

STRUKTURAUFKLÄRUNG EINES C₂₈-STEROIDLACTONS VOM WITHAFERIN-TYP AUS *DUNALIA AUSTRALIS* (GRISEB.) SLEUM.

G. ADAM

Institut für Biochemie der Pflanzen des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Halle/Saale, DDR.

und

M. HESSE

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Schweiz

(Received in Germany 28 February 1972; Received in the UK for publication 6 March 1972)

Abstract—The structural elucidation of a steroidal C₂₈-lactone of the withanolide type from *Dunalia australis* (Griseb.) Sleum. has been described. Chemical and spectroscopic results including high resolution mass spectrometry indicate that the lactone is (2OR :22R)-4β,7β,20-trihydroxy-1-oxo-witha-2,5,24-trienolide (I).

Aus der in Süd- und Mittelamerika heimischen, zum Tribus Solanaceae (Untertribus Lyciinae) gehörenden Solanaceae *Dunalia australis* (Griseb.) Sleum. (Herkunft Marburg),¹ die auch als *Acnistus australis* (Griseb.) Griseb. bezeichnet wird, isolierten wir als Hauptinhaltsstoff ein C₂₈-Steroidlacton, für das, wie bereits kurz berichtet,² die Strukturformel I abgeleitet wurde. Im Folgenden werden die zu dieser Strukturaufklärung führenden spektroskopischen und chemischen Befunde mitgeteilt.

Verbindung I wurde durch Methanolextraktion der Sprosse, Ausschütteln des mit Wasser versetzten Konzentrats mit Benzol/Äther 1/1 und Al₂O₃-Chromatographie des Rückstandes der organischen Phase ca 0.15% Ausbeute (bezogen auf das Blatttrockengewicht) gewonnen. Die bei Elution mit Chloroform/Methanol 99/1 erhaltene Dragendorff-positive Substanz kristallisiert aus Aceton/Wasser als Hemihydrat und besitzt die Bruttozusammensetzung C₂₈H₃₈O₆ (M⁺ = 470, hochauflösende Massenspektrometrie). Bei 16-stdg. Behandlung von I mit Acetanhydrid/Pyridin wird die Diacetylverbindung II erhalten (M⁺ = 554). Kurzzeitige Natriumborhydrid-Reduktion von I in Methanol liefert nach Al₂O₃-Chromatographie als Hauptprodukt ein Dihydroderivat III (M⁺ = 472).

Die Natur der funktionellen Gruppen konnte aus IR- und UV-spektroskopischen Daten von I–III wie folgt ermittelt werden: Im IR-Spektrum (CHCl₃) von I wird neben Hydroxylabsorption bei 3410 und 3610 cm⁻¹ eine α,β-ungesättigte Ketonfunktion mit Banden bei 1610 und 1685 cm⁻¹ angezeigt, die auch bei der Diacetylverbindung II durch entsprechende Maxima bei 1618 und 1685 cm⁻¹ bestätigt wird. Die in Spektrum von II verbleibende IR-Absorption bei 3480 cm⁻¹ deutet auf eine zusätzliche tertiäre Hydroxygruppe hin. Im UV-Spektrum von I und II tritt neben einer schwachen n→π*-Enonabsorption um 340 nm (ε = 100 bzw 70) eine starke Absorption bei 211 nm auf (ε = 16,400 bzw. 17,300). Während das Reduktionsprodukt III keine UV-Bande oberhalb 300 nm aufweist, erscheint in diesem jedoch eine im Vergleich zu I und II

verschobene und auf etwa die Hälfte der Intensität abgeschwächte UV-Absorption bei 230 nm ($\epsilon = 7,300$). Dieses Merkmal ist charakteristisch für eine α,β -ungesättigte trisubstituierte Lactongruppierung,³ deren Anwesenheit auch durch intensive C—O—Streckschwingungsbanden zwischen 1130 und 1142 cm^{-1} sowie eine Carbonylabsorption um 1700 cm^{-1} in I—III bestätigt wird. Die starke UV-Absorption von I und II bei 211 nm resultiert aus einer Überlagerung von α,β -ungesättigtem Lacton- und Enonchromophor. Die in I nachgewiesenen sechs Sauerstoffatome liegen somit in Form von zwei acetylierbaren sowie einer tertiären OH-Gruppe, einer α,β -ungesättigten Ketonfunktion und einer α,β -ungesättigten trisubstituierten Lactongruppierung vor.

