

of free β -hydroxyl group. Zirconium nitrate test¹¹ indicated that no hydroxyl groups are present at *ortho* position to each other.

Acetylation yielded a triacetyl derivative: from methanol orange red needles, m.p. 255–57°. All hydroxyl groups are phenolic in nature as shown by negative test with ceric ammonium nitrate. Compound B was found to contain 1 methoxyl group as determined by semi-micro method of BELCHER⁶. Thus, all the 6 oxygen atoms are accounted for, 3 as phenolic hydroxyl groups, 1 as methoxyl group and the remaining 2 as part of the anthraquinone nucleus. On zinc dust distillation, 2-methyl anthracene was obtained.

The compound could not be demethylated by 80% sulfuric acid, indicating the absence of methoxyl group at α -position. On demethylation by glacial acetic acid and hydrobromic acid, a demethylated compound was obtained which was recrystallized from hot methanol into brown crystals, decomposed above 300°. It was soluble in 5% aqueous sodium carbonate solution, showing the presence of methoxyl group at β -position in compound B. Zirconium nitrate test showed that no hydroxyl groups were present at *ortho* to each other in the demethylated product; therefore the methoxyl group cannot occupy a position at *ortho* to α -hydroxyl groups.

BLOOM et al.¹² have shown that if an anthraquinone contains 3 α -hydroxyl groups, there appears a single peak in the carbonyl stretching frequency region in the IR-spectrum for the chelated carbonyl groups only, which lies between 1616 and 1592 cm^{-1} . The observed peak in the IR-spectrum of the compound is at 1610 cm^{-1} , thereby indicating the presence of 3 hydroxyl groups at 1, 4, 5-positions in the compound.

Thus for compound A the structures of 1, 4, 5-trihydroxy-7-methoxy-2-methyl-anthraquinone (I) or 1, 4, 5-trihydroxy-7-methoxy-3-methyl-anthraquinone (II) or 1, 4, 5-trihydroxy-7-methoxy-6-methyl-anthraquinone (III) are possible. Structure I corresponds to erythroglauin¹³, m.p. 205–06°. Demethylation of III should lead to 1, 4, 5, 7-tetrahydroxy-6-methyl-anthraquinone¹³. The demethylated product of compound B was found to be different from the latter product. Hence the structure of 1, 4, 5-trihydroxy-7-methoxy-3-methyl-anthraquinone is assigned tentatively to compound B.

Résumé. Deux nouvelles anthraquinones, 1, 8-dihydroxy-2-méthyl anthraquinone et 1, 4, 5-trihydroxy-3-méthyl-7-méthoxy anthraquinone ont été isolées des graines de *Cassia occidentalis*.

JAWAHAR LAL¹⁴ and P. C. GUPTA

Chemistry Department, Allahabad University,
Allahabad (India), 21 September 1973.

¹¹ F. FEIGL, *Spot Tests in Organic Chemistry* 7th edn. (Elsevier Publishing Company Inc., New York and Amsterdam 1966), p. 347.

¹² H. BLOOM, L. H. BRIGGS and B. CLEVERLEY, *J. chem. Soc.* 1959, 178.

¹³ E. JOSEPHY and F. RADT, *Elsevier's Encyclopaedia of Organic Chemistry* (Elsevier Publishing Company Inc., New York and Amsterdam 1946), Vol. 13, p. 608 and p. 609.

¹⁴ Present address: Division of Physiology and Pharmacology, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, U.P. (India). Authors are grateful to Dr. S. A. I. RIZVI for kind and sincere help. C.S.I.R., New Delhi, India is thanked for the financial assistance.

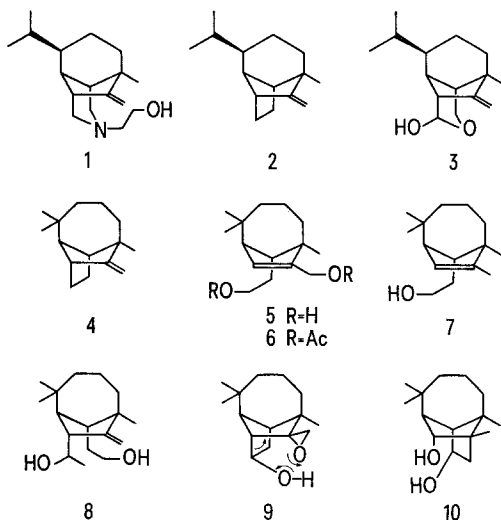
Ein bicyclischer Abkömmling von (–)-Longifolen aus *Helminthosporium sativum* und *H. victoriae*

Die Struktur von Victoxinin, **1**,¹ einem Phytotoxin aus *Helminthosporium sativum* und *H. victoriae*, macht es wahrscheinlich, dass die Verbindung biogenetisch durch oxidative Ringspaltung und nachträgliches Einschieben einer Aethanolamineinheit aus dem Kohlenwasserstoff (–)-Sativen, **2**,² entsteht. Sativen und Secoderivate vom Typ des Praehelminthosporols, **3**, sind bereits früher aus *H. sativum* isoliert worden³, und wir haben inzwischen

gefunden, dass die Kulturen beider Pilze eine reiche Palette neuer Verbindungen mit Sativan- bzw. Secosativangerüst enthalten⁴. Nachfolgend wird gezeigt, dass beide *Helminthosporium*-Arten auch Verbindungen mit intaktem bzw. modifiziertem Longifolangerüst zu produzieren vermögen.

