTEIN, Exper. 9, 371 (1953).

⁵ U.S. Patent 2658023.

⁶ J. FRIED, J. Amer. Soc. 75, 5764 (1953).

⁷ D. H. PETERSON, J. Amer. Soc. 75, 5768 (1953).