Die Ermittlung des Withanolid-Grundskeletts in I erfolgte durch eine Analyse der Massenspektren von I und II in Verbindung mit NMR-Befunden. Die massenspektrometrische Fragmentierung von I ist charakterisiert durch α -Spaltungen zu den Sauerstoffatomen, die an den Positionen 20 und 22 haften. Spaltung der C(20)—C(22)-Bindung^{7,†} führt je nach Ladungsverteilung zu den Bruchstücken *a* (m/e 345) bzw. *b* ($\text{C}_7\text{H}_9\text{O}_2 = 125$); * vgl. Schema. Wird hingegen die C(17)—C(20)-Bindung gebrochen, so beobachtet man fast ausschliesslich dasjenige Ion, das die Ladung am Sauerstoff trägt, *c* ($\text{C}_9\text{H}_{13}\text{O}_3 = 169$). Neben diesen Abbaureaktionen werden entsprechende Signale beobachtet, die durch Spaltung des dehydratisierten Molekularions (*d*, m/e 452) entstanden sind, z.B. *e* (m/e 327; $\alpha\text{-H}_2\text{O}$). Wie aus der Tabelle hervorgeht, werden in den

TABELLE. ZUR FRAGMENTIERUNG DES WITHANOLIDS I (PEAKINTENSITÄTEN IN REL. %)

Verbindung	M^*	<i>a</i>	<i>e</i>	<i>c</i>	<i>f</i>	<i>b</i>
I	470 (0.5)	345 (4)	327 (17)	169 (20)	126 (100)	125 (33)
II	554 (0.02)	429 (2)	369 (22)*	169 (27)	126 (100)	125 (54)
III†	472 (0)	—	329 (19)	169 (30)	126 (100)	125 (33)
IV	468 (0.2)	343 (5)	325 (8)	169 (18)	126 (100)	125 (18)

* Im Spektrum der Verbindung II wird ein weiteres Signal bei m/e 309 (27; $e\text{-CH}_2\text{COOH}$) gefunden.

† Im Spektrum der Verbindung III treten mehrere H_2O -Abspaltungsspeaks auf: 454 (1), 436 (3); 311 (30).

Spektren der Derivate II, III und IV nur die Ionen *a*, *d* und *e* gleich wie das Molekularion M^* um die veränderten Substituentenmassen verschoben, während diejenigen Ionen, die den Lactonring enthalten, *b*, *c* und *f* ($\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_2 = 126$) bei gleichen Massen registriert. Im Gegensatz zu der übersichtlichen Entstehungsweise der Fragmente *a* bis *e* steht die Genese des Ions *f*; das entsprechende Signal ist in den vier zur Diskussion stehenden Massenspektren sowohl bei 70 als auch bei 12eV Basispeak. Da D-Experimente fehlen, lässt sich keine Aussage bezüglich der Herkunft des im Vergleich zu *b* (m/e 125) zusätzlichen H-Atoms machen. Als H-Spender kommen die zum C(20) α -ständigen H-Atome (C(17)—H, C(20)—OH, C(20)—CH₃) in Frage.

Da in Verbindungen vom Withaferin-Typ mit gleicher Struktur aber fehlender C(20)-OH-Gruppe nur ein Signal bei m/e 125, nicht jedoch ein solches bei m/e 126 registriert

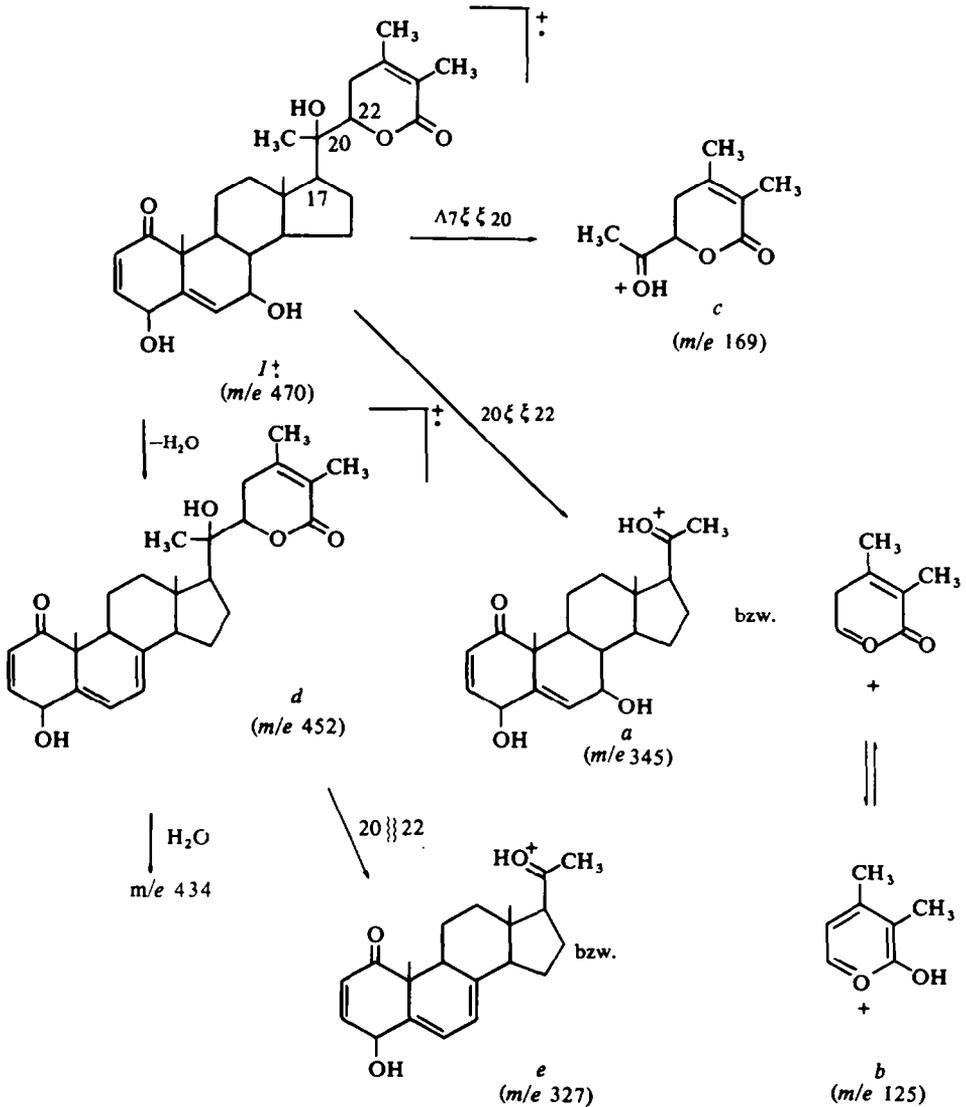
* Ein analoges Fragment m/e 125 tritt z.B. auch beim Withaferin als Schlüsselbruchstück auf, vgl. Lit.⁵