Die Sesquiterpenkohlenwasserstoff-Fraktion, die aus dem Myzelextrakt der zwei Pilze gewonnen worden war, bestand zu über 95% aus (–)-Sativen, **2**. Eine weitere Komponente (ca. 3%) liess sich durch wiederholte Chromatographie an argentiertem Silicagel sauber abtrennen. Sie wurde aufgrund ihrer Drehung, $[\alpha]_D^{25} = -49^\circ$ (CHCl_3), und durch spektroskopischen und chromatographischen Vergleich mit dem (+)-Isomeren als (–)-Longifolen, **4**, identifiziert.

Eine neue Verbindung mit modifiziertem Longifolangerüst, Smp. 117°, $[\alpha]_D^{25} = +3^\circ$, konnte aus dem Kulturfiltrat der Pilze durch Extraktion mit Aether und anschließende Chromatographie an Silicagel in Mengen von ca. 1 mg/l isoliert werden. Massenspektrum und Verbrennungsanalyse führten auf die Bruttoformel $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$ (ber: C 75,58, H 11,00%; gef: C 75,52, H 11,09%).



¹ F. DORN and D. ARIGONI, *J. chem. Soc., Chem. Commun.* 1972, 1342.

² P. DE MAYO and R. E. WILLIAMS, *J. Am. chem. Soc.* 87, 3275 (1965).

³ Für eine Übersicht vgl. W. B. TURNER, in *Fungal Metabolites* (Academic Press, London 1971), p. 224.

⁴ Über diese Arbeiten wird an anderer Stelle berichtet.

Im NMR-Spektrum der Substanz (100 MHz, CDCl_3) erkennt man zusätzlich zu den Signalen von drei tertiär gebundenen Methylgruppen ($\delta = 0,94$ (6H) und $\delta = 1,04$) und einem Olefinproton ($\delta = 5,71$) ein Multiplett bei $\delta = 3,67$ (2H), Breite 20 Hz, und ein fein aufgespaltenes Signal bei $\delta = 4,08$ (2H). Die Signale von zwei mit D_2O austauschbaren Protonen um $\delta = 1,7$ sind kongruent mit der starken Hydroxylabsorption im IR-Spektrum. Somit lassen sich die beiden Multiplette im NMR-Spektrum als Signale von zwei Hydroxymethylgruppen interpretieren, die in den Teilstrukturen $-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$ bzw. $\text{H}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_2\text{OH}$ vorkommen. Acetylierung des neuen Metaboliten lieferte ein öliges Diacetat, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +9^\circ$, in dessen NMR-Spektrum die beiden Multiplette nach $\delta = 4,07$ bzw. $\delta = 4,51$ verschoben sind.

Das Vorliegen einer einfach ungesättigten carbobicyclischen Struktur mit 5 Endgruppen, worunter 3 tertiär gebundene Methylgruppen, liess eine biogenetische Beziehung zu Longifolen vermuten. Dies führte zwangsläufig zur Aufstellung von Formel 5, deren Gültigkeit durch eine direkte Verknüpfung mit Longifolen erhärtet werden konnte. Behandlung des Diacetats 6 mit Natrium in Ammoniak lieferte den Monoalkohol 7, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +14^\circ$, NMR: $\text{H}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ $\delta = 1,54$. Als Nebenprodukt wurde ein Diol $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_2$ gefasst, Smp. 101° , $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -27^\circ$, dessen spektroskopische Daten mit Struktur 8 kongruent sind. Die Entstehung von 8 lässt sich deuten mit der Annahme einer intramolekularen Alkylierung des intermediär gebildeten Allylanions durch die benachbarte O-Acetylgruppe, gefolgt von der Reduktion der C-Acetylgruppe⁵. Umsetzung von 7 mit Tosylchlorid in Pyridin lieferte eine rohes Tosylat, welches beim Behandeln mit Silicagel spontan cyclisierte. Das Produkt der Umsetzung, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -46^\circ$, wurde durch direkten Vergleich mit einer authentischen Probe als (–)-Longifolen, 4, erkannt. Die Entstehung der neuartigen Secolongifolan-Verbindung 5 lässt sich durch die im Bild mit Pfeilen angezeigte Fragmentierung eines hypothetischen Vorläufers 9 deuten:

(–)-Longifolen ist bisher lediglich aus einem Lebermoos isoliert worden⁶, während bei höheren Pflanzen immer wieder die antipodale (+)-Form angetroffen wird⁷. Mit (–)-Longifolen nahe verwandt ist das von

Fusarium culmorum gebildete Culmorin, 10⁸. Das in dieser Arbeit nachgewiesene Vorkommen von 2 und 4 in den beiden *Helminthosporium*-Arten erhärtet die phylogenetisch interessante Vorstellung, dass sich niedrigere und höhere Pflanzen unter anderem durch die Bildung von biogenetisch einheitlichen, zueinander antipodalen Reihen von Sesquiterpenen unterscheiden⁹. Das gleichzeitige Auftreten von (–)-Sativen, 2, und (–)-Longifolen, 4, in den beiden Ascomyceten als Gegenstück zum gleichzeitigen Vorkommen der entsprechenden Antipoden in Gymnospermen¹⁰ ist unter diesem Gesichtspunkt besonders auffallend und weist auf die Möglichkeit hin, dass die Glieder eines gegebenen Paares jeweils aus einem gemeinsamen chiralen Vorläufer hervorgehen könnten.

Summary. (–)-Longifolene, 4, and a new secolongifolane derivative, shown to possess structure 5, have been isolated from *Helminthosporium sativum* and *H. victoriae*.

F. DORN und D. ARIGONI¹¹

Organisch-chemisches Laboratorium, Eidgenössische Technische Hochschule, CH-8006 Zürich (Schweiz), 17. Juni 1974.

⁵ Für eine ähnliche Alkylierungsreaktion vgl. B. J. MAGERLEIN und J. A. HOGG, J. Am. chem. Soc. 80, 2220 (1958).

⁶ S. HUNECK und E. KLEIN, Phytochemistry 6, 383 (1967). – A. MATSUO, M. NAKAYAMA und S. HAYASHI, Chemistry Lett. 1973, 769.

⁷ G. OURISSON, S. MUNAVALLI und C. EHRET, Selected Constants, Sesquiterpenoids (Pergamon Press, Paris 1966).

⁸ D. H. R. BARTON und N. H. WERSTIUK, J. chem. Soc. (C) 1968, 148.

⁹ Vgl. A. MATSUO, M. NAKAYAMA, S. SATO, T. NAKAMOTO, S. UTO und S. HAYASHI, Experientia 30, 321 (1974) und dort zitierte Literatur.

¹⁰ L. A. SMEDMAN, E. ZAVARIN und R. TERANISHI, Phytochemistry 8, 1457 (1969).

¹¹ Wir danken Sandoz AG (Basel) für finanzielle Unterstützung, Dr. E. HAERRI (Sandoz AG) und Frau Dr. S. DORN für Mithilfe bei der mikrobiologischen Arbeit.

Variations in the Antitumour Constituents of *Withania somnifera* Dunal

Withania somnifera Dunal (Solanaceae) is a plant of repute (popularly known as Aswagandha) in the indigenous system of medicine in India. In Ayurvedic and Yunani system, the leaves of Aswagandha were used for tumours and tubercular glands¹. Report² of the isolation of an antitumour steroidal lactone withaferin A (I) from the Israel variety of *W. somnifera* created a renewed interest in the plant. In course of further studies, it was revealed that specimens of *W. somnifera* from various areas yielded different compounds and 3 chemotypes of this species have been found to occur in Israel³. The chemotypes differ in the substitution pattern of the steroidal lactones of the withanolide type which have been isolated from the plant. Among these compounds withaferin A caused significant retardation of growth of Ehrlich ascites carcinoma, Sarcoma 180, Sarcoma Black, and E0771 mammary adenocarcinoma². In view of the antitumour property and chemical variability of the plant, we were interested to make a thorough investigation of the Indian variety of *W. somnifera*. Recently, a study has

been made with the plant occurring in the North-Western India and it is observed that *W. somnifera* of this region constitutes a different chemotype⁴. We report here our studies on this plant occurring in West Bengal and Tamil Nadu.

The leaves of *W. somnifera*, collected from West Bengal were defatted and extracted with methanol. The methanol extract on further fractionation involving repeated column chromatography and crystallization yielded a colourless crystalline compound (II), $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_6$, m.p.

¹ R. N. CHOPRA, I. C. CHOPRA, K. L. HANDA and L. D. KAPUR, Indigenous Drugs of India (U. N. Dhur & Sons Pvt. Ltd., Calcutta-12 1958), p. 436.

² B. SHOHAT, S. GITTER, A. ABRAHAM and D. LAVIE, Cancer Chemother. Rep. 51, 271 (1967).

³ A. ABRAHAM, I. KIRSON, E. GLOTTER and D. LAVIE, Phytochemistry 7, 957 (1968).

⁴ I. KIRSON, E. GLOTTER, D. LAVIE and A. ABRAHAM, J. chem. Soc. (C) 1971, 2032.