† Eine solche bevorzugte α -Spaltung wird auch bei zahlreichen anderen Steroiden mit 22-ständigem Heteroatom beobachtet.⁶

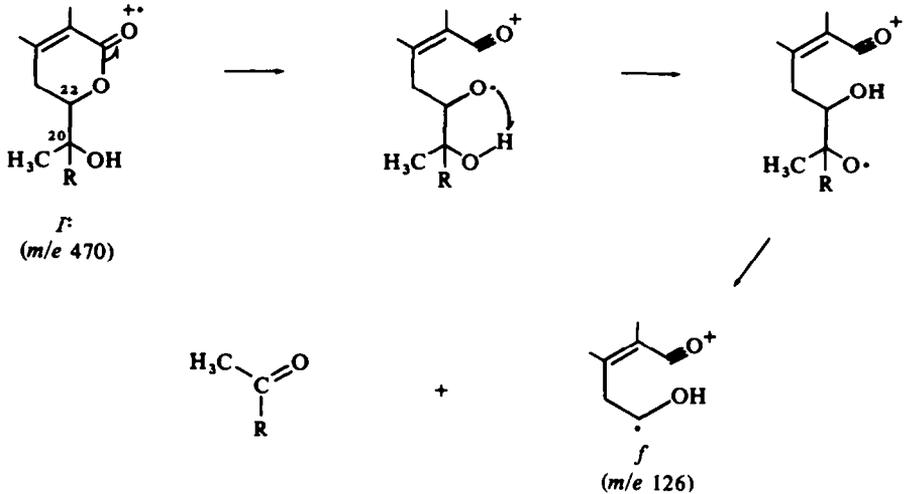
wird, ^{5,7} ist die Annahme berechtigt, dass diese zusätzliche Hydroxylgruppe bei der Verbindung I die Bildung von *f* (m/e 126) direkt beeinflusst.

Ein möglicher Mechanismus für diese Abbaureaktion ist der folgende (Da *f* in den Spektren der Verbindungen I bis IV stets bei m/e 126 beobachtet wird, muss dieses Ion den Lactonring enthalten).

Auf Grund der Struktur I ist die Bildung des Ions m/e 126 mit solcher Intensität nicht unbedingt einleuchtend.



Schema: Zur Fragmentierung der Verbindung I

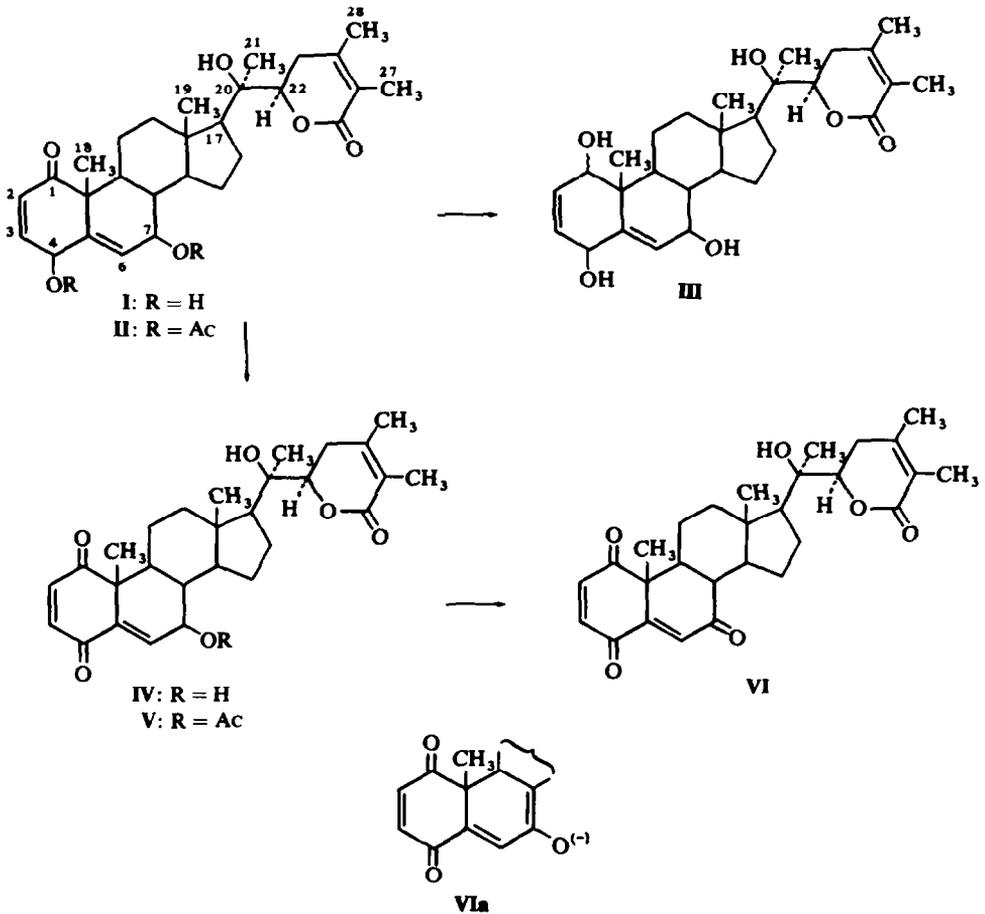


Aus dem im Schema angegebenen Fragmentierungsmuster lässt sich in Kombination mit den NMR Resultaten der Schluss ziehen, dass es sich bei Verbindung I um ein C_{28} -Steroidlacton der Withanolidgruppe⁴ handelt. Im besonderen kann die 20-Position der tertiären Hydroxylgruppe bestimmt werden (vgl. Ionen *a*, *c* und *e*) und es folgt ferner, dass die C-Atome 17, 20 und 22 hochsubstituiert sind. Nach diesen Befunden müssen die beiden acetylierbaren OH-Gruppen am tetracyclischen Kerngerüst haften.

Die massenspektrometrischen Befunde standen in guter Übereinstimmung und wurden ergänzt durch die 100-MHz-NMR-Spektren von I und seinen Derivaten. Das Spektrum des Lactons I enthält fünf 3-Protonen-Singulets bei δ 0.91 (18- H_3), 1.28 (21- H_3), 1.44 (19- H_3), 1.87 und 1.93 (27- bzw 28- H_3) ppm, deren Lage gut mit entsprechenden Signalen bei Withanolid D aus *Withania somnifera* Dun. mit analoger 17 β -Seitenkette^{8a} korrespondiert. Im Bereich zwischen 3.5 und 7 ppm zeigt das Integral je 3 Vinylprotonen und Protonen geminal zu Sauerstoff-Funktionen an, wobei das Kopplungsmuster eines AMX-Systems mit Signalen bei δ 4.62 (d, $J_{AX} = 5$ Hz, 4 α -H), 5.92 (d, $J_{AM} = 10$ Hz, 2-H) und 6.76 ppm (dd, $J_{AM} = 10$ Hz, $J_{AX} = 5$ Hz, 3-H) auftritt. Letzteres ist typisch für das Vorliegen eines 4 β -Hydroxy- Δ^2 -1-oxo-Systems, welches auch bei einigen anderen Withanoliden als charakteristisches Strukturmerkmal gefunden wurde.^{7, 8} Der Dublettcharakter des Signals bei 4.62 ppm zeigt weiterhin, dass die zweite, noch im Steroidkern befindliche und durch ein Vinylprotonensignal bei 5.78 ppm (d, $J = 1.5$ Hz) signalisierte Doppelbindung Δ^5 -Position einnimmt. Ein in den NMR-Spektren von I auftretendes Dublett \times Dublett bei 4.22 ppm ($J = 13$ bzw. 4 Hz) kann dem 22-ständigen H-Atom zugeordnet werden und beweist ebenso wie der Singulettcharakter des 21-Methylsignals wiederum die 20-Stellung der tertiären Hydroxylgruppe. Wie für die Acetylierung zweier sekundärer Hydroxylgruppen zu erwarten ist,⁹ treten in II die Signale der entsprechenden geminalen Protonen im Vergleich zu I um mehr als 1 ppm nach tieferem Feld verschoben bei 5.74 (d, $J = 4$ Hz, 4 α -H) und 5.05 ppm (d mit Feinstruktur, $J = 6$ Hz, 7 α -H) auf.

Allyloxidation des Lactons I durch 18-stdg. Behandlung mit MnO_2 in Chloroform liefert das gelbe, kristalline Diendion IV (M^+ 468) mit UV-Maxima bei 227, 279 und 362 nm ($\epsilon = 20,300, 2,200$ und 225). Im NMR-Spektrum dieses Dehydrierungspro-

duktes erscheint anstelle des AMX-Systems des Ausgangsmaterials I ein 2-Protonensingulett der jetzt magnetisch äquivalenten Protonen an C-2 und 3, wodurch die erfolgte selektive Dehydrierung an C-4 angezeigt wird. Bei 85-stdg. Behandlung mit MnO₂ erfolgt Dehydrierung auch der zweiten sekundären Hydroxylgruppe, die somit ebenfalls allylischen Charakter aufweist und 7-Position einnehmen muss. Das hierbei quantitativ gewonnene gelbe, kristalline Dientrion VI ist im Gegensatz zu IV alkalikatalysiert und reversibel zu einem rotviolett gefärbten konjugierten Enolat VIa mit UV-Maxima bei 229, 288, 382 und 512 nm ($\epsilon = 20,300, 4,400, 1,000$ und $1,700$) enolisierbar, was einen weiteren Beweis für die Substituentenordnung in den Ringen A/B darstellt. Während von Verbindung VI kein brauchbares Elektronenstossmassenspektrum erhalten werden konnte, liefert das Elektronenanlagerungsmassenspektrum den Molekularionenpeak bei 466 (M⁻).



Die Raumstruktur von I und seinen Derivaten an C-7 folgt aus der bei Acetylierung von IV zum Monoacetat V auftretenden molaren Rotationsdifferenz. Der gefundene positive Wert ($\Delta[M]_D = +170^\circ$) ist beweisend für die β -Konfiguration der 7-Hydroxyl-Gruppe (Literaturinkrement $+263^\circ_{10}$).

Zur Ermittlung der Stereochemie an C-20 wurde die Lage des C-21-Methylsignals von Withaferin mit bekannter^{4, 11} 20 β _F- (=20X)-Konfiguration und dem 20-hydroxylierten Lacton I verglichen, wobei eine auch für den Übergang von Cholesterin zu 20 α -Hydroxy-cholesterin typische¹² chemische Verschiebung von $\Delta[\text{ppm}] + 0.31$ auftritt. Ähnlich wie bei Withanolid D^{8a} resultiert aus diesem Inkrement für I eine 20 α _F- (=20R)-Raumstruktur.

Die Klärung der nach diesen Ergebnissen noch offenen Konfiguration an C-22 erfolgte durch Messung der optischen Rotationsdispersion von I und seinem Dihydroderivat III. Beide Verbindungen weisen einen positiven Cottoneneffekt bei ca 250 nm auf $a = +13$ bzw. $+30.7$, der auf eine Vorhande des α, β -ungesättigten Lactonchromophors zurückzuführen ist.¹³ Da Parasorbinsäure mit bekannter (S)-Absolutkonfiguration in diesem Bereich ebenfalls einen positiven Cottoneneffekt zeigt, besitzt auch I an C-22 gleiche Konfiguration, d.h. (22R)-Raumstruktur (vgl. Lit.^{5, 14}). Bei dem von uns aus *Dunalia australis* (Griseb.) Sleum. isolierten Steroidlacton handelt es sich somit um (20R : 22R)-4 β , 7 β , 20-Trihydroxy-1-oxo-witha-2,5,24-trienolid.*

EXPERIMENTELLER TEIL

Schmelzpunkte (Smp., Mikroheiztisch nach Boetius) korrigiert, spezifische Drehungen in Chloroform. IR-Spektren: Zeiss-Zweistrahlspektrophotometer UR-10 in Chloroform, falls nicht anders angegeben. UV-Spektren und ORD-Messungen: Jacso-Spektropolarimeter ORD/UV-5 in Methanol. NMR-Spektren: Varian Spektrometer HA-100 in CDCl₃ unter Verwendung von Tetramethylsilan als interner Standard. Massenspektren (MS., 70 eV, Direkteinlass): CEC 21-110B-Spektrometer; es wurden jeweils die Signal-schwerpunkte angegeben. Hochauflösungen nach der peak-matching-Methode.

Säulenchromatographie: Al₂O₃ (Merck), standardisiert nach Brockmann, der Aktivität 1, falls nicht anders vermerkt.

Isolierung. Die im Umlauftrockenschrank bei 80° getrockneten Sprosse von *Dunalia australis* (Griseb.) Sleum. (580 g) wurden pulverisiert und mit insgesamt 7 l Methanol dreimal je 24 Std. bei Raumtemperatur extrahiert. Nach dem Einengen im Vakuum und Verdünnen mit 1 l Wasser wurde erschöpfend mit Benzol/Äther 1/1 v/v ausgeschüttelt und der Rückstand der organischen Phase in 30 ml Chloroform gelöst, an 174 g Al₂O₃ chromatographiert. Elution mit Chloroform/Methanol 99/1 lieferte 864 mg I. Aus Aceton/Wasser feine Nadeln vom Smp. 173–175° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} = +118^\circ$ ($c = 0.465$), Lit.¹⁵ Smp. 234°, $[\alpha] = +98^\circ$. * Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum über P₂O₅/Paraffin getrocknet (C₂₈H₃₈O₆ · ½ H₂O (479.62). Ber: C, 70.12; H, 8.19; Gef: C, 70.48; H, 8.49%; IR: 1135 (α, β -unges. δ -Lacton), 1610, 1685 (α, β -unges. Keton), 1702 (α, β -unges. δ -Lacton), 3430, 3600 (OH) cm⁻¹; UV: λ_{max} (ϵ) 211 (16 400), 338 nm (100); NMR: δ 0.91 (18-H₃), 1.28 (21-H₃), 1.44 (19-H₃), 1.87, 1.93, (27 bzw. 28-Allyl-H₃), 3.85 (d mit Feinstruktur, $J = 6$ Hz, 7 α -H), 4.22 (dd, $J = 12.5$ bzw. 4 Hz, 22-H), 4.62 (d, $J_{\text{AX}} = 5$ Hz, 4 α -H), 5.78 (d, $J = 1.5$ Hz, 6-H), 5.92 (d, $J_{\text{AM}} = 10$ Hz, 2-H), 6.76 ppm (dd, $J_{\text{AM}} = 10$ Hz, $J_{\text{AX}} = 5$ Hz, 3-H). MS: m/e (rel. %): 470 (M⁺, C₂₈H₃₈O₆, 0.5), 452 (0.5), 436 (0.4), 434 (0.4), 345 (4), 327 (C₂₁H₂₇O₃, 17), 309 (4), 283 (2), 239 (2), 225 (2), 211 (2), 197 (2), 187 (4), 170 (6), 169 (C₈H₁₃O₃, 20), 159 (6), 126 (C₇H₁₀O₂, 100), 125 (C₇H₉O₂, 33). ORD: ($C = 0.518$): $[\text{M}]_{396} = +80^\circ$, $[\text{M}]_{370} = 0^\circ$, $[\text{M}]_{325} = +7,250^\circ$, $[\text{M}]_{292} = +10,900^\circ$, $[\text{M}]_{260} = +19,300^\circ$, $[\text{M}]_{245} = +18,000^\circ$. ($\alpha = +13$), $[\text{M}]_{232} = +28,000^\circ$, $[\text{M}]_{210} = -13,600^\circ$. Bei Elution mit Chloroform/Methanol 95/5 wurden 140 mg (20R : 22R)-4 β , 7 β , 20-Trihydroxy-1-oxo-5 β , 6 β -oxido-witha-2,24-dienolid gewonnen. Smp. 166–168° (Aceton/Wasser), $[\alpha]_D^{25} = +140.7$ ($c = 0.402$), m^+ 486. Lit : 15 Smp. 260°, $[\alpha]_D = +118.5^\circ$.†

* Verbindung I wurde parallel zu unseren Untersuchungen auch von Kirson *et al.*¹⁵ aus *Dunalia australis* erhalten, wobei diese Autoren auf unabhängigem Wege zur gleichen Struktur gelangten. Beide Präparate erwiesen sich im direkten Vergleich als identisch. Den Herren Prof. Lavie und Dr. Kirson, Rehovot, Israel, sei auch an dieser Stelle für die Durchführung dieses Vergleichs gedankt. Das dort weiterhin als Nebenkomponente beschriebene (20R : 22R)-4 β , 7 β , 20-Trihydroxy-1-oxo-5 β , 6 β -oxido-witha-2,24-dienolid wurde von uns ebenfalls in ca 0.025-proz. Ausbeute isoliert (vgl. Experimenteller Teil).

† Der in Lit.¹⁵ angegebene Smp. bezieht sich auf die wasserfreie, aus Aceton bzw. Aceton/Hexan kristallisierte Verbindung.

(2OR : 22R)-20-Hydroxy-4,7-diacetoxy-1-oxo-witha-2,5,24-trienolid (II). Verbindung I (40 mg) wurde in 0.8 ml Acetanhydrid/Pyridin (1/1) 42 Std. bei 20° stehengelassen. Umkristallisation des nach Wasserzusatz erhaltenen Produkts ergab 32 mg Nadeln vom Smp. 217–219° und $[\alpha]_D^{20} = +189.3^\circ$ ($c = 0.465$), Lit.:¹⁵ Smp. 210–211°, $[\alpha]_D^{20} = +181^\circ$. IR (Nujol): 1142 (α,β -unges. δ -Lacton), 1250 (O-Acetyl), 1618, 1685 (α,β -unges. Keton), 1698 (α,β -unges. δ -Lacton), 1724, 1746 (O-Acetyl), 3480 cm⁻¹ (tert.OH); UV (ϵ): 211 (17,300), 343 nm (70); NMR: δ 0.95 (18-H₃), 1.32 (21-H₃), 1.55 (19-H₃), 1.90, 1.95 (27- bzw. 28-Allyl-H₃), 2.06, 2.09 (4 β - bzw. 7 β -Acetyl-H₃), 4.20 (dd, $J = 13$ bzw. 4 Hz, 22-H), 5.05 (d mit Feinstruktur, $J = 6$ Hz, 7 α -H), 5.74 (d, $J = 5$ Hz, 4 α -H), 5.84 (d, $J = 2$ Hz, 6-H), 6.05 (d, $J = 10$ Hz, 2-H), 6.74 (dd, $J = 10$ Hz bzw. 5 Hz, 3-H). MS: m/e (rel.%): 554 (M⁺, 0.02), 512 (0.6), 494 (0.8), 470 (0.7), 452 (2), 434 (14), 429 (2), 369 (22), 351 (3), 327 (11), 309 (27), 265 (7), 239 (14), 225 (6), 223 (6), 211 (5), 171 (35), 169 (27), 126 (100), 125 (54).

(2OR : 22R)-1 ζ ,4 β ,7 β ,20-Tetrahydroxy-witha-2,5,24-trienolid (III). Verbindung I (100 mg) wurden in 2 ml Methanol mit überschüssigem Natriumborhydrid versetzt. Zugabe von gesättigter NaCl-Lösung nach 10 Min. lieferte ein Rohprodukt, das in 7.5 ml Chloroform gelöst an 2.5 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Elution mit Chloroform/Methanol 95/5 ergab 52 mg III. Aus Benzol Kristalle vom Smp. 165–167° und $[\alpha]_D^{17} = +42^\circ$ ($c = 0.360$); IR (Nujol): 1138 (α,β -unges. δ -Lacton), 1692 (C=O), 3370 cm⁻¹ (OH); UV (ϵ): 230 nm (7300). MS: m/e (rel. %): 454 (M-H₂O, 1), 436 (3), 329 (19), 318 (2), 313 (12), 311 (30), 295 (10), 293 (9), 269 (7), 267 (10), 225 (9), 211 (8), 197 (9), 171 (27), 169 (30), 155 (20), 145 (17), 126 (100), 125 (33). ORD ($c = 0.178$): $[M]_{350} = +700^\circ$, $[M]_{263} = +4,770^\circ$, $[M]_{240} = +1,700^\circ$ ($a = +30.7^\circ$), $[M]_{207} = +23,800^\circ$.

(2OR : 22R)-7-Hydroxy-1,4-dioxo-witha-2,5,24-trienolid (IV). Verbindung I (200 mg) wurde in 10 ml Chloroform/Essigsäure-äthylester mit 1 g MnO₂ 18 Std. bei 20° geschüttelt. Nach Filtration wurde im Vakuum eingengt und in 5 ml Chloroform an 8 g Al₂O₃ chromatographiert. Elution mit Chloroform lieferte 108 mg IV, das aus Chloroform/Hexan in gelben Nadeln vom Smp. 251–253° (Zers.) und $[\alpha]_D^{20} = +114.2^\circ$ ($c = 0.319$) kristallisierte. IR: 1132 (α,β -unges. δ -Lacton), 1610, 1642 (konj. Keton), 1700 (C=O), 3597 cm⁻¹ (OH); UV (ϵ): 227 nm (20,300), 279 (2,200), 362 nm (225). NMR: δ 0.91 (s, 18-H₃), 1.29 (s, 21-H₃), 1.39 (s, 19-H₃), 1.88, 1.95 (s, 27- bzw. 28-Allyl-H₃), 3.97 (dd, $J = 8$ bzw. 2 Hz, 7 α -H), 4.22 (dd, $J = 13$ bzw. 4.5 Hz, 22-H), 6.60 (d, $J = 2$ Hz, 6-H), 6.69 ppm (s, 2- und 3-H). MS: m/e (rel. %): 468 (M⁺, 0.2), 450 (2), 432 (1), 344 (5), 343 (5), 325 (8), 307 (1), 299 (15), 283 (2), 282 (2), 281 (2), 267 (1), 255 (2), 239 (1), 227 (1), 187 (3), 169 (18), 152 (4), 137 (4), 126 (100), 125 (18).

(2OR : 22R)-20-Hydroxy-7 β -acetoxy-1,4-dioxo-witha-2,5,24-trienolid (V). Verbindung IV (39 mg) wurde wie für II beschrieben acetyliert und aus Aceton/Wasser umkristallisiert; 34 mg Kristalle vom Smp. 203–205° und $[\alpha]_D^{20} = +138^\circ$ ($c = 0.386$). Zur Analyse wurde bei 100° über P₂O₅/Paraffin im Hochvakuum getrocknet (C₃₀H₃₈O₇, (510, 64). Ber: C, 70.57; H, 7.50; Gef: C, 70.31; H, 7.76%). IR: 1132 (α,β -unges. δ -Lacton), 1234 (O-Acetyl), 1608, 1643 (konj. Keton), 1700 (C=O), 3500 cm⁻¹ (OH); UV (ϵ): 222 (20,300), 278 (2500), 360 nm (250).

(2OR : 22R)-20-Hydroxy-1,4,7-trioxo-witha-2,5,24-trienolid (VI). Verbindung I (200 mg) wurde in 10 ml Chloroform/Essigsäureäthylester mit 1 g MnO₂ 30 Std. und nach Zugabe von weiteren 2 g MnO₂ nochmals 55 Std. geschüttelt, wonach dünnschichtchromatographisch die quantitative Umsetzung zu VI angezeigt wurde. Aus Methylenchlorid/Hexan gelbe Kristalle vom Smp. 260–262° und $[\alpha]_D^{17} = +98^\circ$ ($c = 0.397$); Lit.: Smp. 240–243° * $[\alpha]_D = +103^\circ$. IR: 1135 (α,β -unges. δ -Lacton), 1612, 1623, 1700 (C=O), 3596 cm⁻¹ (OH); UV (ϵ): 224 (21000), 278 (3670), 360 nm (310); UV (0.1-proz. methanol. Kalilauge): 229 (20300), 288 (4450), 382 (1040), 512 nm (1730). NMR: δ 0.92 (s, 18-H₃), 1.31 (s, 21-H₃), 1.57 (s, 19-H₃), 1.89, 1.95 (s, 27- bzw. 28-H₃), 4.22 (dd, $J = 12.5$ bzw. 4.5 Hz, 22-H), 6.46 (s, 6-H), 6.89 ppm (s, 2- und 3-H). Elektronenanlagerungs-Massenspektrum: m/e 466 (M⁺), 451 (M⁻-15), 438 (M⁻-28).

Danksagung—Herrn Dr. habil. R. Tümmler, Dresden, danken wir für das Elektronenanlagerungs-Massenspektrum und Frau U. Hof, Halle, für fleissige technische Mitarbeit. Die Arbeit in Zürich wurde vom Schweizerischen Nationalfonds unterstützt.

LITERATUR

¹ Die Untersuchung der Pflanze erfolgte auf Grund eines im damaligen Institut für Kulturpflanzenforschung, Gatersleben, der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin durchgeführten Screening-

* Der in Lit.¹⁵ angegebene Smp. 209° ist laut persönlicher Mitteilung von Herrn Prof. D. Lavie, Rehovot, durch Smp. 240–243° zu ersetzen.

- Programms, vgl. O. Aurich, S. Dahnert, K. Pufahl, A. Romeike, H. Rönsch, K. Schreiber und G. Sembdner, *Die Kulturpflanze*. Bd. XIV, 447 (1966)
- ² G. Adam und M. Hesse, *Tetrahedron Letters* 1199 (1971)
- ³ A. T. Nielsen, *J. Org. Chem.* **22**, 1539 (1957)
- ⁴ Zur Nomenklatur vgl. D. Lavie, S. Greenfield und E. Glotter, *J. Chem. Soc. (C)* 1753 (1966)
- ⁵ R. Tschesche, H. Schwang, H.-W. Fehlhaber und G. Snatzke, *Tetrahedron* **22**, 1129 (1966)
- ⁶ G. Adam, K. Schreiber, R. Tümmeler, und K. Steinfelder, *J. prakt. Chem.* im Druck; H. Budzikiewicz, *Tetrahedron* **20**, 2267 (1964)
- ⁷ S. M. Kupchan, W. K. Anderson, P. Bollinger, R. W. Doskotch, R. M. Smith, J. A. S. Renauld, H. K. Schnoes, A. L. Burlingame and D. H. Smith, *J. Org. Chem.* **34**, 3858 (1969)
- ⁸ ^a D. Lavie, I. Kirson und E. Glotter, *Israel. J. Chem.* **6**, 671 (1968); ^b I. Kirson, E. Glotter, A. Abraham und D. Lavie, *Tetrahedron* **26**, 2209 (1970)
- ⁹ Vgl. N. S. Bhacca und D. H. Williams, *Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry—Illustrations from the Steroid Field* S. 77. Holden-Day, San Francisco-London-Amsterdam (1964)
- ¹⁰ Vgl. L. F. Fieser und M. Fieser, *Steroide* S. 175, Verlag Chemie, Weinheim (1961)
- ¹¹ A. T. McPhail und G. A. Sim, *J. Chem. Soc. (B)* 962 (1968)
- ¹² A. Mijares, D. I. Cargill, J. A. Glasel und S. Liebermann, *J. Org. Chem.* **32**, 810 (1967)
- ¹³ U. Weiss und H. Ziffer, *Ibid.* **38**, 1248 (1963)
- ¹⁴ D. Lavie, I. Kirson, E. Glotter und G. Snatzke, *Tetrahedron* **26**, 2221 (1970); vgl. auch G. Snatzke, *Angew. Chem. Internat. Edit.* **7**, 14 (1968)
- ¹⁵ I. Kirson, D. Lavie, S. M. Albonico und H. R. Juliani, *Tetrahedron* **26**, 5063 (1970)